

AVIS

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

Transmission au ministre : 10 janvier 2018
Publication officielle : 12 mars 2018

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



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

Transmission au ministre : 10 janvier 2018
Publication officielle : 12 mars 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*.

Équipe de projet

Direction

Michel LeBrun, MBA, Ph. D.

Soutien technique

Sandrine Estienne

Coordination

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.

Éléna Morarescu, M. Sc.

Geneviève Morrow, Ph. D.

Phuong Hua, M. Sc.

Emmanuelle Tchekanda, Ph. D.

Repérage d'information scientifique

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

Mathieu Plamondon, M.S.I.

Soutien documentaire

Flavie Jouandon

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 978-2-550-80699-8 (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 dix analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Québec, Qc : INESSS; 362p.

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., FRCPC
▪ Médecin biochimiste, CHU de Québec

Louis Gaboury, M.D., Ph. D., FRCPC
▪ Anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM

Vice-président

Lambert Busque, M.D., FRCPC
▪ Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

David Rosenblatt, M.D., FRCPC
▪ Pédiatre, généticien, Hôpital général de Montréal

Cédric Yansouni, MD, FRCPC, DTM&H
▪ Microbiologiste infectiologue, Centre universitaire de santé McGill (CUSM)

Membres

Lorraine Caron, Ph. D.
▪ Consultante en éthique

Membre citoyen

Suzanne K. Bédard

Guy Fink, Ph. D.
▪ Biochimiste clinique, CHU de Sherbrooke

LISTE DES ANALYSES

DÉTECTION DU VARIANT C677T DU GÈNE DE LA MÉTHYLÈNE TÉTRAHYDROFOLATE RÉDUCTASE (MTHFR)	1
TAAN MULTIPLEXE DE 14 AGENTS PATHOGÈNES POUR UN DIAGNOSTIC DE MÉNINGITE OU D'ENCÉPHALITE À PARTIR DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN (RÉFÉRENCE – 2013.02.008R)	67
ANALYSE DU TEST RESPIRATOIRE À L'URÉE MARQUÉE AU CARBONE 13 PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE À RATIOS ISOTOPIQUES POUR LA DÉTECTION DE <i>H. PYLORI</i> (RÉFÉRENCE - 2013.03.003 1R)	98
MESURE QUANTITATIVE DES VITAMINES HYDROSOLUBLES (B1, B2, B3, B6 ET C) PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (HPLC) (RÉFÉRENCE - 2017.01.002)	131
MUCOPOLYSACCHARIDES (GLYCOSAMINOGLYCANS), FRACTIONNEMENT ET QUANTIFICATION PAR LC-MS/MS (RÉFÉRENCE - 2017.02.001)	153
ANALYSE COMBINÉE DES GÈNES <i>KRAS-NRAS-BRAF</i> PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION POUR LE TRAITEMENT DU CANCER COLORECTAL MÉTASTATIQUE (RÉFÉRENCE - 2017.02.002)	185
CYSTATINE C – MESURE QUANTITATIVE PAR IMMUNOTURBIDIMÉTRIE (RÉFÉRENCE - 2017.02.003)	225
DÉTECTION DE LA MUTATION RESPONSABLE DE LA MUCOLIPIDOSE DE TYPE II AU SAGUENAY LAC-SAINT-JEAN (RÉFÉRENCE - 2017.02.006)	291
DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES ENTÉROPATHOGÈNES BACTÉRIENS PAR PCR MULTIPLEXE (RÉFÉRENCE - 2017.01.007A)	309
DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES ENTÉROPATHOGÈNES VIRAUX PAR PCR MULTIPLEXE (RÉFÉRENCE - 2017.01.007B)	338

DÉTECTION DU VARIANT C677T DU GÈNE DE LA MÉTHYLÈNE TÉTRAHYDROFOLATE RÉDUCTASE (*MTHFR*)

Avis d'évaluation

1. INFORMATION GÉNÉRALE

1.1. Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.2. Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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^{re} Annie Ouellet**, obstétricienne-gynécologue, médecine fœtale et maternelle, CIUSS de l'Estrie-CHUS;
- **D^{re} Anne-Marie Laberge**, médecin généticienne, CHU Sainte-Justine;
- **D^r George-Étienne Rivard**, hémato-oncologue, pédiatre, CHU Sainte-Justine.

2. RÉSUMÉ

Contexte et justification de l'évaluation

L'objectif de cette évaluation était de fournir une appréciation de la pertinence clinique de la détection du variant C677T du gène *MTHFR*, un variant très étudié entre autres dans sa relation avec l'hyperhomocystéinémie et plusieurs conditions médicales chez les femmes enceintes. Les huit indications retenues pour cette évaluation incluent des complications de la grossesse (5) et des anomalies affectant le fœtus (2) ou l'enfant (1). Au Québec, la recherche de ce variant est fréquemment réalisée, principalement dans le but de mettre en évidence les individus homozygotes pour ce variant, dont la prévalence se situe à environ 10 % au Canada. Selon les experts consultés, l'utilité de la détection du variant C677T serait limitée. Sur la base des informations recueillies auprès d'experts dans le domaine, le comité consultatif de diagnostic moléculaire du MSSS questionne la pertinence de rechercher ce variant et les risques de mauvaises interprétations en lien avec les résultats du dosage plasmatique de l'homocystéine.

Pertinence clinique

Une association significative a été démontrée entre le variant C677T et le risque de prééclampsie, d'anomalie du tube neural et d'accident vasculaire cérébral chez l'enfant, contrairement au risque de décollement prématuré du placenta et de la thromboembolie veineuse en grossesse. Le risque d'avortements spontanés répétés, d'accouchements prématurés ou de malformations cardiaques congénitales n'est toutefois pas clairement associé au variant C677T.

COMPLICATION / ANOMALIE	ASSOCIATION VARIANT - COMPLICATION	
	MODÈLE HOMOZYGOTE	AUTRES MODÈLES GÉNÉTIQUES
Prééclampsie	Risque augmenté (Blancs et Asiatiques)	Risque augmenté - Blancs : 3 modèles - Asiatiques : 4 modèles
Avortements spontanés répétés	Association controversée (Blancs et Asiatiques)	Association controversée (Blancs et Asiatiques)
Accouchement prématuré	- Aucune association (Blancs) - Risque augmenté (Asiatiques)	Risque augmenté - Asiatiques : 2 modèles
Décollement prématuré du placenta	Aucune association	Aucune association (3 modèles)
Thromboembolie veineuse en grossesse	Non évaluée	Aucune association (modèle allélique)
Malformation cardiaque congénitale	- Aucune association (Blancs) - Risque augmenté (Asiatiques, 1 méta-analyse)	Risque augmenté - Blancs : 2 modèles - Asiatiques : 3 modèles
Anomalie du tube neural	Risque augmenté (Blancs, Asiatiques)	Risque augmenté - Blancs et Asiatiques : 3 modèles
Accident vasculaire cérébral périnatal	Risque augmenté (Blancs)	Risque augmenté - Blancs : 2 modèles

L'hyperhomocystéinémie a été associée à un risque accru de certaines complications de la grossesse dont la prééclampsie et les anomalies du tube neural. Toutefois, une supplémentation en acide folique, vitamine B6 et B12 permettrait de réduire la concentration en homocystéine et l'occurrence de ces complications. Par ailleurs, l'administration d'un traitement anticoagulant permettrait de prévenir la prééclampsie sans toutefois avoir d'effet démontré sur l'incidence des avortements spontanés répétés et la thromboembolie veineuse en grossesse.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

Selon l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) et l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), la recherche du variant C677T du gène *MTHFR* n'est pas recommandée en raison du manque d'association avec les diverses complications de la grossesse, ainsi que pour l'évaluation clinique de la thrombophilie ou les pertes récurrentes de grossesse.

Un groupe de travail de la Société française de néonatalogie et du Centre national de référence de l'AVC de l'enfant souligne que le test génétique du variant thermolabile C677T du gène *MTHFR* ne devrait pas être considéré chez les nouveau-nés souffrant d'AVC ischémiques, sauf en présence d'antécédents thrombotiques veineux familiaux.

3. ANALYSE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

La détection du variant C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) vise à mettre en évidence le polymorphisme thrombophilique qui affecte la thermolabilité de l'enzyme et amène une réduction de son activité.

3.2 Description de la méthode

La détection du variant C677T du gène *MTHFR* est réalisée sur des échantillons d'ADN à l'aide d'un PCR en temps réel. Le temps de réponse de cette analyse varie entre 2 et 4 semaines.

Au Québec, six laboratoires sont désignés pour effectuer la recherche du variant C677T, soit : le CHUM, le CHU Sainte-Justine, le CUSM, l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, l'Hôpital général juif et le CHU de Québec.

Ces laboratoires utilisent une technique de PCR en temps réel avec sonde marquée pour vérifier la présence du variant. Le CHU de Québec utilise actuellement la technique des sondes d'hybridation FRET (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) résumée ci-dessous.

La détection des mutations par la technique des sondes d'hybridation FRET est une technique simple, rapide et relativement sensible (détection si plus de 5 % d'allèles

mutés) basée sur le PCR en temps réel qui permet de détecter des mutations dont la nature et l'emplacement peuvent varier. En résumé, il s'agit d'amplifier l'ADN cible puis de faire une courbe de dénaturation en présence d'une paire de sondes d'hybridation. Les sondes fluorescent lorsqu'elles sont hybridées à l'ADN, mais cessent de fluorescer lorsqu'elles se détachent. Les sondes s'attachant plus fortement à la séquence normale qu'à la séquence mutée (où il y a mésappariement), la température de fusion des sondes (T_m) est plus élevée pour la séquence normale que pour la séquence mutée, générant deux pics de fusion.

3.3 Données médico-administratives

Les données de volumétrie du test génétique pour la détection du variant C677T du gène *MTHFR* (code 25042) sont présentées au tableau 1.

Tableau 1 Volumétrie du test génétique pour la détection du variant C677T et coûts générés *

ANNÉES	VOLUME ANNUEL	VALEUR PONDÉRÉE	COÛT TOTAL (\$)
2010-2011	2 668	17,9	47 757
2011-2012	2 855	17,9	51 104
2012-2013	3 197	17,9	57 226
2013-2014	2 700	17,9	48 330
2014-2015	2 231	17,9	39 934
2015-2016	2 173	17,9	38 896

* Six centres désignés : CUSM, CHU Sainte-Justine, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, CHUM, CHU de Québec, Hôpital général juif

Les données de volumétrie 2015-2016 pour le dosage de l'homocystéine sérique ainsi que le nombre d'établissements qui l'effectuent sont présentées au tableau 2. Les dosages par HPLC et selon une méthode immuno-enzymatique sont actuellement réalisés.

Tableau 2 Volumétrie 2015-2016 du dosage de l'homocystéine sérique

MÉTHODE	CODE (VALEUR PONDÉRÉE)	HIÉRARCHIE (NB D'ÉTABLISSEMENTS)	VOLUME	COÛT TOTAL (\$)
HPLC*	30 234 (31,0)	Suprarégionale (3) †	1 652	51 212
Immuno-enzymatique	30 235 (10,8)	Régionale (13)	7 132	77 024

* HPLC : chromatographie liquide à haute performance, de l'anglais *high performance liquid chromatography*

† CHUS, CUSM, CHUM

4 CONTEXTE

4.1 Description de la maladie visée

La thrombophilie constitue un groupe de désordres de la coagulation associé à une prédisposition à la thrombose et ainsi, à une augmentation du risque d'événements thromboemboliques tels que la thrombose veineuse profonde et l'embolie pulmonaire [de Jong *et al.*, 2014]. La thrombophilie peut être acquise ou héréditaire [Areia *et al.*, 2016; de Jong *et al.*, 2014]. Qu'elle soit acquise ou héréditaire, la thrombophilie a été associée tant à la thrombose vasculaire qu'aux complications de la grossesse, incluant les avortements spontanés répétés et les accouchements prématurés [de Jong *et al.*, 2014].

L'identification de plusieurs variants génétiques associés à un état d'hypercoagulabilité tel que la thrombophilie a permis d'accroître la compréhension des mécanismes étiologiques de la thrombose. Notamment, le variant C677T du gène *MTHFR* peut mener à une hyperhomocystéinémie, qui est associée à un risque accru de thromboembolie veineuse et de maladie cardiaque coronarienne [Kahn, 2009], d'anomalies du tube neural et de complications de la grossesse [Moll et Varga, 2015]. Les causes de l'hyperhomocystéinémie incluent, entre autres, les déficits en vitamine B12 ou en acide folique et les anomalies enzymatiques. Une des anomalies enzymatiques les plus courantes est une altération de l'enzyme *MTHFR* (*methylene tetrahydrofolate reductase*) qui résulte de la substitution d'une cytosine pour une thymine en position 677 du gène *MTHFR*, soit le variant C677T. La *MTHFR* est requise pour la régénération de la méthionine à partir de l'homocystéine. Ce variant produit une enzyme dont l'activité est réduite, avec comme conséquence une augmentation du niveau d'homocystéine. Environ 40 % de la population générale est hétérozygote et 10 % est homozygote pour le variant C677T [Thrombosis Canada, 2017].

4.2 Justification de l'évaluation

La détection du variant C677T du gène *MTHFR* est une analyse inscrite au Répertoire (code 25042). Toutefois, le comité consultatif de diagnostic moléculaire du MSSS questionne la pertinence de rechercher ce variant et les risques de mauvaises interprétations en lien avec les résultats du dosage plasmatique de l'homocystéine.

Depuis sa découverte il y a 20 ans, le variant C677T a été très étudié en lien avec l'hyperhomocystéinémie et l'apparition des conditions médicales. Cette association a été observée dans plus de 600 conditions médicales, notamment pour les maladies cardio-vasculaires, l'angine de poitrine et l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux, les maladies artérielles périphériques et les thromboembolies veineuses [Moll et Varga, 2015]. Chez les femmes enceintes, il a été associé avec la prééclampsie, les pertes récurrentes de grossesse, les thromboembolies veineuses, le décollement prématuré du placenta et, chez leurs enfants, avec les anomalies du tube neural et les malformations cardiaques congénitales [Levin et Varga, 2016]. Certaines études ont souligné le fait que ce variant soit un cofacteur dans la pathologie de ces maladies, et que d'autres

facteurs, comme l'origine ethnique, les facteurs environnementaux ou l'interaction avec d'autres facteurs génétiques, participeraient à cette association positive et doivent être pris en considération [Moll et Varga, 2015; Kahn, 2009].

Selon les experts consultés¹, cette analyse est principalement utilisée pour les patients présentant des thromboses inexpliquées, surtout artérielles (mais également veineuses), associées à une hyperhomocystéinémie. En obstétrique, on associe la présence du variant C677T à un risque de thrombose justifiant l'administration d'héparine de faible poids moléculaire². Par ailleurs, chez les individus homozygotes, la consommation quotidienne d'un supplément d'acide folique permet de contrôler l'effet de l'anomalie génétique³, en l'occurrence, l'hyperhomocystéinémie.

4.3 Brève description de la situation actuelle

Au Québec, la recherche du variant C677T du gène *MTHFR* est un test fréquemment utilisé, principalement dans le but de mettre en évidence les individus homozygotes (677TT) pour ce variant. Au Canada, la prévalence de ces derniers dans la population générale se situe à environ 10 % [Thrombosis Canada, 2017] et ils auraient besoin d'une dose d'acide folique plus élevée comparativement aux individus hétérozygotes pour corriger l'hyperhomocystéinémie [Colson *et al.*, 2017; Serapinas *et al.*, 2017]. L'hyperhomocystéinémie est un marqueur biochimique de la présence de ce variant, mais la mesure de l'homocystéine n'est pas un test réalisé de routine dans tous les laboratoires (tableau 2). L'approche moléculaire serait plus facile dans certaines institutions⁴.

Au Québec, six laboratoires sont désignés pour effectuer la recherche du variant C677T, soit : le CHU Sainte-Justine, le CUSM, le CHU de Québec, le CHUM, l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont et l'Hôpital général juif. Selon les informations recueillies, la détection du variant C677T du gène *MTHFR* est réalisée sur des échantillons d'ADN à l'aide d'un PCR en temps réel. Le temps de réponse de cette analyse varie entre 2 et 4 semaines.

¹ Les experts consultés sont : D^r Marc Lalancette (hématologue, CHU Hôtel-Dieu de Québec) et D^{re} Christine Demers (hématologue, CHU Hôpital Enfant-Jésus et St-Sacrement, Québec) 2 décembre 2016.

² Information transmise par le D^r David Rosenblatt (médecin généticien, CUSM) 21 novembre 2016.

³ Information transmise par la D^{re} Rima Rozen (Université McGill) 23 novembre 2016.

⁴ Information transmise par la D^{re} Rima Rozen (Université McGill) 23 novembre 2016.

4.4 Indications cliniques et patients ciblés

Selon les experts consultés, les patients ciblés par l'analyse du variant C677T du gène *MTHFR* sont les femmes en âge de procréer et les enfants chez qui :

- on soupçonne une thrombophilie héréditaire;
- qui présentent de l'hyperhomocystéinémie ou;
- qui ont des antécédents de thromboembolie veineuse, de thromboses artérielles, de prééclampsie grave, de naissances d'enfants présentant des malformations cardiaques congénitales ou de complications affectant le fœtus ou le placenta.

Ainsi, les indications qui seront évaluées sont :

- Complications de grossesse :
 - la prééclampsie;
 - les avortements spontanés répétés;
 - les accouchements prématurés;
 - le décollement prématuré du placenta;
 - la thromboembolie veineuse en grossesse;
- Anomalies du fœtus, du nouveau-né et de l'enfant :
 - les malformations cardiaques congénitales;
 - les anomalies du tube neural;
 - l'accident vasculaire cérébral du fœtus, du nouveau-né ou de l'enfant.

5 PERTINENCE CLINIQUE

La présence du variant C677T, associée ou non à une hyperhomocystéinémie, constituerait un facteur de risque de complications de la grossesse ainsi que du développement de certaines anomalies du fœtus et de l'enfant. Afin de minimiser l'impact de cette anomalie génétique, la consommation d'acide folique et le traitement anticoagulant prophylactique sont des interventions possibles et fréquemment rapportées dans la littérature.

Les études retenues pour la présente évaluation de la pertinence de la détection du variant C677T permettent d'illustrer les aspects suivants :

- Association entre le variant C677T et le risque de complications;
- Association entre l'hyperhomocystéinémie et le risque de complications;
- Impact de certaines interventions sur le niveau d'homocystéine et sur l'incidence des complications.

5.1 Association entre le variant C677T et le risque de complications de la grossesse

Les 22 méta-analyses retenues portant sur l'association du variant C677T et le risque de complications classent les sujets évalués en fonction de 3 génotypes possibles : CC, CT et TT. Les modèles génétiques présentés dans les diverses études d'associations sont les suivants :

- Modèle allélique (T c. C) : compare le nombre d'allèles T à celui des allèles C;
- Modèle récessif (TT c. TC + CC) : compare le génotype TT à la combinaison des génotypes TC + CC;
- Modèle dominant (TT + TC c. CC) : compare la combinaison des génotypes TT + TC au génotype CC;
- Modèle homozygote (TT c. CC) : compare le génotype TT au génotype CC;
- Modèle hétérozygote (CT c. CC) : compare le génotype CT au génotype CC.

La détection du variant C677T étant principalement réalisée dans le but de mettre en évidence les individus homozygotes (677TT), seuls les résultats d'évaluation de l'association entre le variant C677T et le risque de complications ou d'anomalies selon le modèle génétique homozygote sont présentés au tableau 3. Parmi les 22 méta-analyses retenues, 15 ont analysé les données selon le modèle génétique homozygote. Les associations statistiquement significatives sont indiquées en caractères gras.

Les données analysées selon les 4 autres modèles génétiques sont présentées aux annexes de A à G.

Tableau 3 Résumé des résultats des méta-analyses retenues pour l'association du variant C677T et le risque de complications de la grossesse et anomalies du fœtus selon le modèle HOMOZYGOTE (TT c. CC)

COMPLICATION	MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C > T ET COMPLICATION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
				RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
Prééclampsie	[Yang <i>et al.</i> , 2014]	Tous (65)	ND/ND	1,37 (1,18 - 1,58)	< 0,001	31,0	0,01
	[Li <i>et al.</i> , 2014]	Tous (46)	Total 16 583	1,31 (1,10 - 1,57)	ND	39,5	0,004
		Blancs (28)	9 911	1,34 (1,10 - 1,64)	ND	26,9	0,09
		Asiatiques (6)	1 649	2,19 (1,31 - 3,65)	ND	37,0	0,16
		Africains (3)	1 178	1,52 (0,29 - 7,94)	ND	0,0	0,63
	[Wang <i>et al.</i> , 2013b]	Tous (51)	3 020/5 649	1,28 (1,07 - 1,53)	0,006	30,3	0,03
		Blancs (32)	1 620/3 452	1,19 (0,99 - 1,43)	0,65	0,0	0,66
		Asiatiques de l'est (9)	449/825	2,20 (1,37 - 3,54)	0,001	59,5	0,02
		Asiatiques du sud (3)	340/308	0,94 (0,39 - 2,23)	0,88	0,0	0,70
		Latinos (6)	290/667	1,05 (0,66 - 1,68)	0,88	53,1	0,06
		Africains (2)	320/397	1,17 (0,17 - 8,01)	0,88	0,0	0,42
	[Xia <i>et al.</i> , 2012]	Tous (35)	4 253/4 950	1,25 (1,02 - 1,54)	0,03	36,8	0,02
		Blancs (17)	ND	1,12 (0,92 - 1,37)	0,27	0,0	0,52
		Asiatiques (9)	ND	2,09 (1,31 - 3,31)	0,002	42,4	0,08

COMPLICATION	MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C > T ET COMPLICATION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
				RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
Avortements spontanés répétés	[Shi <i>et al.</i> , 2017]	Tous (84)	ND/ND	1,11 (0,99 - 1,24)	0,08	ND	ND
		Blancs (52)	ND/ND	1,15 (0,99 - 1,34)	0,06	ND	ND
		Asiatiques (27)	ND/ND	1,03 (0,85 - 1,25)	0,77	ND	ND
	[Yang <i>et al.</i> , 2016]	Mères (53)	6 078/9 441	2,29 (1,70 – 3,07)	0,000	77,5	0,000
		Blanches (31)		1,92 (1,24 – 2,96)			
		Asiatiques (22)		2,78 (1,99 – 3,89)			
		Pères Blancs (3)	718/403	9,82 (0,146 – 661,31)	0,29	91,1	0,000
		Fœtus (4)	395/404	1,23 (0,31 – 4,90)	0,78	86,7	0,000
		Blancs (2)		0,73 (0,10 – 5,54)			
		Asiatiques (2)		2,28 (0,11 – 48,34)			
Accouchements prématurés	[Wu <i>et al.</i> , 2017]	Mères (8)	1 338/1 736	1,70 (1,07 – 2,68)	0,024	68,0	ND
		Blanches (1)	ND/ND	1,08 (0,09 – 13,15)	0,95	ND	ND
		Asiatiques (5)	ND/ND	1,81 (1,03 – 3,19)	0,039	75,5	ND
		Fœtus (3)	425/520	1,62 (0,59 – 4,43)	0,35	85,5	ND

COMPLICATION	MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C > T ET COMPLICATION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
				RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I² (%)	Q-test (valeur p)
	[Chen <i>et al.</i> , 2016]	Tous (11)	2 987/18 568	1,29 (0,90 - 1,85)	0,17	75,5	ND
		Blancs (5)	1 978/16 459	1,23 (0,91 - 1,67)	0,18	44,2	ND
		Asiatiques (3)	564/638	1,96 (1,01 - 3,83)	0,05	77,3	ND
Décollement prématuré du placenta	[Chen <i>et al.</i> , 2016]	Tous (13)	1 293/18 208	1,09 (0,70 - 1,73)	0,69	45,7	ND
		Blancs (8)	954/17 329	1,11 (0,66 - 1,85)	0,70	62,5	ND
		Africains (4)	319/769	0,78 (0,12 - 5,19)	0,80	0,0	ND
Malformations cardiaques congénitales	[Xuan <i>et al.</i> , 2014]	Tous (35)	9 329/15 076	1,49 (1,14 - 1,94)	0,003	78,9	0,000
		Blancs (15)	7 092/12 150	1,27 (0,98 - 1,66)	0,07	44,7	0,07
		Asiatiques (14)	1 911/2 222	1,96 (1,20 - 3,20)	0,007	83,9	0,000
		Total mères des cas (19)	3 232/27 174	1,49 (1,17 – 1,90)	0,001	45,4	0,02
		Mères blanches (9)	2 431/26,170	1,16 (0,98 – 1,37)	0,69	0,0	0,61
		Mères asiatiques (5)	467/616	2,55 (1,79 – 3,63)	2,22 X 10⁻⁷	0,0	0,48
	[Li <i>et al.</i> , 2015]	Tous (16)	1 030/1 476	1,54 (1,04 - 2,26)	0,03	63,0	0,0008
		Total mères des cas c. mères des témoins (13)	697/8 067	1,29 (0,83 – 2,02)	0,26	52,0	0,03

COMPLICATION	MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C > T ET COMPLICATION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
				RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
	[Wang <i>et al.</i> , 2013a]	Tous (19)	2 697/3 434	1,61 (1,37 - 1,89)	ND	67,6	0,0000
		Blancs (8)	796/1 485	1,23 (0,93 - 1,64)	ND	ND	0,30
		Asiatiques (11)	1 901/1 949	1,79 (1,49 - 2,16)	ND	ND	0,0000
		Total mères des cas (14)	1 745/2 044	1,25 (1,01 - 1,55)	ND	26,8	0,17
		Blanches (10)	1 311/1 531	1,19 (0,93 - 1,53)	ND	ND	0,12
		Asiatiques (4)	434/513	1,45 (0,92 - 2,30)	ND	ND	0,21
	[Nie <i>et al.</i> , 2011]	Tous (13)	1 898/3 003	1,27 (0,95 - 1,71)	0,11	47,8	0,03
		Blancs (5)	649/1 150	1,52 (1,11 - 2,10)	0,01	44,5	0,13
		Asiatiques (3)	771/825	1,30 (0,58 - 2,91)	0,52	74,6	0,02
Anomalies du tube neural	[Yadav <i>et al.</i> , 2015]	Tous (50)	4 076/6 731	1,66 (1,35 - 2,05)	< 0,0001	45,4	0,0006
		Blancs d'Europe (22)	ND/ND	1,47 (1,13 - 1,91)	0,003	40,7	0,02
		Américains (15)	ND/ND	1,68 (1,23 - 2,28)	0,0009	25,0	0,18
		Asiatiques (12)	ND/ND	2,55 (1,25 - 5,21)	0,009	61,4	0,003

COMPLICATION	MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C > T ET COMPLICATION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
				RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
Accident vasculaire cérébral (nouveau- né, enfant)	[Kenet <i>et al.</i> , 2010]	Tous (11)	777/1 715	1,58 (1,20 - 2,08) *	ND	3,5	0,40

Abréviations : N : nombre; ND : non déterminé

* Rapport de cotes estimé selon le modèle à effets fixes

5.1.1 Complications de grossesse

Variant C677T et risque de prééclampsie

Quatre méta-analyses traitant de l'association entre le variant C677T et le risque de prééclampsie selon le modèle homozygote ont été retenues [Li *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2013b; Xia *et al.*, 2012].

Considérant toutes les populations incluses, le risque de prééclampsie associée à la présence du variant C677T était de 1,25 à 1,37 fois supérieur. Chez les Asiatiques, ce risque de prééclampsie était plus marqué que pour les autres populations étudiées dans 3 des 4 méta-analyses, soit un risque 2,09 à 2,20 fois supérieur (tableau 3). Par ailleurs, cette association significative était moins accentuée lorsque l'analyse était effectuée selon les autres modèles génétiques (annexe A). Pour la population blanche, un risque de prééclampsie 1,34 fois supérieur a été démontré en modèle homozygote dans une méta-analyse (tableau 3) et à un niveau similaire en modèles allélique, récessif et dominant (annexe A).

Les auteurs des 4 méta-analyses ont conclu que le variant C677T pourrait être associé à un risque accru de prééclampsie dans la population asiatique et blanche. Toutefois, Xia et ses collaborateurs [2012] ont mentionné qu'il n'y avait pas suffisamment d'évidences pour confirmer cette association chez les Blancs.

Variant C677T et risque d'avortements spontanés répétés

Deux méta-analyses évaluant l'association entre le variant C677T et le risque d'avortements spontanés répétés (ASR) selon le modèle homozygote ont été retenues [Shi *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2016].

Selon le modèle génétique homozygote, la méta-analyse de Shi et ses collaborateurs [2017] n'a démontré aucune association entre le variant C677T et le risque d'ASR, tant pour l'ensemble des populations incluses que pour les Blancs et les Asiatiques (tableau 3). Une réduction du risque d'ASR a par ailleurs été démontrée au moyen des modèles allélique et dominant (tableaux B-1 et B-3), tandis qu'une augmentation du risque a été démontrée selon le modèle récessif (tableau B-2), et ce pour l'ensemble des populations, les Blancs et les Asiatiques.

La méta-analyse de Yang et ses collaborateurs (2016) a permis d'évaluer l'effet du variant C677T maternel, paternel et fœtal sur le risque d'ASR selon les 5 modèles génétiques (tableau 3 et annexe B). Selon les 5 modèles, la présence du variant chez l'ensemble des mères a été associée à un risque accru d'ASR (rapport de cotes 1,38 à 2,29). Chez les mères blanches et asiatiques, le risque d'ASR était également augmenté. La présence du variant chez les pères blancs a été associée à un risque 2,66 fois supérieur uniquement selon le modèle dominant (tableau B-3, annexe B), tandis qu'aucun modèle génétique n'a démontré un effet du variant chez le fœtus.

Pour les modèles allélique, récessif et dominant, les méta-analyses de Cao et ses collaborateurs [2013] et de Wu et ses collaborateurs [Wu *et al.*, 2012] (annexe B) ont démontré une association positive significative entre le variant C677T et le risque d'ASR principalement chez les Asiatiques.

Selon les auteurs des méta-analyses retenues, les résultats ont démontré une augmentation significative du risque d'ASR en présence du variant C677T. Selon la méta-analyse de Yang et ses collaborateurs [2016], ce risque était davantage présent si le variant était détecté chez la mère que chez le père.

Variant C677T et accouchements prématurés et décollement prématuré du placenta

Deux méta-analyses ont été retenues quant à l'évaluation de l'association entre le variant C677T et, les accouchements prématurés (AP) [Wu *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2016] et le décollement prématuré du placenta (DPP) [Chen *et al.*, 2016].

Selon le modèle homozygote, pour l'ensemble des cas étudiés, une méta-analyse a révélé que le risque d'AP était 1,70 fois plus élevé en présence du variant C677T [Wu *et al.*, 2017]. Comparativement à la population blanche pour laquelle aucune association entre le variant et le risque d'AP n'a été démontrée selon les 5 modèles génétiques, la population asiatique aurait un risque d'AP soit 1,81 et 1,96 supérieur [Wu *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2016] (tableau 3). Pour la population asiatique, ce risque accru d'AP avait aussi été démontré selon le modèle allélique [Wu *et al.*, 2017] et le modèle dominant [Chen *et al.*, 2016] (annexe C).

Le risque de DPP, étudié dans la méta-analyse de Chen et ses collaborateurs [2016] selon 4 modèles génétiques, n'a pas été associé à la présence du variant C677T pour l'ensemble des cas étudiés, tant pour la population blanche qu'asiatique.

En conclusion, selon Wu et ses collaborateurs [2017] il y aurait une association entre le variant C677T et le risque d'AP, particulièrement chez les Asiatiques. Chen et ses collaborateurs [2016] ont conclu qu'il n'y avait aucune association entre le variant C677T et le risque d'AP ou de DPP, bien qu'ils aient rapporté des rapports de cote significatifs de 1,96 et 1,63 pour les modèles génétiques homozygote et dominant respectivement, pour la population asiatique.

Variant C677T et risque de thromboembolie veineuse chez les femmes enceintes

Une méta-analyse a été retenue concernant l'évaluation de l'association entre le variant C677T et le risque de thromboembolie veineuse (TEV) au cours de la grossesse [Ziakas *et al.*, 2015]. Cette méta-analyse a évalué l'association entre le variant C667T et le risque des TEV chez les femmes enceintes, selon un seul modèle génétique, le modèle allélique (annexe D).

Aucune association entre le variant C667T et le risque de TEV n'a été démontrée pour l'ensemble des cas étudiés ainsi que pour les populations blanche et asiatique.

5.1.2 Anomalies du fœtus, du nouveau-né et de l'enfant

Variant C677T et risque de malformation cardiaque congénitale

Quatre méta-analyses évaluant l'association entre le variant C677T maternel et le risque de malformation cardiaque congénitale (MCC) chez les enfants selon le modèle homozygote ont été retenues [Li *et al.*, 2015; Xuan *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2013a; Nie *et al.*, 2011] (tableau 3).

Le risque de MCC était 1,25 à 1,49 fois supérieur pour l'ensemble des mères des cas. Dans la population des mères blanches, aucune association n'a été démontrée, tandis que dans la population des mères asiatiques, une méta-analyse a montré un risque 2,55 fois supérieur [Xuan *et al.*, 2014]. Des résultats similaires ont été obtenus avec les modèles génétiques allélique, récessif et dominant, à l'exception de la méta-analyse de Xuan et ses collaborateurs [2014] qui a mis en évidence une association positive significative entre le variant C677T maternel et le risque de MCC pour la population blanche avec les modèles allélique et dominant (annexe E).

Selon le modèle homozygote, les résultats de 3 des 4 méta-analyses ont montré que l'ensemble des cas d'enfants qui présentaient le variant C677T avaient 1,49 à 1,61 fois plus de risque d'avoir des MCC comparativement à l'ensemble des témoins [Li *et al.*, 2015; Xuan *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2013a] (tableau 3). Selon l'origine ethnique, une seule méta-analyse a montré un risque 1,52 fois supérieur pour les populations de cas blancs [Nie *et al.*, 2011] et 2 méta-analyses ont montré un risque 1,79 et 1,96 fois supérieur pour les populations de cas asiatiques [Xuan *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2013a]. Des résultats similaires ont été obtenus avec les modèles génétiques allélique, récessif et dominant (annexe E).

En conclusion, selon le modèle génétique étudié, un risque accru de développement de MCC chez les enfants des mères porteuses du variant C677T a été démontré [Wang *et al.*, 2013a], particulièrement dans la population maternelle asiatique (rapport de cotes 2,55, modèle homozygote) [Xuan *et al.*, 2014]. Le variant C677T fœtal a été associé au développement de MCC, et ce pour les 4 modèles génétiques étudiés (rapport de cotes 1,26 à 1,61) [Wang *et al.*, 2013a]. Un risque 1,35 à 1,79 fois supérieur a été démontré pour la population asiatique [Wang *et al.*, 2013a] et 1,19 à 1,52 fois supérieur pour la population blanche [Nie *et al.*, 2011].

Variant C677T et risque d'anomalies du tube neural

Une méta-analyse évaluant l'association entre le variant C677T et le risque d'anomalie du tube neural (ATN) selon le modèle homozygote a été retenue [Yadav *et al.*, 2015]. Considérant tous les cas d'ATN analysés ensemble, une augmentation du risque de 1,66 fois a été démontrée. Selon l'origine ethnique des cas, une augmentation du risque d'ATN de 1,47 fois a été démontrée pour les Blancs d'Europe, de 1,68 fois pour les Américains et de 2,55 fois pour les Asiatiques (tableau 3). Des résultats similaires ont été obtenus avec les autres modèles génétiques, sauf pour le modèle hétérozygote pour lequel aucune association significative n'a été démontrée (annexe F).

Selon les modèles allélique, récessif et dominant, la méta-analyse de Zhang et ses collaborateurs [2013] a démontré une association positive significative entre le variant C677T et le risque d'ATN.

Selon les auteurs des deux méta-analyses, le variant C677T est associé à un risque accru d'ATN.

Variant C677T et risque du premier accident vasculaire cérébral chez les nouveau-nés et les enfants

Une méta-analyse évaluant, entre autres, l'association entre le variant C677T et le risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) chez les nouveau-nés et les enfants selon le modèle homozygote a été retenue [Kenet *et al.*, 2010].

Considérant la population des cas d'AVC analysés ensemble, formée par d'individus blancs, une augmentation du risque de 1,58 fois a été démontrée (tableau 3). Aucune analyse de populations asiatiques n'a été effectuée. Les auteurs ont souligné que les nouveau-nés étaient particulièrement sous-représentés dans cette méta-analyse. Ainsi, les résultats doivent être interprétés avec précaution, notamment pour les bébés âgés de moins d'un an.

L'association entre le variant C677T et le risque d'AVC pour la population pédiatrique a par ailleurs été évaluée selon les modèles génétiques récessif et dominant [Sarecka-Hujar *et al.*, 2012]. Les résultats ont montré que l'ensemble des cas avaient un risque 1,52 à 1,57 supérieur d'AVC comparativement aux témoins (annexe G).

D'un point de vue global, les différents types de thrombophilie (acquise ou héréditaire) pourraient constituer un risque de premier AVC chez les nouveau-nés et les enfants [Kenet *et al.*, 2010].

5.2 Association entre l'hyperhomocystéinémie et le risque de complication de la grossesse ou d'anomalie du fœtus

Deux études ont été retenues en lien avec l'évaluation de l'association entre l'hyperhomocystéinémie sérique maternelle et le risque de complications de la grossesse : une méta-analyse [Yang *et al.*, 2017] et une étude cas-témoin [Bibi *et al.*, 2010].

Anomalies du tube neural

La méta-analyse réalisée par Yang et ses collaborateurs [2017] avait pour but d'évaluer la relation entre la concentration en homocystéine maternelle et le risque d'anomalies du tube neural du fœtus. Cette méta-analyse incluait 17 études cas-témoins regroupant 3 237 femmes qui avaient donné naissance à un bébé avec anomalie du tube neural (1304) ou à un bébé sans anomalie du tube neural (1933). La mesure de l'effet, exprimée en différence de moyenne pondérée (DMP), a été utilisée pour mesurer la différence de la concentration en homocystéine entre le groupe des cas et le groupe des témoins.

L'analyse groupée a démontré que les femmes ayant donné naissance à un bébé avec anomalie du tube neural avait une concentration moyenne d'homocystéine significativement supérieure comparativement au groupe sans anomalie (log DMP : 0,06, IC95 % : 0,02 - 0,09, $p = 0,001$; $I^2 : 0\%$), soit une augmentation de 6 % de la moyenne géométrique. L'analyse de 7 études dans lesquelles les échantillons sanguins étaient prélevés durant la grossesse ont montré une concentration en homocystéine significativement supérieure pour le groupe avec anomalie du tube neural (log DMP : 0,08, IC95 % : 0,03 - 0,12, $p < 0,01$), soit une augmentation de 8 % de la moyenne géométrique. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes lorsque le prélèvement était effectué après l'accouchement. Une différence significative a également été démontrée lors de l'analyse des 8 études où il était mentionné que les individus n'avaient pas reçu de suppléments d'acide folique avant le prélèvement (log DMP : 0,08, IC95 % : 0,02 - 0,15), contrairement aux études réalisées dans les pays où la prise de suppléments d'acide folique est obligatoire. L'analyse de sous-groupes réalisée en fonction du pays d'origine a révélé que le log de la différence moyenne de la concentration en homocystéine était significativement plus élevé pour le groupe avec anomalie du tube neural pour les Européens (5 études, log DMP : 0,07, IC95 % : 0,01 - 0,14, $p = 0,01$) et les Asiatiques (6 études, log DMP : 0,08, IC95 % : 0,01 - 0,15, $p = 0,03$), correspondant à une augmentation de 7 % et 8 % de la moyenne géométrique respectivement.

En conclusion, la concentration en homocystéine était significativement plus élevée chez les femmes ayant donné naissance à un bébé avec anomalie du tube neural, particulièrement chez les Européennes et les Asiatiques. Selon les auteurs, l'effet de certains facteurs confondants, notamment le moment du prélèvement, n'est pas exclu.

Prééclampsie

Un des deux objectifs principaux de l'étude de Bibi-Qureshi et ses collaborateurs [2010] était d'évaluer la relation entre la concentration sérique d'homocystéine et les complications de la grossesse. Cette étude a été réalisée chez 332 femmes enceintes (plus de 24 semaines de gestation) incluant : 112 femmes enceintes en bonne santé, 61 femmes enceintes ayant reçu un diagnostic de prééclampsie et 49 un diagnostic d'éclampsie, et 110 femmes ayant subi un décollement du placenta. Le tableau 4 présente les caractéristiques cliniques et la concentration en homocystéine sérique à jeun des différents groupes.

Tableau 4 Caractéristiques cliniques et homocystéine à jeun chez les femmes enceintes en santé ou présentant des complications de grossesse.

PARAMÈTRES	FEMMES ENCEINTES EN SANTÉ	PRÉÉCLAMPSIE	ÉCLAMPSIE	DÉCOLLEMENT PLACENTAIRE	VALEUR DE P
Âge gestationnel (sem.)	36,5 ± 2,43	35,0 ± 3,83	33,6 ± 4,69	33,3 ± 3,85	< 0,001
Tension artérielle moyenne (mm Hg)	96,2 ± 9,33	127,9 ± 15,6	130,6 ± 15,07	92,5 ± 17,5	< 0,001
Poids du bébé à la naissance (kg)	2,82 ± 0,67	2,57 ± 1,08	2,20 ± 0,66	2,21 ± 0,73	< 0,001
Conc. moy. homocystéine à jeun (μmol/l)	8,19 ± 3,05	9,42 ± 3,91	10,07 ± 7,72	7,83 ± 4,65	0,01

Source : [Bibi *et al.*, 2010]

Abréviations : conc. : concentration; moy. : moyenne, sem. : semaine

La concentration moyenne en homocystéine sérique était significativement plus élevée chez les femmes dont la grossesse avait été compliquée par un épisode de prééclampsie ou d'éclampsie comparativement aux femmes ayant subi un décollement placentaire et aux femmes enceintes en santé. Par ailleurs, une corrélation positive a été observée entre une concentration élevée en homocystéine et la tension artérielle ($r = 0,001$, $p < 0,001$) et entre une concentration élevée en homocystéine et le faible poids du bébé à la naissance ($r = 0,05$, $p = 0,06$). Selon les auteurs, les résultats ont démontré une association entre une concentration élevée en homocystéine sérique et les grossesses compliquées par la prééclampsie ou l'éclampsie.

5.3. Impact de la supplémentation en acide folique sur le niveau d'homocystéine (et de folate) sérique

La concentration plasmatique en homocystéine est influencée par divers facteurs physiologiques et le style de vie. La malnutrition ou malabsorption du folate, des vitamines B6 et B12 ou la présence du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* sont parmi les facteurs associés à une augmentation de la concentration en homocystéine [Colson *et al.*, 2017; Refsum *et al.*, 2006], elle-même associée à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires et aux complications de la grossesse (Refsum 2006). Ainsi, diverses études ont évalué si une supplémentation vitaminique pouvait réduire la concentration en homocystéine. Parmi celles-ci, une étude de cohorte [Bibi *et al.*, 2010] et une méta-analyse [Colson *et al.*, 2017] ont été retenues afin d'illustrer l'impact d'une supplémentation dans un contexte obstétrical et non obstétrical, respectivement.

Supplémentation en contexte obstétrical

L'étude de Bibi-Qureshi et ses collaborateurs [2010], décrite à la section précédente, avait comme second objectif principal d'évaluer l'effet d'une supplémentation en folate, vitamine B6 et B12 sur la concentration en homocystéine sérique. Parmi les 332 femmes enceintes incluses dans cette étude, une cohorte de 30 femmes dont la concentration en homocystéine était supérieure à 8,2 $\mu\text{mol/l}$ a été sélectionnée pour recevoir des suppléments de folate, de vitamine B6 et B12. Les femmes ayant consommé de tels suppléments au cours des 3 mois précédents l'étude étaient exclues. Pour une période de 6 semaines, elles ont reçu une dose quotidienne de 5 mg de folate, 1 000 μg de vitamine B6 et 1 000 μg de vitamine B12, après quoi la concentration en homocystéine sérique a été à nouveau mesurée. Le tableau 5 présente la concentration en homocystéine pré et postsupplémentation.

Tableau 5 Effet d'une supplémentation en folate, vitamine B6 et B12 sur la concentration sérique en homocystéine

GROUPE (N)	HOMOCYSTÉINE AVANT SUPPLÉMENTATION ($\mu\text{MOL/L}$)	HOMOCYSTÉINE APRÈS SUPPLÉMENTATION ($\mu\text{MOL/L}$)	VALEUR DE P
En santé (4)	14,60 $\pm$ 5,25	9,12 $\pm$ 2,54	0,02
Prééclampsie (6)	17,90 $\pm$ 6,12	12,67 $\pm$ 2,56	0,12
Éclampsie (7)	19,10 $\pm$ 4,87	10,01 $\pm$ 1,25	0,004
Décollement placentaire (13)	16,50 $\pm$ 7,02	11,68 $\pm$ 3,10	0,02
TOTAL (30)	17,13 $\pm$ 6,26	11,15 $\pm$ 2,75	< 0,001

Source : [Bibi *et al.*, 2010]

Les résultats ont montré qu'après 6 semaines de supplémentation, la concentration en homocystéine sérique a diminué de façon significative chez les femmes enceintes en santé, mais aussi chez celles dont la grossesse était compliquée par l'éclampsie ou le décollement placentaire. Les auteurs ont conclu que la supplémentation en folate, vitamine B6 et B12 serait une façon efficace de réduire la concentration en homocystéine et certaines complications associées.

Supplémentation en contexte non obstétrical

Bien que la population ciblée dans la présente évaluation de la pertinence de détecter le variant C677T, soit les femmes en âge de procréer et leurs enfants, une méta-analyse réalisée par Colson et ses collaborateurs [2017], incluant 10 études d'intervention constituées d'hommes et de femmes, a été retenue. Cette méta-analyse avait pour objectif d'évaluer l'influence du génotype C677T sur la concentration en homocystéine et en folate sériques pré et postsupplémentation en acide folique. Les participantes ne devaient pas être atteintes d'une maladie chronique ou consommer des suppléments ou

médicaments pouvant affecter le niveau de folate et ne devaient pas être enceintes. Les résultats, exprimés en différence de concentration moyenne en homocystéine ou en folate, comparent l'effet des porteurs homozygotes de l'allèle T (TT) selon les modèles récessif (TT c. CT/CC) et homozygote (TT c. CC) (tableau 6).

Tableau 6 Différence de concentration moyenne en homocystéine et en folate avant et après une supplémentation en acide folique en fonction du génotype C677T

MODÈLE GÉNÉTIQUE	PARAMÈTRES	PRÉ-SUPPLÉMENTATION		POST-SUPPLÉMENTATION	
		CONC. HCY* (9 études)	CONC. FOLATE (9 études)	CONC. HCY† (7 études)	CONC. FOLATE (8 études)
Récessif	Génotype (n/n)	TT c. CT/CC (384/1173)	CT/CC c. TT (925/298)	TT c. CT/CC (200/486)	CT/CC c. TT (774/271)
	DCM (IC95 %)	2,71 (1,54 - 3,89)	2,45 (1,23 - 3,66)	0,37 (-1,01 - 1,76)	7,15 (4,97 - 9,34)
	Valeur p	< 0,00001	< 0,0001	NS	< 0,00001
	I ²	84 %	63 %	89 %	69 %
Homozygote	Génotype (n/n)	TT c. CC (391/450)	CC c. TT (371/315)	TT c. CC (171/155)	CC c. TT (301/288)
	DCM (IC95 %)	2,84 (1,53 - 4,15)	3,55 (2,07 - 5,04)	0,67 (-1,08 - 2,42)	8,65 (6,28 - 11,02)
	Valeur p	< 0,0001	< 0,00001	NS	< 0,00001
	I ²	85 %	66 %	92 %	71 %

Source : [Colson *et al.*, 2017]

Abréviations : conc. : concentration; DCM : différence de concentration moyenne; HCY : homocystéine; I² : hétérogénéité; n : nombre de participants; NS : non significatif

* Pour 2 études, la concentration moyenne en homocystéine du groupe TT était indicative d'une hyperhomocystéinémie (> 15 µmol/l) comparativement à aucune étude dans le groupe CT/CC.

† Aucune étude pour le groupe TT et le groupe CT/CC n'a rapporté une concentration moyenne en homocystéine supérieure à 15 µmol/l.

Avant la supplémentation d'acide folique, les individus de génotype TT avaient une concentration moyenne en homocystéine significativement plus élevée de 2,71 µmol/l et de 2,84 µmol/l comparativement au génotype CT/CC ou CC, selon les modèles récessif et homozygote respectivement. Par ailleurs, les individus de génotype TT avaient une concentration moyenne en folate significativement plus faible de 2,45 nmol/l et de 3,45 nmol/l comparativement au génotype CT ou CC, selon les modèles récessif et homozygote respectivement. Les plus faibles concentrations moyennes en folate étaient de 7,3 nmol/l et 9,1 nmol/l dans le groupe TT pour 2 études.

Après la supplémentation d'acide folique, aucune différence significative de concentration moyenne en homocystéine n'a été observée entre le génotype TT comparativement au génotype CT ou CC, selon les modèles récessif et homozygote. Par ailleurs, pour tous les groupes dans toutes les études, la concentration moyenne en folate a augmenté, la concentration moyenne la plus faible étant de 14 nmol/l (groupe TT) et 19 nmol/l (groupe CC ou CT/CC) pour la même étude. Par contre, le groupe TT avait une concentration moyenne en folate significativement plus faible de 7,15 nmol/l et 8,65 nmol/l comparativement au génotype CT/CC ou CC, selon les modèles récessif et homozygote respectivement.

En résumé, avant la supplémentation, les groupes TT avaient une concentration en homocystéine significativement supérieure et une concentration en folate significativement inférieure comparativement au génotype CT et CC. Après une supplémentation à court terme (4 à 24 semaines) de 400 µg à 1 670 µg EFA⁵ d'acide folique par jour, toutes les études ont montré une réduction de l'homocystéine et une augmentation du folate. Toutefois, les individus de génotype TT avaient une plus faible réponse en folate (7,15 nmol/l, CT/CC c. TT; 8,65 nmol/l, CC c. TT) (tableau 6). Selon les auteurs, les individus de génotype CC pourraient requérir une plus faible dose d'acide folique que les individus de génotype TT pour atteindre une concentration en folate acceptable.

5.4 Impact d'une intervention prophylactique sur l'incidence des complications de la grossesse

5.4.1 Traitement anticoagulant

L'utilisation d'un traitement anticoagulant pour la prévention des complications de la grossesse a fait l'objet de nombreuses études de cohortes [Karadag *et al.*, 2017; Maged *et al.*, 2016; Mutlu *et al.*, 2015; Pogliani *et al.*, 2015; Yuksel *et al.*, 2014; Chakraborty *et al.*, 2013; Kosar *et al.*, 2011; Mitic *et al.*, 2011; Pogliani *et al.*, 2010; Monien *et al.*, 2009]. Ces études ont rapporté des résultats variés en raison, entre autres, du type de traitement et du schéma thérapeutique utilisé. Cinq méta-analyses portant sur l'effet d'un traitement anticoagulant sur les avortements spontanés [Areia *et al.*, 2016; Tong et Wei, 2016; de Jong *et al.*, 2014], sur la prééclampsie [Roberge *et al.*, 2016] et sur la thromboembolie veineuse en grossesse [Bain *et al.*, 2014] ont été retenues. Pour certaines de ces méta-analyses, les études incluses ont été réalisées chez des femmes atteintes de thrombophilie héréditaire.

Avortements spontanés répétés et prééclampsie

La méta-analyse de DeJong et ses collaborateurs [2014] incluait 9 études contrôlées randomisées et quasi-randomisées regroupant 1 228 femmes avec ou sans thrombophilie héréditaire. Leur objectif était d'évaluer l'effet d'un traitement anticoagulant sur la possibilité de naissances vivantes chez les femmes qui avaient subi

⁵ EFA : équivalent de folate alimentaire. 1 µg EFA = 1 µg folate alimentaire ou 0,6 µg d'acide folique (IMSC [1998]).

deux avortements spontanés inexpliqués ou plus avant 24 semaines de gestation. Les traitements incluant l'aspirine, l'héparine non fractionnée, l'héparine de faible poids moléculaire (HFPM) ou une combinaison, ont été évalués comparativement à l'absence de traitement ou à un placebo. Les données ont été combinées selon le type d'intervention, sans égard à la dose d'HFPM ou d'aspirine. La mesure d'efficacité primaire était les naissances vivantes. Les mesures d'efficacité secondaires étaient la prématurité, l'hypertension gestationnelle, la prééclampsie, le retard de croissance intra-utérin et les malformations congénitales.

Le traitement anticoagulant seul ou en combinaison n'avait aucun effet significatif sur la possibilité de naissance vivante pour l'ensemble des femmes. Ainsi, les analyses de sous-groupe suivantes ont été effectuées : naissances vivantes chez les femmes sans naissance vivante antérieure, les femmes atteintes de thrombophilie héréditaire et les femmes ayant subi plus de deux avortements spontanés. En analyse de sous-groupe, le traitement anticoagulant seul ou en combinaison n'avait aucun effet significatif sauf pour l'évaluation de l'effet de l'HFPM comparativement à l'aspirine pour le sous-groupe de femmes qui n'avaient pas eu de naissance vivante antérieurement (2 études): rapport de risque 1,24 (1,02 – 1,49), $p = 0,027$, $I^2 = 0\%$, en faveur de l'HFPM. Concernant les mesures d'efficacité secondaires, aucun effet significatif n'a été obtenu. Les auteurs ont conclu que l'ensemble des résultats ne permettent pas de supporter l'utilisation des anticoagulants HFPM et aspirine ou d'une combinaison chez les femmes avec ou sans thrombophilie héréditaire et qui ont des avortements spontanés répétés inexpliqués.

Suite à la publication de la méta-analyse de DeJong et ses collaborateurs en 2014, trois méta-analyses qui avaient pour objectif d'évaluer l'effet de traitements anticoagulants prophylactiques sur les complications de la grossesse ont été publiées : deux portaient sur les avortements spontanés répétés (ASR) [Areia *et al.*, 2016; Tong et Wei, 2016] et une sur les ASR et la prééclampsie [Roberge *et al.*, 2016].

La méta-analyse d'Areia et ses collaborateurs [2016] incluait 4 études contrôlées randomisées ($n = 222$, avec thrombophilie héréditaire) dont 2 étaient incluses dans la méta-analyse de DeJong, et celle de Tong et ses collaborateurs [2016] incluait 6 études contrôlées randomisées ($n = 907$) dont 3 étaient incluses dans la méta-analyse de DeJong. Pour ces deux méta-analyses, la mesure d'efficacité primaire était les naissances vivantes et les mesures d'efficacité secondaires étaient le taux d'avortements spontanés au premier trimestre [Areia *et al.*, 2016], la prématurité, la prééclampsie et le retard de croissance intra-utérin [Areia *et al.*, 2016; Tong et Wei, 2016]. Les résultats ont montré que le traitement combiné aspirine-héparine n'avait pas d'effet significatif sur les ASR en termes de naissances vivantes et sur les autres complications de la grossesse évaluées comparativement à l'aspirine seule [Areia *et al.*, 2016; Tong et Wei, 2016], à un placebo ou à la progestérone [Tong et Wei, 2016], que ce soit en analyse groupée ou en analyse de sous-groupe. Les auteurs de ces deux méta-analyses ont conclu qu'il n'y a pas d'effet bénéfique d'un traitement combiné aspirine-héparine pour améliorer le taux de naissances vivantes chez les femmes ayant été affectées par des avortements spontanés répétés.

La méta-analyse de Roberge et ses collaborateurs [2016] incluait 8 études contrôlées randomisées (n = 885) dont 1 était incluse dans la méta-analyse de DeJong. Cette méta-analyse avait pour objectif d'évaluer si un traitement combiné d'HFPM et d'aspirine à faible dose débuté à 16 semaines de gestation ou moins était supérieur à l'administration d'une faible dose d'aspirine pour prévenir la prééclampsie et la naissance de bébés de faible poids selon l'âge gestationnel (FPAG) chez les femmes à risque. Des antécédents d'avortements spontanés répétés étaient rapportés pour 5 des études incluses totalisant 379 femmes (3 études incluaient des femmes atteintes de thrombophilie héréditaire) et des antécédents de prééclampsie sévère ou précoce étaient rapportés dans les 3 autres études totalisant 506 femmes (1 étude incluait des femmes atteintes de thrombophilie héréditaire). Les mesures d'efficacité étaient la prééclampsie⁶, la prééclampsie précoce⁷ et la naissance d'un bébé de FPAG⁸. L'aspirine était administrée à une dose quotidienne variant de 75 à 100 mg selon les études incluses. L'HFPM avait été administrée dans 7 études (doses variées) et l'héparine non-fractionnée dans une étude (5 000 UI). Le tableau 7 présente l'effet d'un traitement combiné sur le risque de prééclampsie et de donner naissance à un bébé FPAG en fonction des antécédents cliniques.

Tableau 7 Effet d'un traitement combiné HFPM - aspirine comparativement à l'aspirine seule sur le risque de prééclampsie et de naissance de bébés de FPAG selon les antécédents cliniques

ANTÉCÉDENTS	Risque de prééclampsie				Risque de FPAG			
	RR (IC95 %)	Valeur p	I ²	NB études (N)	RR (IC95 %)	Valeur p	I ²	NB études (N)
Avortements spontanés répétés	0,57 (0,08 - 4,35)	NS	0 %	2 (211)	0,73 (0,18 - 2,99)	NS	55 %	3 (337)
Prééclampsie	0,54 (0,31 - 0,92)	0,03	0 %	3 (379)	0,54 (0,32 - 0,91)	0,02	0 %	2 (363)

Source : [Roberge *et al.*, 2016]

Abréviations : I² : mesure d'hétérogénéité; FPAG : faible poids selon l'âge gestationnel; N : nombre de participantes; NB : nombre; NS : non significatif; RR rapport de risque

Pour le sous-groupe de femmes ayant des antécédents de prééclampsie, l'ajout de l'HFPM à l'aspirine à faible dose réduit significativement le risque de prééclampsie et de

⁶ Prééclampsie : tension sanguine systolique ≥ 140 mmHg ou tension sanguine diastolique ≥ 90 mmHg à plus de 20 semaines de gestation (chez une femme antérieurement normotensive) accompagnée de protéinurie définie comme étant $\geq 0,3$ g de protéines excrétées en 24 heures ou 2+ en protéines sur bandelette [ACOG, 2002; NIH, 2000].

⁷ Prééclampsie précoce : prééclampsie à 34 semaines ou moins de gestation [Roberge *et al.*, 2016].

⁸ Poids néonatal sous le 10^e, le 5^e ou le 3^e percentile (la première occurrence dans cet ordre) selon l'âge gestationnel à l'accouchement, ou un équivalent [Roberge *et al.*, 2016].

donner naissance à un bébé de FPAG. Ces risques ne sont toutefois pas significativement réduits pour le sous-groupe de femmes avec antécédents d'avortements spontanés répétés. Les auteurs ont conclu que le traitement combiné HFPM-aspirine débuté en début de grossesse chez les femmes ayant été affectées par la prééclampsie lors d'une grossesse antérieure est supérieur à l'aspirine seule pour prévenir la prééclampsie précoce et la naissance d'un bébé de FPAG.

Thromboembolie veineuse en grossesse

L'effet d'une thromboprophylaxie anticoagulante sur l'incidence de la thromboembolie veineuse (TEV) en grossesse ou suite à une naissance récente (moins de 6 semaines) chez les femmes à risque de TEV a été évalué dans la méta-analyse de Bain et ses collaborateurs [2014]. Les femmes à risque étaient définies comme étant celles qui avaient donné naissance par césarienne (particulièrement en situation d'urgence), qui avaient des antécédents personnels ou familiaux de thromboembolie veineuse, qui étaient atteintes de thrombophilie acquise ou héréditaire ou qui présentaient d'autres facteurs de risque liés à la grossesse (gestation multiple, prééclampsie, travail prolongé lors de l'accouchement). Cette méta-analyse incluait 16 études contrôlées randomisées regroupant 2 592 femmes traitées en prophylaxie anténatale (6 études), postcésarienne (9 études) ou postnatale (1 étude). L'HFPM et l'héparine non fractionnée étaient soit comparées entre elles ou comparées à l'absence de traitement ou à un placebo. Les mesures d'efficacité primaires étaient : la mortalité maternelle, les événements thromboemboliques symptomatiques, l'embolie pulmonaire symptomatique et la thrombose veineuse profonde symptomatique. Les mesures d'efficacité secondaires incluaient entre autres les événements thromboemboliques asymptomatiques, l'avortement spontané et les anomalies fœtales.

Que ce soit pour la prophylaxie anténatale, postcésarienne ou postnatale, aucune différence significative n'a été démontrée entre les différents traitements anticoagulants administrés en prophylaxie en regard des mesures d'efficacité primaires et secondaires. Les auteurs ont conclu qu'il n'y avait pas suffisamment de preuves pour supporter des recommandations concernant la thromboprophylaxie durant la grossesse ou pour le début de la période postnatale. Les différences détectées dans cette méta-analyse provenaient en grande partie d'études qui n'étaient pas de qualité méthodologique élevée.

5.4.2 Supplémentation en acide folique

Une méta-analyse évaluant l'effet d'une supplémentation en acide folique sur l'incidence des anomalies du tube neural a été retenue [DeRegil *et al.*, 2015]. Une étude de cohorte prospective portant sur l'effet d'une supplémentation en acide folique, vitamine B6 et B12 sur la concentration en homocystéine et les avortements spontanés répétés chez les femmes qui présentent des mutations du gène *MTHFR* a également été retenue [Serapinas *et al.*, 2017].

Anomalies du tube neural

La méta-analyse de De-Regil et ses collaborateurs [2015] incluait 5 études contrôlées randomisées (datant de l'année 2000 ou avant) totalisant 7 391 femmes avec antécédents de grossesse affectée par une anomalie du tube neural (ATN) (n = 2 033) ou sans antécédents d'ATN (n = 5 358). Cette étude avait pour objectif d'évaluer si une supplémentation périconceptionnelle en acide folique permettait de réduire le risque d'ATN ou d'autres anomalies congénitales. Les interventions consistaient à consommer quotidiennement des suppléments oraux de folate, seul ou avec d'autres vitamines et minéraux comparativement à un placebo, aucune supplémentation ou d'autres vitamines et minéraux excluant les folates. La supplémentation quotidienne, à une dose variant entre 0,36 mg et 4 mg, débutait avant la grossesse et continuait durant le premier trimestre.

Les mesures d'efficacité primaires étaient, entre autres, l'ATN, les malformations congénitales et le décès néonatal, et les avortements spontanés. Les mesures d'efficacité secondaires étaient, entre autres, la mort fœtale, le faible poids à la naissance, la prématurité et diverses anomalies encéphaliques, et la prééclampsie. Les comparaisons suivantes ont été effectuées :

Comparaison #1 : Supplémentation avec folate⁹ (acide folique, 5-MTHF¹⁰, acide folinique¹¹) contre aucune supplémentation, placebo ou autres micronutriments¹² sans folate (5 études);

Comparaison #2 : Supplémentation avec acide folique seul contre aucune supplémentation ou placebo (1 étude);

Comparaison #3 : Supplémentation avec acide folique plus autres micronutriments contre autres micronutriments sans acide folique (4 études);

Comparaison #4 : Supplémentation avec folate (acide folique, 5-MTHF, acide folinique) plus autres micronutriments contre les mêmes autres micronutriments sans folate (2 études).

Le tableau 8 présente le rapport de risque d'ATN chez les femmes avec ou sans

⁹ Le folate, ou vitamine B9, est présent naturellement dans les aliments sous forme de dérivés tétrahydrofolate (THF) qui sont plus facilement assimilés par l'organisme. Information tirée du site internet Natural Healthy Concepts, accessible à l'adresse :

blog.naturalhealthyconcepts.com/2015/05/13/the-difference-between-folate-folinic-acid-and-folic-acid/ (consulté le 31 octobre 2017).

¹⁰ Le 5-MTHF (5-méthyl-tétrahydrofolate) a été proposé comme alternative à la supplémentation en acide folique puisque la plupart du folate provenant de l'alimentation et l'acide folique sont métabolisés en 5-MTHF lors du passage à travers la muqueuse intestinale [DeRegil *et al.*, 2015].

¹¹ L'acide folinique est le métabolite actif de l'acide folique. L'acide folique est un composé synthétique oxydé utilisé pour la supplémentation et qui est connu pour être plus stable et biodisponible que les folates naturels. Information tirée du site internet Natural Healthy Concepts, accessible à l'adresse : blog.naturalhealthyconcepts.com/2015/05/13/the-difference-between-folate-folinic-acid-and-folic-acid/ (consulté le 31 octobre 2017).

¹² Les micronutriments sont définis comme étant les vitamines et les minéraux [DeRegil *et al.*, 2015].

antécédents de grossesse affectée par une ATN et recevant une supplémentation en acide folique ou en folate.

Tableau 8 Effet d'une supplémentation en acide folique sur le risque d'anomalie du tube neural

COMPARAISON	GROUPES	N ÉTUDES / NAISSANCES	RR (IC95 %)	VALEUR p	I ²
#1	ATN (toutes les femmes)	5 / 6 708	0,31 (0,17 – 0,58)	0,000 25	0 %
	Femmes avec antécédents ATN	4 / 1 846	0,34 (0,18 – 0,64)	0,000 78	0 %
	Femmes sans antécédents ATN	1 / 4 862	0,07 (0,00 – 1,32)	NS	NA
#2	ATN (toutes les femmes)	1 / 111	0,43 (0,08 – 2,23)	NS	NA
#3	ATN (toutes les femmes)	4 / 6 512	0,31 (0,16 – 0,60)	0,000 55	0 %
	Femmes avec antécédents ATN	3 / 1 650	0,33 (0,17 – 0,66)	0,001 8	0 %
	Femmes sans antécédents ATN	1 / 4 862	0,07 (0,00 – 1,32)	NS	NA
#4	Femmes avec antécédents ATN	2 / 1 371	0,29 (0,12 – 0,70)	0,005 5	0 %

Source : [DeRegil *et al.*, 2015]

Abréviations : ATN : anomalie du tube neural; I² : mesure d'hétérogénéité; N : nombre de participantes; NA : non applicable; NS : non significatif; RR : rapport de risque

Pour la comparaison #1, les résultats montrent un effet protecteur de la supplémentation quotidienne en folate seul ou en combinaison avec d'autres vitamines et minéraux. Le risque d'ATN est réduit chez les femmes ayant consommé des suppléments de folate comparativement à celles qui n'avaient consommé aucune supplémentation, un placebo ou d'autres micronutriments (RR 0,31; 0,17 – 0,58). Chez les femmes avec antécédents de grossesse affectée par l'ATN, la supplémentation avait un effet protecteur pour la récurrence d'ATN (RR 0,34; 0,18 – 0,64). Ces résultats ont également été obtenus pour les autres comparaisons évaluées, sauf pour la comparaison #2. Aucun effet préventif n'a été observé pour les paramètres secondaires évalués, tant chez la mère que chez le fœtus.

Les auteurs ont conclu que la supplémentation en acide folique, seule ou en combinaison avec des vitamines et minéraux, prévient l'incidence et la récurrence des ATN, mais n'a pas d'effet significatif sur les autres anomalies de naissance.

Avortements spontanés répétés

L'étude de cohorte prospective de Serapinas et ses collaborateurs [2017] visait à évaluer l'effet d'une supplémentation en acide folique, vitamine B6 et B12 sur la concentration en homocystéine et les avortements spontanés. Un groupe de 16 femmes qui avaient deux mutations du gène *MTHFR* et qui avaient subi 3 avortements spontanés ou plus, ont reçu de l'acide folique sous forme de méthylfolate (5 mg/jour), de la vitamine B6 (50 mg/jour) et de la vitamine B12 (1 mg/semaine). L'effet de la supplémentation et la concentration en homocystéine sérique ont été évalués après 6 mois. Le tableau 9 présente les résultats de l'effet de la supplémentation sur la concentration en homocystéine et le nombre d'accouchements selon les mutations détectées dans le gène *MTHFR*.

Tableau 9 Effet de la supplémentation en acide folique, vitamine B6 et B12 sur l'incidence des avortements spontanés

MUTATIONS MTHFR	NOMBRE DE FEMMES	CONC. HOMOCYSTÉINE μMOL/L			ACCOUCHEMENTS N (%)	AVORTEMENTS SPONTANÉS N (%)
		AVANT SUPPLÉM.	APRÈS SUPPLÉM.	VALEUR p		
HMZ C677T	7	23,5 ± 6,3	8,3 ± 2,4	0,001	2/7 (28,6)	1/7 (14,3)
HTZ-C C677T/A1298C	5	18,5 ± 4,5	6,5 ± 1,7	0,005	2/5 (40,0)	1/5 (20,0)
HMZ A1298C	4	13,5 ± 3,4	5,3 ± 1,6	0,032	3/4 (75,0)	0
Total	16	19,4 ± 5,3	6,9 ± 2,2	0,004	7/16 (43,8)	2/16 (12,5)

Source : [Serapinas *et al.*, 2017]

Abréviations : conc. : concentration; HMZ : homozygote; HTZ-C : hétérozygote composé; N : nombre

Après 6 mois de supplémentation, pour l'ensemble de la cohorte, la concentration sérique en homocystéine est passée de 19,4 μmol/l à 6,9 μmol/l ($p = 0,004$), atteignant ainsi la normale ($< 15 \mu\text{mol/l}$). Chez les homozygotes C677T, la concentration sérique en homocystéine avant la supplémentation était plus élevée comparativement aux deux autres génotypes et a également été significativement réduite suite à la supplémentation.

Près de la moitié des femmes de la cohorte ont donné naissance et 2 ont subi un avortement spontané. Chez les homozygotes C677T, 28,6 % des femmes ont donné naissance comparativement à 40 % et 75 % chez les hétérozygotes composés et les homozygotes A1298C respectivement. La proportion d'avortements spontanés des homozygotes C677T était inférieure comparativement aux hétérozygotes.

Les auteurs ont conclu que le traitement de l'hyperhomocystéinémie pourrait être une

façon de prévenir les avortements spontanés répétés chez les femmes présentant des mutations dans le gène *MTHFR*.

5.5 Conclusion globale de l'évaluation de la pertinence clinique de la détection du variant C677T du gène *MTHFR*

Variant C677T et risque de complications de la grossesse

Une association significative entre le variant C677T et le risque de diverses complications de la grossesse ou d'anomalies du fœtus et de l'enfant a été démontrée par plusieurs méta-analyses selon 5 modèles génétiques. D'une part, des associations significatives en faveur d'un risque accru pour les femmes enceintes et leurs enfants ou fœtus ont fréquemment été démontrées pour la population asiatique. D'autre part, pour certaines complications ou anomalies, l'association avec la présence du variant C677T n'a pas été démontrée avec tous les modèles génétiques. Par ailleurs, selon les auteurs des méta-analyses, plusieurs facteurs autres que génétiques pourraient influencer l'association entre le variant C677T et les complications ou anomalies liées à la grossesse. Le tableau 10 résume les résultats des méta-analyses en fonction des modèles génétiques utilisés.

Tableau 10 Associations entre le variant C677T et le risque de complications ou anomalies liées à la grossesse.

COMPLICATION / ANOMALIE	ASSOCIATION VARIANT - COMPLICATION	
	MODÈLE HOMOZYGOTE	AUTRES MODÈLES GÉNÉTIQUES
Prééclampsie	Risque augmenté (Blancs et Asiatiques)	Risque augmenté - Blancs : 3 modèles - Asiatiques : 4 modèles
ASR	Association controversée (Blancs et Asiatiques)	Association controversée (Blancs et Asiatiques)
AP	- Aucune association (Blancs) - Risque augmenté (Asiatiques)	Risque augmenté - Asiatiques : 2 modèles
DPP	Aucune association	Aucune association (3 modèles)
TEV en grossesse	Non évaluée	Aucune association (modèle allélique)
MCC	- Aucune association (Blancs) - Risque augmenté (Asiatiques, 1 méta-analyse)	Risque augmenté - Blancs : 2 modèles - Asiatiques : 3 modèles
ATN	Risque augmenté (Blancs, Asiatiques)	Risque augmenté - Blancs et Asiatiques : 3 modèles
AVC périnatal	Risque augmenté (Blancs)	Risque augmenté - Blancs : 2 modèles

Abréviations : AP : accouchement prématuré; ASR : avortements spontanés répétés; ATN : anomalie du tube neural; AVC : accident vasculaire cérébral; DPP : décollement prématuré du placenta; MCC : malformation cardiaque congénitale; TEV : thromboembolie veineuse

Globalement, le risque de prééclampsie, d'ATN ou d'AVC serait significativement augmenté en présence du variant C677T tant chez les Blancs que chez les Asiatiques, tandis qu'aucune association significative entre ce variant et le risque de DPP ou de TEV en grossesse n'a été démontrée. Par ailleurs, les résultats montrant l'association entre le variant C677T et le risque d'ASR, d'AP ou de MCC varient selon le modèle génétique utilisé et les méta-analyses retenues.

Hyperhomocystéinémie et risque de complications de la grossesse

Une concentration élevée en homocystéine sérique a été associée à un risque accru de donner naissance avec anomalie du tube neural, particulièrement chez les Européennes et les Asiatiques. Les grossesses compliquées par la prééclampsie ou l'éclampsie ont également été associées à l'hyperhomocystéinémie.

Impact d'une supplémentation en acide folique sur le niveau d'homocystéine

La supplémentation en folate, vitamine B6 et B12 permettrait de réduire la concentration en homocystéine et l'occurrence de grossesses compliquées par l'éclampsie ou le décollement placentaire chez des femmes avec thrombophilies.

En contexte non obstétrical, l'influence du génotype C677T sur la concentration en homocystéine et en folate sérique pré- et postsupplémentation en acide folique a été démontrée. Après une supplémentation en acide folique, une réduction de l'homocystéine et une augmentation du folate ont été observées. Toutefois, les individus de génotype TT ayant une plus faible réponse à la supplémentation, une plus forte dose d'acide folique leur serait nécessaire pour atteindre une concentration en folate sérique acceptable, comparativement aux individus de génotype CC.

Impact d'une intervention prophylactique sur l'incidence des complications de la grossesse

L'efficacité d'un traitement anticoagulant sur l'incidence des avortements spontanés répétés et de la thromboembolie veineuse (TEV) en grossesse ou suite à une naissance récente n'a pas été démontrée. Par contre, le traitement combiné HFPM-aspirine débuté en début de grossesse serait supérieur à l'aspirine seule pour prévenir la prééclampsie précoce.

La supplémentation en acide folique, seule ou en combinaison avec des vitamines et minéraux, préviendrait l'incidence et la récurrence des ATN, sans égard au statut MTHFR. Par ailleurs, le traitement de l'hyperhomocystéinémie (via une supplémentation en acide folique, vitamine B6 et B12) pourrait être une façon de prévenir les avortements spontanés répétés chez les femmes présentant une variation homozygote dans le gène *MTHFR*.

5.6 Validité analytique

La validité analytique n'a pas été examinée puisque la présente évaluation concernait la pertinence de l'analyse du variant C677T du gène *MTHFR*.

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

Selon l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG),

- en raison du manque d'association entre l'état homozygote ou hétérozygote du variant C677T du gène *MTHFR* et les diverses complications de la grossesse, incluant le risque de thromboembolie veineuse, la recherche de variants du gène *MTHFR* ou la détermination de l'homocystéinémie à jeun ne sont pas recommandées;
- le dépistage de la thrombophilie héréditaire chez les femmes qui ont eu des avortements spontanés répétés ou un décollement prématuré du placenta n'est pas recommandé puisqu'il n'est pas certain si le traitement anticoagulant réduit la récurrence;
- il n'y a pas de preuves suffisantes pour le dépistage et le traitement des femmes souffrant de thrombophilie héréditaire ou ayant des antécédents obstétricaux de complications de grossesses incluant la prééclampsie ou le retard de croissance intra-utérine (évidences scientifiques insuffisantes ou inconsistantes, niveau B) [ACOG, 2013].

Selon l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), puisque le polymorphisme du gène *MTHFR* est uniquement un des facteurs contribuant au portrait clinique global, l'utilité de cette analyse est actuellement incertaine. Les recommandations de l'ACMG sont:

- de ne pas prescrire le test génétique du variant C677T du gène *MTHFR* comme partie de l'évaluation clinique de la thrombophilie ou des avortements spontanés répétés;
- de ne pas prescrire le test génétique du variant C677T du gène *MTHFR* pour les apparentés à risque;
- si le patient présente l'état d'homozygote du variant thermolabile C677T, le généticien doit prescrire un dosage de l'homocystéine plasmatique à jeun, pour donner des conseils plus appropriés [Hickey *et al.*, 2013].

Un groupe de travail formé sous l'égide de la Société française de néonatalogie et du Centre national de référence de l'AVC de l'enfant souligne que le test génétique du variant thermolabile C677T du gène *MTHFR* ne devrait pas être considéré chez les nouveau-nés souffrants d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) ischémiques. Par contre, le test est à considérer s'il y a des antécédents thrombotiques veineux familiaux [Saliba *et al.*, 2017].

7. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection du variant C677T du gène méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*)

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Retrait de l'analyse dans le *Répertoire*

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ Bien que les indications de ce test soient rares, quelques-unes d'entre elles sont reconnues pour certains groupes de patients. Ainsi, pour ne pas pénaliser les patients qui auraient besoin de ce test, le comité recommande au MSSS de maintenir l'accès au séquençage du gène *MTHFR* ou au dépistage de variants pathogènes familiaux via les analyses hors Québec chez les patients chez qui l'on soupçonne une altération sévère de l'activité de l'enzyme MTHFR associée à une hyperhomocystéinémie.

ANNEXE A - PRÉ-ÉCLAMPSIE

Tableau A-1 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de pré-éclampsie selon le modèle allélique (T c. C)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET PRÉ-ÉCLAMPSIE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
[Zhang <i>et al.</i> , 2016]	Tous les cas PE c. témoins (49)	13 356/23 082	1,17 (1,05 - 1,31)	0,002	67,3	< 0,000 1
	Blancs (39)	10 598/19 876	1,16 (1,02 - 1,32)	ND	77,9	< 0,000 1
	Asiatiques (9)	2 216/2 530	1,21 (0,95 - 1,54)	ND	58,8	0,012 8
	Africains (1)	542/676	1,20 (0,77 - 1,88)	ND	ND	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas PE c. témoins (54)	7 398/11 230	1,16 (1,06 - 1,27)	0,002	ND	< 0,001
	Blancs (35)	4 971/7 827	1,07 (0,99 - 1,15)	0,075	ND	0,752
	Asiatiques (14)	ND	1,48 (1,18 - 1,86)	0,001	ND	< 0,001
	Latinos (7)	ND	1,03 (0,80 - 1,32)	0,844	ND	0,038
[Yang <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (65)	ND/ND	1,19 (1,10 - 1,29)	< 0,001	48,7	< 0,001

[Li <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas de PE c. témoins (47)	Total 16 820	1,14 (1,05 - 1,23)	ND	41,8	0,003
	Blancs (29)	Total 10 148	1,15 (1,06 - 1,26)	ND	26,4	0,08
	Asiatiques (6)	Total 1 649	1,44 (1,21 - 1,71)	ND	20,1	0,28
	Africains (3)	Total 1 178	1,20 (0,88 - 1,63)	ND	0,0	0,53
[Xia <i>et al.</i> , 2012]	Tous les cas de PE c. témoins (35)	ND/ND	1,11 (0,99 - 1,25)	0,08	59,8	< 0,000 1
	Blancs (17)	ND/ND	1,02 (0,89 - 1,18)	0,73	48,6	0,01
	Asiatiques (9)	ND/ND	1,42 (1,04 - 1,95)	0,03	74,2	0,000 1

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau A-2 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de prééclampsie selon le modèle récessif (TT c. CT+ CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET PRÉÉCLAMPSIE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
[Wu <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas PE c. témoins (54)	7 398/11 230	1,37 (1,15 - 1,63)	< 0,001		< 0,001
	Blancs (35)	4 971/7 827	1,28 (1,05 - 1,57)	0,015	ND	0,002
	Asiatiques (14)	ND	2,08 (1,37 - 3,16)	0,001		0,001
	Latinos (7)	ND	1,033 (0,76 - 1,41)	0,837		0,093
[Li <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (51)	Total 18 009	1,21 (1,02 - 1,43)	ND	45,6	0,001
	Blancs (32)	Total 10 786	1,18 (0,96 - 1,46)	ND	36,8	0,02
	Asiatiques (6)	Total 1 649	1,99 (1,12 - 3,54)	ND	56,8	0,04
	Africains (3)	Total 1 178	1,48 (0,28 - 7,71)	ND	0,0	0,62
[Wang <i>et al.</i> , 2013b]	Tous les cas PE c. témoins (51)	6 403/11 346	1,26 (1,07 - 1,50)	0,007	48,0	0,00
	Blancs (32)	4 258/7 761	1,20 (0,96 - 1,50)	0,12	50,9	0,00
	Asiatiques de l'est (9)	817/1 498	1,74 (1,20 - 2,53)	0,003	49,9	0,05
	Asiatiques du sud (3)	416/398	1,04 (0,44 - 2,48)	0,92	0,00	0,81
	Latinos (6)	536/1 241	1,06 (0,71 - 1,59)	0,77	52,9	0,06
	Africains (2)	376/448	1,12 (0,16 - 7,66)	0,91	0,0	0,43

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET PRÉÉCLAMPSIE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
[Wu <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas PE c. témoins (54)	7 398/11 230	1,37 (1,15 - 1,63)	< 0,001		< 0,001
	Blancs (35)	4 971/7 827	1,28 (1,05 - 1,57)	0,015	ND	0,002
	Asiatiques (14)	ND	2,08 (1,37 - 3,16)	0,001		0,001
	Latinos (7)	ND	1,033 (0,76 - 1,41)	0,837		0,093
[Xia <i>et al.</i> , 2012]	Tous les cas PE c. témoins (35)	ND/ND	1,19 (0,99 - 1,44)	0,07	38,9	0,01
	Blancs (17)	ND	1,07 (0,84 - 1,37)	0,58	32,9	0,09
	Asiatiques (9)	ND	1,76 (1,33 - 2,33)	< 0,000 1	18,8	0,28
[Yang <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (74)	ND/ND	1,34 (1,16 - 1,53)	< 0,001	43,5	< 0,001

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau A-3 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de prééclampsie selon le modèle dominant (TT+CT c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET PRÉÉCLAMPSIE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
[Wu <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas PE c. témoins (54)	7 398/11 230	1,17 (1,05 - 1,29)	0,004		< 0,001
	Blancs (35)	4 971/7 827	1,10 (0,99 - 1,21)	0,06	ND	< 0,001
	Asiatiques (14)	ND	1,47 (1,09 - 1,97)	0,01		< 0,001
	Latinos (7)	ND	1,081 (0,88 - 1,33)	0,47		0,41
[Wang <i>et al.</i> , 2013b]	Tous les cas PE c. témoins (51)	4 945/9 444	1,17 (1,06 - 1,30)	0,003	32,8	0,02
	Blancs (32)	2 800/5 859	1,14 (1,02 - 1,26)	0,018	0,0	0,82
	Asiatiques de l'est (9)	817/1 498	1,78 (1,27 - 2,50)	0,001	60,8	0,01
	Asiatiques du sud (3)	416/398	0,85 (0,39 - 1,83)	0,67	75,4	0,02
	Latinos (6)	536/1 241	1,01 (0,81 - 1,27)	0,93	2,20	0,40
	Africains (2)	376/448	1,35 (0,90 - 2,02)	0,14	0,0	0,55
[Xia <i>et al.</i> , 2012]	Tous les cas PE c. témoins (36)	4 253/4 950	1,14 (1,01 - 1,29)	0,04	38,3	0,01
	Blancs (18)	ND	1,08 (0,96 - 1,22)	0,21	0	0,78
	Asiatiques (9)	ND	1,52 (0,94 - 2,46)	0,09	77,0	< 0,000 1

[Yang <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (66)	ND/ND	1,19 (1,08 - 1,32)	< 0,001	41,0	< 0,001
	Blancs (33)	ND	1,15 (1,05 - 1,26)	ND	0,0	0,65
	Asiatiques (17)	ND	1,64 (1,28 - 2,10)	ND	57,6	0,002
	Latino (9)	ND	1,06 (0,82 - 1,37)	ND	41,0	0,09
	Indiens (4)	ND	0,78 (0,48 - 1,29)	ND	64,2	0,04
	Africains (3)	ND	1,22 (0,89 - 1,67)	ND	0,0	0,51
[Li <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (47)	Total 16 820	1,13 (1,04 - 1,22)	ND	13,1	0,21
	Blancs (29)	Total 10 148	1,15 (1,04 - 1,28)	ND	13,1	0,27
	Asiatiques (6)	Total 1 649	1,41 (1,11 - 1,79)	ND	0,00	0,96
	Africains (3)	Total 1 178	1,20 (0,87 - 1,66)	ND	0,0	0,52

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau A-4 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de prééclampsie selon le modèle hétérozygote (CT c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET PRÉÉCLAMPSIE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ² (%)	Q-test (valeur p)
[Yang <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (65)	ND/ND	1,14 (1,03 - 1,26)	0,009	34,3	0,004
[Li <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas PE c. témoins (46)	Total 16 583	1,22 (0,99 - 1,49)	ND	54,1	0,001
	Blancs (28)	Total 9 911	1,21 (0,92 - 1,58)	ND	57,9	0,001
	Asiatiques (6)	Total 1 649	1,83 (0,97 - 3,43)	ND	58,9	0,03
	Africains (3)	Total 1 178	1,23 (0,23 - 6,58)	ND	0,0	0,60
[Wang <i>et al.</i> , 2013b]	Tous les cas PE c. témoins (51)	2 483/4 840	1,14 (0,99 - 1,29)	0,06	5,8	0,36
	Blancs (32)	1 456/2 958	1,04 (0,86 - 1,25)	0,68	0,0	0,71
	Asiatiques de l'est (9)	515/860	1,45 (1,00 - 2,11)	0,05	44,2	0,08
	Asiatiques du sud (3)	86/100	0,80 (0,36 - 1,78)	0,58	75,6	0,02
	Latinos (6)	368/869	1,04 (0,80 - 1,36)	0,77	33,9	0,18
	Africains (2)	58/53	1,36 (0,90 - 2,04)	0,14	0,0	0,67

ANNEXE B – AVORTEMENT SPONTANÉS RÉPÉTÉS

Tableau B-1 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque d'avortements spontanés répétés selon le modèle allélique (T c. C)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ASR		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Cao <i>et al.</i> , 2013]	Tous les cas ASR c. témoins (37)	3 559/5 097	1,34 (1,13 - 1,58)	0,000 8	80,6	< 0,000 1
	Blancs (17)	1 830/3 037	1,08 (0,84 - 1,40)	0,54	84,7	< 0,000 1
	Asiatiques (13)	1 114/1 278	1,54 (1,35 - 1,75)	< 0,000 1	43,6	0,05
[Shi <i>et al.</i> , 2017]	Tous les cas ASR c. témoins (84)	20 298/17 314	0,73 (0,66 - 0,80)	< 0,000 01	69,0	< 0,00001
	Blancs (52)	ND/ND	0,77 (0,67 - 0,87)	0,000 1	ND	ND
	Asiatiques (27)	ND/ND	0,65 (0,57 - 0,74)	< 0,000 01	ND	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2012]	Tous les cas ASR c. témoins (27)	2 427/3 118	1,25 (1,04 - 1,51)	0,02	ND	< 0,001
	Blancs (11)	1 015/1 485	1,04 (0,90 - 1,19)	0,61	ND	0,41
	Asiatiques (12)	994/1 144	1,37 (1,07 - 1,75)	0,01	ND	0,005

[Yang et al., 2016]	Mères (53)		1,49 (1,29 – 1,71)			
	Blanches (31)	6 078/9 441	1,40 (1,13 – 1,72)	0,000	82,3	0,000
	Asiatiques (22)		1,62 (1,39 – 1,89)			
	Pères Blancs (3)	718/403	2,73 (0,84 – 8,92)	0,096	95,2	0,000
	Fœtus (4)		1,10 (0,65 – 1,85)			
	Blancs (2)	395/404	0,99 (0,56 – 1,75)	0,73	83,5	0,000
	Asiatiques (2)		1,25 (0,37 – 4,24)			

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau B-2 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque d'avortements spontanés répétés (ASR), selon le modèle récessif (TT c. TC + CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ASR		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Cao <i>et al.</i> , 2013]	Tous les cas ASR c. témoins (37)	3 559/5 097	1,68 (1,32 - 2,13)	< 0,000 1	59,8	< 0,000 1
	Blancs (17)	1 830/3 037	1,25 (0,93 - 1,67)	0,14	51,6	0,007
	Asiatiques (13)	1 114/1 278	2,11 (1,40 - 3,19)	0,000 4	60,2	0,003
[Shi <i>et al.</i> , 2017]	Tous les cas ASR c. témoins (84)	10 280/8 883	1,60 (1,38 - 1,86)	< 0,000 01	44,0	< 0,0001
	Blancs (52)	ND/ND	1,45 (1,19 - 1,76)	0,000 2	ND	ND
	Asiatiques (27)	ND/ND	1,93 (1,51 - 2,46)	< 0,000 01	ND	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2012]	Tous les cas ASR c. témoins (27)	2 427/3 118	1,57 (1,16 - 2,13)	0,003	ND	< 0,001
	Blancs (11)	1 015/1 485	1,27 (0,91 - 1,76)	0,16	ND	0,27
	Asiatiques (12)	994/1 144	1,66 (1,01 - 2,73)	0,05	ND	0,01

[Yang <i>et al.</i> , 2016]	Mères (53)		1,80 (1,46 – 2,23)			
	Blanches (31)	6 078/9 441	1,55 (1,15 – 2,09)	0,000	65,9	0,000
	Asiatiques (22)		2,14 (1,64 – 2,79)			
	Pères blancs (3)	718/403	7,94 (0,12 – 535,44)	0,34	91,3	0,000
	Fœtus (4)		0,806 (0,25 – 2,60)			
	Blancs (2)	395/404	1,45 (0,19 – 10,93)	0,72	84,1	0,000
	Asiatiques (2)		0,43 (0,05 – 3,78)			

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau B-3 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque d'avortements spontanés répétés (ASR), selon le modèle dominant (TT + TC c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ASR		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Cao <i>et al.</i> , 2013]	Tous les cas ASR c. témoins (37)	3 559/5 097	1,35 (1,04 - 1,76)	0,02	84,7	< 0,000 1
	Blancs (17)	1 830/3 037	1,23 (0,80 - 1,89)	0,35	90,0	< 0,000 1
	Asiatiques (13)	1 114/1 278	1,35 (0,99 - 1,84)	0,06	64,03	0,000 8
[Shi <i>et al.</i> , 2017]	Tous les cas ASR c. témoins (84)	10 007/8 794	0,70 (0,61 - 0,79)	< 0,000 01	70,0	< 0,00001
	Blancs (52)	ND/ND	0,72 (0,61 - 0,86)	0,000 3	ND	ND
	Asiatiques (27)	ND/ND	0,63 (0,51 - 0,76)	< 0,000 01	ND	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2012]	Tous les cas des ASR c. témoins (27)	2 427/3 118	1,23 (0,98 - 1,56)	0,08	ND	< 0,001
	Blancs (11)	1 015/1 485	0,95 (0,79 - 1,15)	0,61	ND	0,75
	Asiatiques (12)	994/1 144	1,40 (0,98 - 2,00)	0,07	ND	0,002

[Yang <i>et al.</i> , 2016]	Mères (53)	6 078/9 441	1,55 (1,29 – 1,86)	0,000	79,4	0,000
	Blanches (31)		1,45 (1,12 – 1,89)			
	Asiatiques (22)		1,68 (1,35 – 2,10)			
	Pères blancs (3)	718/403	2,66 (1,08 – 6,57)	0,03	88,5	0,000
	Fœtus (4)	395/404	1,04 (0,57 – 1,89)			
	Blancs (2)		1,04 (0,72 – 1,50)			
	Asiatiques (2)		1,07 (0,20 – 5,72)	0,91	74,1	0,009

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau B-4 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque d'avortements spontanés répétés (ASR), selon le modèle hétérozygote (CT c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ASR		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Yang <i>et al.</i> , 2016]	Mères (53)	6 078/9 441	1,38 (1,14 – 1,65)	0,001	75,5	0,000
	Blanches (31)		1,35 (1,05 – 1,75)			
	Asiatiques (22)		1,42 (1,11 – 1,83)			
	Pères blancs (3)	718/403	1,97 (1,45 – 2,68)	0,000	37,7	0,201
	Fœtus (4)	395/404	0,99 (0,58 – 1,67)	0,96	62,5	0,046
	Blancs (2)		1,13 (0,76 – 1,68)			
	Asiatiques (2)		0,88 (0,22 – 3,48)			

ANNEXE C – ACCOUCHEMENTS PRÉMATURÉS ET DÉCOLLEMENT PRÉMATURÉ DU PLACENTA

Tableau C-1 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et accouchements prématurés (AP) et décollement prématuré du placenta (DPP), selon le modèle allélique (T c. C)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Chen <i>et al.</i> , 2016]	Tous les cas AP c. témoins (11)	2 987/18 568	1,13 (0,93 - 1,36)	0,22	81,3	ND
	Blancs (5)	1 978/16 459	1,09 (0,91 - 1,31)	0,34	67,1	ND
	Asiatiques (3)	564/638	1,44 (0,96 - 2,16)	0,08	83,2	ND
	Tous les cas DPP c. témoins (13)	1 293/18 208	1,02 (0,87 - 1,20)	0,79	25,1	ND
	Blanches (8)	954/17 329	1,02 (0,83 - 1,25)	0,85	50,7	ND
	Africains (4)	319/769	1,01 (0,72 - 1,42)	0,96	0,0	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2017]	Mères (8)	1 338/1 736	1,36 (1,02 – 1,81)	0,03	81,4	ND
	Blanches (1)	ND/ND	1,06 (0,45 – 2,53)	0,89	ND	ND
	Asiatiques (5)	ND/ND	1,48 (1,02 – 2,15)	0,04	86,6	ND
	Fœtus (3)	425/520	1,34 (0,78 – 2,27)	0,29	86,6	ND

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau C-2 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et accouchements prématurés (AP) et décollement prématuré du placenta (DPP), selon le modèle récessif (TT c. TC + CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Chen <i>et al.</i> , 2016]	Tous les cas AP c. témoins (11)	2 987/18 568	1,20 (0,90 - 1,60)	0,21	66,0	ND
	Blancs (5)	1 978/16 459	1,54 (0,74 - 3,21)	0,08	0,0	ND
	Asiatiques (3)	564/638	1,18 (0,98 - 1,42)	0,25	0,0	ND
	Tous les cas DPP c. témoins (13)	1 293/18 208	1,32 (0,86 - 2,02)	0,20	50,7	ND
	Blancs (8)	954/17 329	1,31 (0,81 - 2,15)	0,27	63,9	ND
	Africains (4)	319/769	0,76 (0,12 - 5,04)	0,78	0,0	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2017]	Mères (8)	1 338/1 736	1,49 (1,00 – 2,22)	0,05	68,3	ND
	Blanches (1)	ND/ND	1,05 (0,09 – 12,28)	0,97	ND	ND
	Asiatiques (5)	ND/ND	1,58 (0,94 – 2,66)	0,08	78,5	ND
	Fœtus (3)	425/520	1,51 (0,77 – 2,98)	0,23	79,2	ND

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau C-3 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et accouchements prématurés (AP) et décollement prématuré du placenta (DPP), selon le modèle dominant (TT + TC c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Chen <i>et al.</i> , 2016]	Tous les cas AP c. témoins (11)	2 987/18 568	1,16 (0,94 - 1,42)	0,17	72,6	0,000 1
	Blancs (5)	1 978/16 459	1,06 (0,85 - 1,33)	0,60	64,4	0,038
	Asiatiques (3)	564/638	1,63 (1,26 - 2,11)	< 0,001	0,0	0,44
	Tous les cas DPP c. témoins (13)	1 293/18 208	1,03 (0,88 - 1,22)	0,70	0,0	ND
	Blancs (8)	954/17 329	1,03 (0,87 - 1,22)	0,72	0,1	ND
	Africains (4)	319/769	1,02 (0,69 - 1,51)	0,91	7,7	ND
[Wu <i>et al.</i> , 2017]	Mères (8)	1 338/1 736	1,42 (1,00 – 2,02)	0,05	74,3	ND
	Blanches (1)	ND/ND	1,08 (0,38 – 3,10)	0,88	ND	ND
	Asiatiques (5)	ND/ND	1,55 (0,98 – 2,45)	0,06	79,9	ND
	Fœtus (3)	425/520	1,29 (0,65 – 2,57)	0,47	78,7	ND

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau C-4 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et accouchements prématurés (AP), selon le modèle hétérozygote (TC c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Wu <i>et al.</i> , 2017]	Mères (8)	1 338/1 736	1,30 (0,94 – 1,81)	0,11	65,9	ND
	Blancs (1)	ND/ND	1,06 (0,90 – 2,21)	0,89	ND	ND
	Asiatiques (5)	ND/ND	1,41 (0,90 – 2,21)	0,14	75,9	ND
	Fœtus (3)	425/520	1,12 (0,66 – 1,90)	0,68	58,0	ND

Abréviations : ND : non déterminé

ANNEXE D – THROMBOEMBOLIE VEINEUSE EN GROSSESSE

Tableau D-1 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de TEV chez les femmes enceintes, selon le modèle allélique (T c. C)

GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET TEV		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
		RAPPORT DE COTES * (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
Tous les cas TEV c. témoins (5)	234/894	1,24 (0,88 - 1,73)	0,5 †	0	0,73
Blancs (4)	190/839	ND	ND	ND	ND
Asiatiques (1)	44/55	2,18 (0,97 - 4,90)	ND	ND	ND

Source: [Ziakas *et al.*, 2015]

Abréviations : ND : non déterminé

* Rapport de cotes estimé selon le modèle à effets aléatoires pour mesurer l'association entre le variant et le risque de TEV.

† Valeur p du test Harbor: pas d'évidence d'effet des petites études sur les RC des 5 études pour ce groupe.

ANNEXE E – MALFORMATIONS CARDIAQUES CONGÉNITALES

Tableau E-1 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de malformations cardiaques congénitales (MCC) selon le modèle allélique (T c. C)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET MCC		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Mamasoula et al., 2013]	Tous les cas MCC c. témoins (2)	5 814/10 056	1,00 (0,96 - 1,05)	ND	Absent	Absente
	Blancs d'Europe (1)	2 707/4 168	1,06 (0,98 - 1,13)			
	Blancs de New York (1)	1 588/3 208	0,94 (0,86 - 1,03)			
	Noirs de NY	654/1 314	0,90 (0,74 - 1,10)			
	Espagnols de NY	448/920	0,93 (0,79 - 1,10)			
	Autre de NY	86/446	0,91 (0,70 - 1,20)			
[Xuan et al., 2014]	Tous les cas MCC c. témoins (35)	9 329/15 076	1,25 (1,09 - 1,43)	0,001	82,3	0,000 1
	Blancs (10)	7 092/12 150	1,16 (1,01 - 1,34)	0,04	62,9	0,003
	Asiatiques (12)	1 911/2 222	1,45 (1,12 - 1,88)	0,005	86,6	0,000 1
	Total mères des cas (19)	3 232/27 174	1,22 (1,09 - 1,36)	0,001	47,6	0,01
	Mères blanches (9)	2 431/26 170	1,13 (1,04 - 1,21)	0,002	2,4	0,42
	Mères asiatiques (5)	467/616	1,60 (1,35 - 1,89)	5,04 X 10⁻⁸	0,0	0,41

[Wang <i>et al.</i> , 2013a]	Tous les cas des MCC c. témoins (19)	2 697/3 434	1,27 (1,18 - 1,37)	ND	71,2	0,000 0
	Blancs (8)	796/1 485	1,11 (0,97 - 1,26)		ND	0,25
	Asiatiques (11)	1 901/1 949	1,36 (1,24 - 1,49)		ND	0,000 0
	Total mères des cas (14)	1 745/2 044	1,10 (0,99 - 1,22)			
	Blanches (10)	1 311/1 531	1,06 (0,95 - 1,19)		49,6	0,02
	Asiatiques (4)	434/513	1,20 (0,97 - 1,49)		ND	0,01
					ND	0,18
[Nie <i>et al.</i> , 2011]	Tous les cas des MCC c. témoins (13)	1 898/3 003	1,16 (0,99 - 1,36)	0,07	62,5	0,001
	Blancs (5)	649/1 150	1,19 (1,03 - 1,38)	0,02	48,6	0,10
	Asiatiques(3)	771/825	1,22 (0,80 - 1,88)	0,35	82,7	0,003

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau E-2 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de malformations cardiaques congénitales (MCC) selon le modèle récessif (TT c. TC + CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET MCC		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Mamasoula <i>et al.</i> , 2013]	1) Tous les cas MCC c. témoins (2)	5 814/10 056	0,96 (0,87 - 1,07)	ND	Absente	Absente
	Blancs d'Europe (1)	2 707/4 168	1,00 (0,86 - 1,16)	ND	Absente	Absente
	Blancs de New York (1)	1 588/3 208	0,91 (0,76 - 1,10)	ND	Absente	Absente
	Noirs de NY	654/1 314	0,97 (0,51 - 1,85)	ND	Absente	Absente
	Espagnols de NY	448/920	0,97 (0,72 - 1,31)	ND	Absente	Absente
	Autre de NY	86/446	0,89 (0,47 - 1,71)	ND	Absente	Absente
	† Défaut septal	2 723/5 022	0,98 (0,80 - 1,19)	ND	ND	ND
	† Défauts cono-troncal	1 718/3 168	1,06 (0,83 - 1,35)	ND	ND	ND
	† Défauts côté gauche	389/717	0,80 (0,47 - 1,35)	ND	ND	ND
	† Autres défauts	623/1 149	0,68 (0,45 - 1,05)	0,021	ND	ND
	2) Méta-analyse : cas MCC vs témoins (14)	7 697/13 159	1,25 (1,03 - 1,51) * 1,06 (0,97 - 1,15) †	0,022	64,4	< 0,000 1
	3) Méta-analyse : mères des cas c. témoins (8)	1 781/19 861	1,13 (0,87 - 1,47)	ND	30,7	0,16
	Mères blanches d'Europe c. témoins	829/4 348	1,05 (0,83 - 1,33)	ND	ND	ND

[Xuan <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas MCC c. témoins (35)	9 329/15 076	1,40 (1,14 - 1,71)	0,001	72,2	0,000
	Blancs (10)	7 092/12 150	1,01 (0,92 - 1,11)	0,80	23,8	0,22
	Asiatiques (12)	1 911/2 222	1,76 (1,23 - 2,53)	0,002	79,9	0,000
	Total mères des cas (19)	3 232/27 174	1,41 (1,13 - 1,76)	0,002	49,8	0,007
	Mères blanches (9)	2 431/26 170	1,07 (0,89 - 1,23)	0,57	0,0	0,68
	Mères asiatiques (5)	467/616	2,07 (1,58 - 2,71)	1,22 x 10⁻⁷	0,0	0,73
[Li <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas MCC c. témoins (16) ‡	2 068/2 952	1,26 (1,06 - 1,51)	ND	ND	ND
	Total mères des cas contre mères des témoins (14) ‡	1 553/15 223	1,52 (1,09 - 2,11)			
[Wang <i>et al.</i> , 2013a]	Tous les cas des MCC c. témoins (19)	2 697/3 434	1,57 (1,37 - 1,79)	ND	ND	0,000 0
	Blancs (8)	796/1 485	1,20 (0,92 - 1,56)		ND	0,40
	Asiatiques (11)	1 901/1 949	1,70 (1,46 - 1,98)		ND	0,000 0
	Total mères des cas (14)	1 745/2 044	1,24 (1,02 - 1,49)		34,7	0,10
	Blanches (10)	1 311/1 531	1,17 (0,93 - 1,47)		ND	0,07
	Asiatiques (4)	434/513	1,43 (1,01 - 2,02)		ND	0,23
[Nie <i>et al.</i> , 2011]	Tous les cas des MCC c. témoins (13)	1 898/3 003	1,27 (0,98 - 1,66)	0,08	47,2	0,03
	Blanches (5)	649/1 150	1,45 (1,08 - 1,95)	0,02	34,6	0,19
	Asiatiques(3)	771/825	1,33 (0,60 - 2,93)	0,48	81,9	0,004

Abréviations : ND : non déterminé

*: RC évalué selon le modèle aléatoire, ce qui donne plus de poids aux petites études

†: RC évalué selon le modèle fixe

‡ : Les cas et les mères des blancs, asiatiques, latinos, noires, africains-américains et autres, sont analysés ensembles

Tableau E-3 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et risque de malformations cardiaques congénitales (MCC) selon le modèle dominant (TT + TC c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET MCC		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORT DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Xuan <i>et al.</i> , 2014]	Tous les cas MCC c. témoins (35)	9 329/15 076	1,24 (1,05 - 1,46)	0,01	74,4	0,000
	Blancs (10)	7 092/12 150	1,18 (0,98 - 1,42)	0,08	58,6	0,007
	Asiatiques (12)	1 911/2 222	1,44 (1,05 - 1,98)	0,02	77,2	0,000
	Total mères des cas (19)	3 232/27 174	1,26 (1,14 - 1,38)	2,14 X 10⁻⁶	29,9	0,11
	Mères blanches (9)	2 431/26 170	1,22 (1,10 - 1,35)	2,24 X 10⁻⁴	18,4	0,27
	Mères asiatiques (5)	467/616	1,61 (1,22 - 2,12)	0,001	18,9	0,30
[Wang <i>et al.</i> , 2013a]	Tous les cas des MCC c. témoins (19)	2 697/3 434	1,26 (1,12 - 1,41)	ND	71,2	0,06
	Blancs (8)	796/1 485	1,15 (0,96 - 1,39)	ND	ND	0,44
	Asiatiques (11)	1 901/1 949	1,35 (1,16 - 1,56)	ND	ND	0,04
	Total mères des cas (14)	1 745/2 044	1,11 (0,96 - 1,28)	ND	21,5	0,22
	Blanches (10)	1 311/1 531	1,07 (0,91 - 1,25)	ND	ND	0,15
	Asiatiques (4)	434/513	1,17 (0,80 - 1,71)	ND	ND	0,44
[Nie <i>et al.</i> , 2011]	Tous les cas des MCC c. témoins (13)	1 898/3 003	1,13 (0,94 - 1,36)	0,21	46,2	0,03
	Blanches (5)	649/1 150	1,17 (0,95 - 1,43)	0,14	30,9	0,22
	Asiatiques (3)	771/825	1,13 (0,74 - 1,73)	0,56	62,7	0,07

Abréviations : ND : non déterminé

ANNEXE F – ANOMALIES DU TUBE NEURAL

Tableau F-1 Association entre le variant maternel C677T du gène *MTHFR* et risque d'anomalies du tube neural (ATN) chez leurs enfants, selon le modèle allélique (T c. C)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ATN		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORTS DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Yadav <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas d'ATN c. témoins (50)	4 076/6 731	1,23 (1,12 - 1,35)	< 0,000 1	48,6	< 0,000 1
	Blancs d'Europe (22)	ND/ND	1,15 (1,02 - 1,30)	0,02	43,1	0,01
	* Américains (15)	ND/ND	1,26 (1,11 - 1,43)	0,000 3	20,9	< 0,000 1
	† Asiatiques (12)	ND/ND	1,43 (1,05 - 1,94)	0,02	70,2	0,000 1
[Zhang <i>et al.</i> , 2013]	Tous les cas d'ATN c. témoins (41)	Total 42 études 4 374/7 132	1,18 (1,05 - 1,33)*	ND	67,4	< 0,001

Abréviations : ND : non déterminé

*Américains: populations à l'étude d'Amérique du Nord (Canada, États-Unis) et du Sud (Mexique).

† Asiatiques: Chine, Indonésie, Corée.

Tableau F-2 Association entre le variant maternel C677T du gène *MTHFR* et risque d'anomalies du tube neural (ATN) chez leurs enfants, selon le modèle récessif (TT c. TC + CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ATN		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORTS DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Zhang <i>et al.</i> , 2013]	Tous les cas d'ATN c. témoins (39)	ND/ND	1,25 (1,03 - 1,53)	ND	52,8	< 0,001
[Yadav <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas d'ATN c. témoins (50)	4 076/6 731	0,66 (0,56 - 0,77)	<0,000 1	25,4	0,06
	Blancs d'Europe (22)	ND/ND	0,71 (0,58 - 0,87)	0,001	19,3	0,21
	Américains (15)	ND/ND	0,67 (0,52 - 0,87)	0,002	24,0	0,19
	Asiatiques (12)	ND/ND	0,50 (0,31 - 0,80)	0,004	33,7	0,12

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau F-3 Association entre le variant maternel C677T du gène *MTHFR* et risque d'anomalies du tube neural (ATN) chez leurs enfants, selon le modèle dominant (TT + TC c. CC)

MÉTA-ANALYSE	GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ATN		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
			RAPPORTS DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
[Yadav <i>et al.</i> , 2015]	Tous les cas d'ATN c. témoins (50)	4 076/6 731	1,21 (1,07 - 1,37)	0,002	43,0	0,001
	Blancs d'Europe (22)	ND/ND	1,12 (0,94 - 1,32)	0,18	44,2	0,10
	Américains (15)	ND/ND	1,30 (1,09 - 1,55)	0,002	0,0	0,57
	Asiatiques (12)	ND/ND	1,46 (0,98 - 2,18)	0,06	66,1	0,000 6
[Zhang <i>et al.</i> , 2013]	Tous les cas d'ATN c. témoins (42)	4 374/7 132	1,23 (1,07 - 1,42)	ND	54,7	< 0,001
	Blanches d'Europe (22)	ND/ND	1,21 (1,03 - 1,42)	ND	49,3	0,004
	Autochtones américains (9)	ND/ND	1,07 (0,81 - 1,41)	ND	33,6	0,14
	Asiatiques (4)	ND/ND	1,25 (0,62 - 2,52)	ND	76,0	0,002

Abréviations : ND : non déterminé

Tableau F-4 Association entre le variant maternel C677T du gène *MTHFR* et risque d'anomalies du tube neural (DTN) chez leurs enfants, selon le modèle hétérozygote (TC c. CC)

GROUPES TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET ATN		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
		RAPPORTS DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
Tous les cas d'ATN c. témoins (50)	4 076/6 731	1,10 (0,98 - 1,23)	0,08	24,4	0,06
Blancs d'Europe (22)	ND/ND	1,03 (0,88 - 1,21)	0,65	32,3	0,07
Américains (15)	ND/ND	1,20 (0,99 - 1,44)	0,05	0,0	0,81
Asiatiques (12)	ND/ND	1,26 (0,89 - 1,79)	0,18	50,7	0,02

Source: [Yadav *et al.*, 2015]
 Abréviations : ND : non déterminé

ANNEXE G – ACCIDENT VASCULAIRE CÉRÉBRAL CHEZ LES NOUVEAU-NÉS ET LES ENFANTS

Tableau G-1 Association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et le risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) chez les nouveau-nés et les enfants, selon les modèles récessifs (TT c. TC + CC) et dominant (TT + TC c. CC)

GROUPEs TESTÉS (N ÉTUDES INCLUSES)	NOMBRE CAS/TÉMOIN	ASSOCIATION MTHFR 677 C>T ET AVC			HÉTÉROGÉNÉITÉ	
		MODÈLE GÉNÉTIQUE	RAPPORTS DE COTES (IC 95%)	VALEUR p	I ²	Q-test (VALEUR P)
Tous (15) Modèle récessif (14)	822/1 552 ND/ND	TT c. TC+ CC (récessif)	1,57 (1,02 – 2,41)	0,04	ND	ND
Tous (15) Modèle dominant (11)	822/1 552 ND/ND	TT+CT c. CC (dominant)	1,52 (1,09 – 2,12)	0,01	ND	ND

Source: [Sarecka-Hujar *et al.*, 2012]

Abréviations : ND : non déterminé

RÉFÉRENCES

- ACOG. Inherit thrombophilia in pregnancy. Practice bulletin No, 138 2013. septembre 2013. Disponible à : www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23963422.
- ACOG. (American college of obstetricians and gynecologists). Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia 2002.
- Areia AL, Fonseca E, Areia M, Moura P. Low-molecular-weight heparin plus aspirin versus aspirin alone in pregnant women with hereditary thrombophilia to improve live birth rate: meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Gynecol Obstet* 2016;293(1):81-6.
- Bain E, Wilson A, Tooher R, Gates S, Davis LJ, Middleton P. Prophylaxis for venous thromboembolic disease in pregnancy and the early postnatal period. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;(2):CD001689.
- Bibi S, Qureshi, Ahmad M, Qureshi PM, Memon A, Qazi RA. Hyperhomocysteinaemia, vascular related pregnancy complications and the response to vitamin supplementation in pregnant women of Pakistan. *J Pak Med Assoc* 2010;60(9):741-5.
- Cao Y, Xu J, Zhang Z, Huang X, Zhang A, Wang J, et al. Association study between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Gene* 2013;514(2):105-11.
- Chakraborty P, Banerjee S, Saha P, Nandi SS, Sharma S, Goswami SK, et al. Aspirin and low-molecular weight heparin combination therapy effectively prevents recurrent miscarriage in hyperhomocysteinemic women. *PLoS One* 2013;8(9):e74155.
- Chen J, Chen L, Zhu LH, Zhang ST, Wu YL. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism with preterm delivery and placental abruption: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2016;95(2):157-65.
- Colson NJ, Naug HL, Nikbakht E, Zhang P, McCormack J. The impact of MTHFR 677 C/T genotypes on folate status markers: a meta-analysis of folic acid intervention studies. *Eur J Nutr* 2017;56(1):247-60.
- de Jong PG, Kaandorp S, Di Nisio M, Goddijn M, Middeldorp S. Aspirin and/or heparin for women with unexplained recurrent miscarriage with or without inherited thrombophilia. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;(7):CD004734.
- DeRegil ML, PenaRosas PJ, FernandezGaxiola AC, RaycoSolon P. Effects and safety of periconceptional oral folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015;(12)
- Hickey SE, Curry CJ, Toriello HV. ACMG Practice Guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing. *Genet Med* 2013;15(2):153-6.
- Institute of medicine (US) standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes and its panel on folate oBv, and choline,. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamine B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington (DC) : 1998.

- Kahn S, R,. Inherited thrombophilia and preeclampsia within a multicenter cohort: the Montreal Preeclampsia Study. *AJOG (American Journal of Obstetrics & Gynecology)* 2009;200(2):151.e1-.e9.
- Karadag C, Yoldemir T, Karadag SD, Inan C, Dolgun ZN, Aslanova L. Obstetric outcomes of recurrent pregnancy loss patients diagnosed with inherited thrombophilia. *Ir J Med Sci* 2017;
- Kenet G, Lutkhoff LK, Albisetti M, Bernard T, Bonduel M, Brandao L, et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation* 2010;121(16):1838-47.
- Kosar A, Kasapoglu B, Kalyoncu S, Turan H, Balcik OS, Gumus EI. Treatment of adverse perinatal outcome in inherited thrombophilias: a clinical study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011;22(1):14-8.
- Levin BL et Varga E. MTHFR: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature. *J Genet Couns* 2016;25(5):901-11.
- Li X, Luo YL, Zhang QH, Mao C, Wang XW, Liu S, Chen Q. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T, A1298C polymorphisms and pre-eclampsia risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2014;41(8):5435-48.
- Li Z, Jun Y, Zhong-Bao R, Jie L, Jian-Ming L. Association between MTHFR C677T polymorphism and congenital heart disease. A family-based meta-analysis. *Herz* 2015;40 Suppl 2:160-7.
- Maged AM, Abdelhafiz A, Mostafa WA, El-Nassery N, Fouad M, Salah E, Kotb A. The role of prophylactic use of low dose aspirin and calheparin in patients with unexplained recurrent abortion. *Gynecol Endocrinol* 2016;32(12):970-2.
- Mamasoula C, Prentice RR, Pierscionek T, Pangilinan F, Mills JL, Druschel C, et al. Association between C677T polymorphism of methylene tetrahydrofolate reductase and congenital heart disease: meta-analysis of 7697 cases and 13,125 controls. *Circ Cardiovasc Genet* 2013;6(4):347-53.
- Mitic G, Novakov Mikic A, Povazan L, Mitreski A, Kopitovic V, Vejnovic T. Thromboprophylaxis implementation during pregnancy in women with recurrent foetal losses and thrombophilia. *Med Pregl* 2011;64(9-10):471-5.
- Moll S et Varga EA. Homocysteine and MTHFR Mutations. *Circulation* 2015;132(1):e6-9.
- Monien S, Kadecki O, Baumgarten S, Salama A, Dorner T, Kiesewetter H. Use of heparin in women with early and late miscarriages with and without thrombophilia. *Clin Appl Thromb Hemost* 2009;15(6):636-44.
- Mutlu I, Mutlu MF, Biri A, Bulut B, Erdem M, Erdem A. Effects of anticoagulant therapy on pregnancy outcomes in patients with thrombophilia and previous poor obstetric history. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015;26(3):267-73.
- Nie Y, Gu H, Gong J, Wang J, Gong D, Cong X, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and congenital heart disease: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(12):2101-8.
- NIH. Working group report on high blood pressure in pregnancy. Washington : 2000.

- Pogliani L, Cerini C, Penagini F, Duca P, Mameli C, Zuccotti GV. Cerebral ultrasound abnormalities in offsprings of women with C677T homozygous mutation in the MTHFR gene: a prospective study. *World J Pediatr* 2015;11(2):134-40.
- Pogliani L, Muggiasca L, Arrigoni L, Rossi E, Zuccotti G. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) homozygosity and neonatal outcome: follow-up of 42 pregnancies at risk. *J Child Neurol* 2010;25(6):701-4.
- Refsum H, Nurk E, Smith AD, Ueland PM, Gjesdal CG, Bjelland I, et al. The Hordaland Homocysteine Study: a community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *J Nutr* 2006;136(6 Suppl):1731S-40S.
- Roberge S, Demers S, Nicolaides KH, Bureau M, Cote S, Bujold E. Prevention of pre-eclampsia by low-molecular-weight heparin in addition to aspirin: a meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47(5):548-53.
- Saliba E, Debillon T, Auvin S, Baud O, Biran V, Chabernaude JL, et al. [Neonatal arterial ischemic stroke: Review of the current guidelines]. *Arch Pediatr* 2017;24(2):180-8.
- Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Pienicz-Reclawowicz K, Reclawowicz D, Emich-Widera E, Pilarska E. The TT genotype of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism increases the susceptibility to pediatric ischemic stroke: meta-analysis of the 822 cases and 1,552 controls. *Mol Biol Rep* 2012;39(8):7957-63.
- Serapinas D, Boreikaite E, Bartkeviciute A, Bandzeviciene R, Silkunas M, Bartkeviciene D. The importance of folate, vitamins B6 and B12 for the lowering of homocysteine concentrations for patients with recurrent pregnancy loss and MTHFR mutations. *Reprod Toxicol* 2017;72:159-63.
- Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet* 2017;91(2):265-84.
- Thrombosis Canada. Thrombophilia: homocysteinemia and methylene tetrahydrofolate reductase. Thrombosis Canada 2017. 22 janv 2017. Disponible à .
- Tong L et Wei X. Meta-analysis of aspirin-heparin therapy for un-explained recurrent miscarriage. *Chin Med Sci J* 2016;31(4):239-46.
- Wang W, Hou Z, Wang C, Wei C, Li Y, Jiang L. Association between 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and congenital heart disease: A meta-analysis. *Meta Gene* 2013a;1:109-25.
- Wang XM, Wu HY, Qiu XJ. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism and risk of preeclampsia: an updated meta-analysis based on 51 studies. *Arch Med Res* 2013b;44(3):159-68.
- Wu H, Zhu P, Geng X, Liu Z, Cui L, Gao Z, et al. Genetic polymorphism of MTHFR C677T with preterm birth and low birth weight susceptibility: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2017;295(5):1105-18.

- Wu X, Yang K, Tang X, Sa Y, Zhou R, Liu J, et al. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2015;32(5):797-805.
- Wu X, Zhao L, Zhu H, He D, Tang W, Luo Y. Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012;16(7):806-11.
- Xia XP, Chang WW, Cao YX. Meta-analysis of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and susceptibility to pre-eclampsia. *Hypertens Res* 2012;35(12):1129-34.
- Xuan C, Li H, Zhao JX, Wang HW, Wang Y, Ning CP, et al. Association between MTHFR polymorphisms and congenital heart disease: a meta-analysis based on 9,329 cases and 15,076 controls. *Sci Rep* 2014;4:7311.
- Yadav U, Kumar P, Yadav SK, Mishra OP, Rai V. "Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis". *Metab Brain Dis* 2015;30(1):7-24.
- Yang B, Fan S, Zhi X, Li Y, Liu Y, Wang D, et al. Associations of MTHFR gene polymorphisms with hypertension and hypertension in pregnancy: a meta-analysis from 114 studies with 15411 cases and 21970 controls. *PLoS One* 2014;9(2):e87497.
- Yang M, Li W, Wan Z, Du Y. Elevated homocysteine levels in mothers with neural tube defects: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 2017;30 (17):2051-7.
- Yang Y, Luo Y, Yuan J, Tang Y, Xiong L, Xu M, et al. Association between maternal, fetal and paternal MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a comprehensive evaluation. *Arch Gynecol Obstet* 2016;293(6):1197-211.
- Yuksel H, Kayatas S, Boza AT, Api M, Ertekin AA, Cam C. Low molecular weight heparin use in unexplained recurrent miscarriage. *Pak J Med Sci* 2014;30(6):1232-7.
- Zhang G, Zhao J, Yi J, Luan Y, Wang Q. Association Between Gene Polymorphisms on Chromosome 1 and Susceptibility to Pre-Eclampsia: An Updated Meta-Analysis. *Med Sci Monit* 2016;22:2202-14.
- Zhang T, Lou J, Zhong R, Wu J, Zou L, Sun Y, et al. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: a meta-analysis of the published literature. *PLoS One* 2013;8(4):e59570.
- Ziakas PD, Poulou LS, Pavlou M, Zintzaras E. Thrombophilia and venous thromboembolism in pregnancy: a meta-analysis of genetic risk. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015;191:106-11.

TAAN MULTIPLEXE DE 14 AGENTS PATHOGÈNES POUR UN DIAGNOSTIC DE MÉNINGITE OU D'ENCÉPHALITE À PARTIR DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN (RÉFÉRENCE - 2013.02.008R)

Avis d'évaluation – Rehaussement technologique

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU de Québec

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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.

2 RÉSUMÉ

La méningite et l'encéphalite sont des inflammations des membranes et du liquide protégeant respectivement la moelle épinière et le cerveau. En l'absence d'une prise en charge rapide, la méningite est à l'origine de graves complications neurologiques ou de décès en l'espace de quelques heures suivant sa contraction. La technologie de FilmArray^{MC} ME Panel (Méningite/Encéphalite)(FMEP) permet d'identifier un large spectre de microorganismes associés à ces affections, à l'instar de bactéries, de virus et de levures.

Les études menées auprès de populations pédiatrique, adulte ou immunodéprimée suggèrent que l'utilisation du FMEP est comparable à celle des méthodes d'analyse conventionnelles avec les pourcentages de concordance positifs suivants :

- 87,5 % pour le virus herpès humain de type 6;
- 95,7 % pour les entérovirus;
- 100 % pour les autres agents pathogènes visés.

En revanche, le pourcentage de concordance négatif allait de 99 % à 100 % pour les agents pathogènes ciblés par le FMEP. De plus, le temps écoulé jusqu'au diagnostic était estimé à 3 heures pour une analyse par FMEP et à 13,3 heures lorsque les méthodes conventionnelles étaient employées.

Dans le cas de patients traités aux antifongiques ou aux antibiotiques, le FMEP a permis le suivi thérapeutique de ceux qui auparavant avaient contracté une cryptococcose en permettant d'identifier les microorganismes qui n'étaient plus détectables ni par le test antigénique ni par la culture.

Ce rehaussement technologique susciterait des coûts additionnels de 224 000 \$ pour les trois premières années. Toutefois, ces coûts n'incluent ni les réductions potentiellement engendrées par une prise en charge rapide du patient, ni la diminution du temps écoulé avant le diagnostic en utilisant le FMEP.

Selon la FDA, le FMEP est un outil diagnostique qui doit être utilisé en conjonction avec les observations cliniques, et les résultats de tests de laboratoire conventionnels.

ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) regroupé (multiplexe) de 14 agents pathogènes permet d'établir un diagnostic de méningite ou d'encéphalite à partir d'un échantillon du liquide céphalo-rachidien (LCR).

3.2 Description de la méthode

Le FilmArray^{MC} ME Panel (Méningite/Encéphalite) (FMEP) est un test diagnostique *in vitro* pour la détection qualitative d'acides nucléiques multiplexes destiné à être utilisé avec les systèmes FilmArray^{MC}. À l'aide de cette trousse, une variété de pathogènes, notamment les bactéries, virus et levure sont tous simultanément détectables dans 200 µl de liquide céphalo-rachidien [Graf *et al.*, 2017; Hanson *et al.*, 2016]. Les 14 organismes suivants sont identifiés grâce au FMEP :

Bactéries :

- *Escherichia coli* K1
- *Haemophilus influenzae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Neisseria meningitidis*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*

Virus :

- Cytomégalovirus (CMV)
- Entérovirus
- Herpès simplex virus 1 (HSV-1)
- Herpès simplex virus 2 (HSV-2)
- Virus de l'herpès humain de type 6 (VHH-6)
- Paréchovirus humain
- Le virus varicelle-zona

Levure :

- *Cryptococcus neoformans/gattii*

La cassette FMEP est un système fermé jetable qui comprend tous les réactifs requis pour purifier, amplifier et détecter l'acide nucléique des différents pathogènes de la méningite et de l'encéphalite au sein d'un seul échantillon de LCR obtenu par ponction lombaire (figure 1). Le composant en plastique rigide de la cassette FMEP contient les réactifs lyophilisés. La partie en plastique souple de la cassette se divise en segments (plaquettes) dans lesquels les processus chimiques sont exécutés. L'utilisateur du FMEP charge l'échantillon dans la cassette FMEP, place la cassette dans le module FilmArray^{MC} et démarre l'analyse. Toutes les autres opérations sont automatisées [BioFire, 2016].

Les étapes du procédé d'analyse FMEP sont les suivantes :

- **Purification de l'acide nucléique**

La purification de l'acide nucléique s'effectue dans les trois premières plaquettes. L'échantillon de LCR est lysé par agitation grâce à un broyage par billes afin de

libérer l'acide nucléique qui est capturé, lavé et élué selon une technique à billes magnétiques [BioFire, 2016].

- **Transcription inverse et réaction de polymérase en chaîne (PCR) multiplexe de phase 1**

Étant donné que la plupart des agents pathogènes identifiés par la cassette FMEP sont des virus à ARN, une étape de transcription inverse est requise pour convertir l'ARN viral en ADN complémentaire avant l'amplification. La solution d'acide nucléique purifiée est combinée à un mélange maître (*Master-mix*) préchauffé afin d'amorcer l'étape de la transcription inverse ainsi que le thermocyclage ultérieur pour une PCR multiplexe. La PCR de phase 1 a pour effet d'enrichir la solution en acides nucléiques cibles présents dans l'échantillon [BioFire, 2016].

- **PCR de phase 2**

Les produits de la PCR de phase 1 sont dilués et mélangés avec des réactifs de PCR frais contenant un colorant d'ADN intercalant fluorescent (LCGreen^{MC} Plus, BioFire Diagnostics, LLC). Cette solution est répartie sur une matrice de la PCR de phase 2. Chaque compartiment de la matrice contient des amorces pour des tests différents en triplicata qui ciblent des séquences d'acide nucléique spécifiques de chacun des agents pathogènes détectés, ainsi que le matériel de référence. Ces amorces sont internes aux produits spécifiques de la réaction multiplexe de phase 1, ce qui permet d'améliorer non seulement la sensibilité, mais aussi la spécificité des réactions [BioFire, 2016].

- **Analyse de fusion de l'ADN et interprétation du test**

Après la PCR de phase 2, la température est progressivement augmentée et la fluorescence de chaque compartiment de la matrice est surveillée et analysée afin de tracer une courbe de fusion. Le module FilmArray^{MC} effectue une analyse de fusion d'ADN à haute résolution sur les produits d'amplification et mesure le signal de fluorescence généré dans chaque puits. Le logiciel FilmArray^{MC} effectue ensuite plusieurs analyses et donne un résultat positif ou négatif à l'essai [BioFire, 2016].

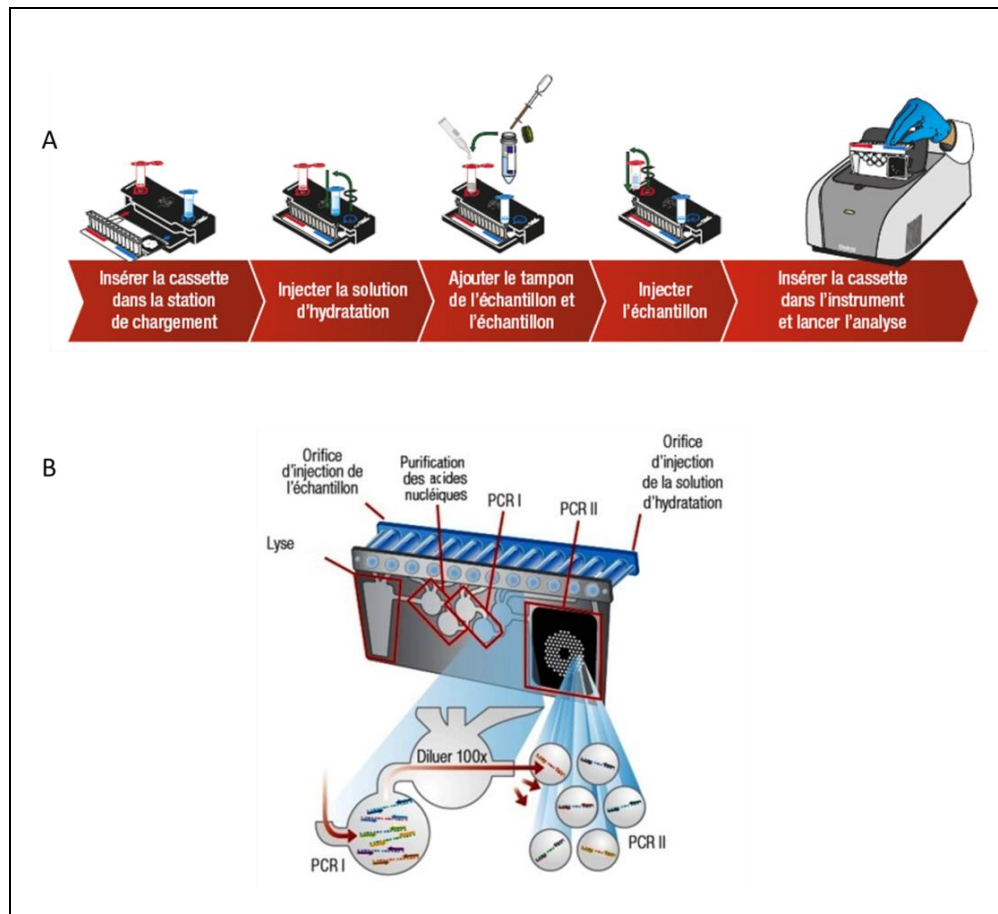


Figure 1 Représentation du système intégré FilmArray^{MC} ME Panel (Méningite/Encéphalite) et du module FilmArray^{MC}

A : L'utilisateur prépare la cassette en y injectant la solution d'hydratation et l'échantillon combiné avec sa solution tampon de lyse. La cassette est ensuite introduite dans l'automate FilmArray^{MC} qui fait le reste. B : Une fois la cassette à l'intérieur de l'automate, le FilmArray^{MC} extrait et purifie tous les acides nucléiques de l'échantillon ; puis une PCR nichée en deux étapes successives (PCR I et PCR II). La PCR I est une réaction hautement multiplexée pour amplifier toutes les cibles du panel. La PCR II amplifie chaque cible individuellement dans un puits défini à l'aide d'un couple d'amorces situées à l'intérieur du produit de la PCR I.

Source : Site de la compagnie BIOMÉRIEUX filiale France, consulté le 28 août 2017 à l'adresse suivante : http://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/filmarray-me-panel-meningiteencephalite#Comment fonctionne FilmArray® ? _0_1

Abréviations : PCR : « *Polymerase Chain Reaction* », Réaction en chaîne par polymérase

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les échantillons sont reçus au laboratoire de microbiologie et apprêtés sous une enceinte de sécurité biologique (ESB). Un aliquote est ensuite acheminé vers le poste de travail pour effectuer le TAAN.

3.4 Société ou concepteur

La trousse FilmArray^{MC} ME Panel (Méningite/Encéphalite) a été conçue par BioFire Diagnostics, LLC, une compagnie bioMérieux.

3.5 Homologation

La trousse commerciale FilmArray^{MC} ME Panel (Méningite/Encéphalite) est homologuée par Santé Canada, par la FDA et est approuvée par les normes de conformité européenne avec marquage CE (tableau 1).

Tableau 1 Homologation de la trousse commerciale FilmArray^{MC} ME Panel (Méningite/Encéphalite)

DATE D'HOMOLOGATION	ORGANISATIONS	NUMÉRO D'HOMOLOGATION
29 août 2016	Santé Canada*	97 610
9 octobre 2015	FDA	21 CFR 866.3970
26 janvier 2016	Conformité européenne (marquage CE)	IVD CE0088

Abréviations : CE : Conformité européenne ; CFR : Code of Federal Regulation ; FDA : Food and Drug Administration ; IVD : Dispositif de diagnostic médical *in vitro*

Notes tableau :

*Le système « FILMARRAY SYSTEM » de la compagnie BIOFIRE DIAGNOSTICS, LLC qui permet d'utiliser l'outil FilmArray^{MC} (ME) Panel a été également homologué par Santé Canada le 9 décembre 2015 sous le numéro 96211.

3.6 Valeur pondérée : 162,00

4. CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients avec suspicion clinique de méningite ou d'encéphalite.

Selon le demandeur, le test est prescrit par un médecin lorsque le décompte cellulaire s'élève à plus de 10 leucocytes x 10⁶/l. Dans les autres cas, il recommande de contacter le microbiologiste de garde afin de justifier l'analyse.

4.2 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Suite aux échanges effectués avec le demandeur¹³, la volumétrie totale a été estimée à près de 700 échantillons par année dans les trois prochaines années pour le Québec.

4.3 Données médico-administratives

Le TAAN multiplexe de 14 agents pathogènes pour un diagnostic de méningite ou d'encéphalite à partir du liquide céphalo-rachidien ne figure pas dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après *Répertoire*). Cette analyse n'a pas fait l'objet d'envoi hors Québec. Toutefois, des

¹³ Communication personnelle avec le Dr. Jean Longtin en date du 11 août 2017.

analyses utilisées pour la détection d'un ou de plusieurs agents-pathogènes ciblés par le FilmArray^{MC} ME Panel sont inscrites au *Répertoire* (tableau 2).

Tableau 2 Analyses inscrites au *Répertoire* pour la détection d'un ou de plusieurs pathogènes détectés par l'essai à l'étude (2015 à 2016)

NOM DE L'ANALYSE	CODE	VALEUR PONDÉRÉE	VOLUME	COÛT TOTAL
TAAN Virus Herpès simplex de type 1 ou 2	45 064	34	10 795	367 030 \$
Méningite bactérienne Multiplex 5	45 076	127	76	9 652 \$
Entérovirus TAAN sur LCR	45 038	34	1 508	51 272 \$
TAAN virus varicelle-zona	45 110	100	1 101	110 100 \$
Virus de l'Herpès multiplex 7	45 068	175	629	110 075 \$

Source : Données médico-administratives et volumétrie des établissements au cours de l'année 2015 à 2016

Abréviations : LCR : liquide céphalo-rachidien ; TAAN : test d'amplification des acides nucléiques

4.4 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, la nouvelle analyse permettra de :

- regrouper les trois analyses virales (le virus herpès simplex, le virus varicelle-zona, l'entérovirus) et bactériennes sur le même volume d'échantillon en cas de demandes d'analyse concomitantes;
- fournir des résultats d'analyse en temps opportun, grâce à la capacité de la technique à être réalisée en temps réel;
- ne pas avoir d'interruption de service étant donné que l'analyse visée est la seule actuellement offerte au Québec;
- rendre disponibles les tests d'amplification d'acides nucléiques pour l'*Escherichia coli* K1 et la levure *Cryptococcus neoformans/gattii*, qui ne sont pas actuellement offerts dans le réseau de santé québécois;
- détecter l'agent pathogène même lorsque le prélèvement du liquide céphalo-rachidien est réalisé après le début des antibiotiques, pouvant causer un faux négatif dans une culture bactérienne;

- établir un diagnostic rapide d'une méningite ou d'une encéphalite en orientant promptement le traitement pour améliorer la qualité des soins dispensés aux patients;
- diminuer les durées d'hospitalisation, notamment des clientèles pédiatriques et neurologiques, lorsque le résultat est négatif.

Temps de réponse souhaité

L'analyse sera effectuée tous les jours de la semaine, avec émission d'un résultat en l'espace de 24 h suivant la réception. Le délai souhaitable est de moins de 24 h après réception.

4.5 Assurance qualité

Le demandeur prévoit :

- une validation comparative et prospective des trousse Simplex^{MC} et FilmArray^{MC} (ME) Panel sur leur sensibilité à détecter les virus herpès simplex de type 1 et 2 (HSV 1 et HSV 2);
- effectuer des contrôles de qualité externes avec le College of American Pathologists;
- envoyer régulièrement au laboratoire de santé publique du Québec les souches : *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, et *Streptococcus pneumoniae* pour confirmation et typage.

5. DONNÉES PUBLIÉES

Une revue structurée de la littérature a permis de repérer cinq études pour étayer la valeur diagnostique de l'analyse [Arora *et al.*, 2017; Launes *et al.*, 2017; Messacar *et al.*, 2016; Rhein *et al.*, 2016; Wootton *et al.*, 2016] et une étude prospective permettant de démontrer sa validité analytique [Leber *et al.*, 2016].

5.1 Valeur diagnostique

Utilisation clinique du FilmArray^{MC} ME Panel dans une population pédiatrique avec suspicion d'infections du système nerveux central

Dans une étude rétrospective menée auprès d'une population pédiatrique, Messacar et ses collaborateurs [2016] incluent 138 enfants répartis en trois groupes distincts :

- Groupe 1 : 45 enfants de moins de trois mois avec un LCR analysé pour la détection d'entérovirus ou de virus herpès simplex.
- Groupe 2 : 65 patients de moins de trois mois présentant la fièvre, et une pléocytose du LCR à plus de 5×10^3 globules blancs/ μ l avec culture bactérienne négative.

- Groupe 3 : 28 cas confirmés d'infections du système nerveux central chez les enfants de tous âges ayant un agent pathogène détectable par le FMEP et identifié dans le LCR par un test conventionnel¹⁴ pendant environ une année.

Une comparaison entre les résultats générés par les deux méthodes a été rapportée dans le tableau 3 [Messacar *et al.*, 2016]. Sur un total de 138 échantillons de LCR, 45 (33 %) avaient été rapportés positifs par un test clinique conventionnel et 43 (31 %) par le FMEP, résultant en une concordance de 96 % (tableau 3) [Messacar *et al.*, 2016].

Toutefois, des discordances ont été observées au sein des échantillons analysés. Six d'entre eux présentaient une divergence de résultats, dont 2 des 4 entérovirus détectés par le test conventionnel étaient faux négatifs avec le FMEP. Deux échantillons positifs pour l'entérovirus ou virus herpès simplex étaient négatifs lorsqu'ils étaient testés conventionnellement. Par ailleurs, deux échantillons dans lesquels une codétection d'entérovirus simultanément au *Streptococcus agalactiae* dans l'un ou au virus herpès simplex dans l'autre avait été rapportée, ne contenaient que l'entérovirus lorsqu'ils étaient analysés une nouvelle fois avec le FMEP [Messacar *et al.*, 2016].

Le temps écoulé jusqu'au diagnostic, évalué comme le temps à partir de la réception de l'échantillon de LCR jusqu'à l'identification des microorganismes, était estimé à 3 h dont 2 h pour le transport de l'échantillon et 1 h pour son analyse à l'aide du FMEP [Messacar *et al.*, 2016]. Par ailleurs, pour la détection d'agents pathogènes par méthode conventionnelle, le temps écoulé jusqu'au diagnostic de 13,3 h (IC 95 % : 10,7 h à 16 h) était significativement plus élevé qu'en utilisant le FMEP ($p < 0,001$) [Messacar *et al.*, 2016].

Tableau 3 Microorganismes identifiés dans le LCR des enfants avec suspicion d'infection du système nerveux central

MICROORGANISME DÉTECTÉ	GROUPE 1 (n = 45)		GROUPE 2 (n = 65)		GROUPE 3 (n = 28)		TOTAL (N = 138)		CONCORDANCE (%)
	TC	FMEP	TC	FMEP	TC	FMEP	TC	FMEP	
<i>Entérovirus</i>	6	5	10	9	20	19	36(26 %)	33(24 %)	96 %
<i>Virus herpès simplex</i>	0	0	1	2	3	3	4(3 %)	5(4 %)	99 %

¹⁴ Le test conventionnel consistait en une culture bactérienne dans un milieu solide ou liquide, accompagnée par des tests biochimiques ou la spectrométrie de masse pour identifier les différents germes [Messacar *et al.*, 2016].

<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	0	0	3	3	3(2 %)	3(2 %)	100 %
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	1	1	1(1 %)	1(1 %)	100 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	0	1	1	1(1 %)	1(1 %)	100 %
Total	6	5	11	11	28	27	45(33 %)	43(31 %)	96 %

Source : [Messacar *et al.*, 2016]

Abréviations : FMEP : FilmArray^{MC} Méningite/encéphalite Panel; TC : test conventionnel

Selon les auteurs, bien que le devis de l'étude présente une limite, elle suggère que la technologie FMEP a une performance diagnostique comparable aux méthodes cliniques conventionnelles. De plus, ils soulignent la capacité du FMEP à détecter des microorganismes chez les enfants avec suspicion d'infection du système nerveux central, permettant une initiation rapide des traitements et l'optimisation de l'usage d'antimicrobiens [Messacar *et al.*, 2016].

D'autre part, Arora et ses collaborateurs [2017] ont comparé l'analyse de 62 échantillons de LCR d'enfants âgés de 0 à 3 mois avec suspicion de méningite par FMEP, à celle effectuée par les cultures conventionnelles¹⁵ de LCR. Les enfants inclus à l'étude présentaient les critères suivants : une bactériémie avec ou sans anormalité du LCR (n = 12), la fièvre avec ou sans convulsions (n = 5), LCR anormal (n = 33), une leucocytose avec ou sans anormalité du LCR (n = 8), une leucopénie avec ou sans anormalité du LCR (n = 4).

La détection de *Streptococcus agalactiae* a été rapportée chez 5 enfants, aussi bien en utilisant la culture conventionnelle que le FMEP. Un suivi clinique effectué auprès de 4 des 5 enfants après un traitement aux antibiotiques a révélé que le *Streptococcus agalactiae* pouvait être détecté chez trois enfants en utilisant le FMEP, ce qui n'était pas le cas pour les cultures conventionnelles [Arora *et al.*, 2017]. L'analyse par culture était négative chez les 57 enfants restants tandis que 4 d'entre eux avaient un résultat positif par FMEP. Chez les quatre cas positifs au FMEP, le *Streptococcus agalactiae* était détecté dans deux cas et l'*Escherichia coli* K1 dans les deux autres [Arora *et al.*, 2017].

¹⁵ Les cultures de LCR étaient effectuées en utilisant un milieu de culture standard. Les bactéries détectées étaient identifiées par des méthodes biochimiques standards et par l'analyse des phénotypes.

Selon les auteurs, cette étude démontre que le FMEP est un outil diagnostique adéquat à la détection d'une méningite bactérienne chez les jeunes enfants incluant ceux qui présentent des résultats de culture bactérienne négatifs. De plus, cette technologie requiert une durée d'analyse moins longue que celle d'une culture bactérienne conventionnelle. Ils soulignent toutefois que pour la détection d'autres microorganismes potentiellement associés à la méningite ou à l'encéphalite et non inclus dans le panel, la culture bactérienne ne pourrait être remplacée par le FMEP [Arora *et al.*, 2017].

Utilisation du FilmArray^{MC} ME Panel chez les patients atteints de méningite avec une coloration Gram négative

Dans une étude observationnelle menée auprès de 48 patients atteints de méningite, les LCR avec coloration Gram négative ont été réanalysés par FMEP afin de préciser l'étiologie de la maladie. L'âge médian des patients était de 38,3 mois (3 mois à 82 mois) [Wootton *et al.*, 2016].

Les agents pathogènes ont été détectés dans 14 des 48 échantillons de LCR (29,2 %) par une analyse de routine, et dans 15 des 48 échantillons (31,2 %) par FMEP. Les microorganismes détectés par FMEP étaient majoritairement des virus : virus Epstein-Barr (n = 8), virus herpès simplex de type 1 (n = 1), de type 2 (n = 3), virus varicelle-zona (n = 3) et entérovirus (n = 1). Toutefois, la détection de bactéries et de levures a également été rapportée : *Streptococcus pneumoniae* (n = 2) et *Cryptococcus neoformans/gattii* (n = 1).

Le patient ayant le *Streptococcus pneumoniae* avait reçu des antibiotiques par voie intraveineuse, réduisant la possibilité de détecter ce germe par un test rapide d'antigène ou par culture. Le FMEP a permis d'identifier des microorganismes chez 11 patients (22,9 %) qui ne l'avaient pas été au préalable en utilisant l'analyse de routine. Par contre, l'analyse de routine a permis de détecter des agents pathogènes dans 5 (15,2 %) des 33 échantillons qui avaient été évalués négatifs par le FMEP à savoir : virus du Nil occidental (n = 4), *Histoplasma capsulatum* (n = 1) [Wootton *et al.*, 2016].

En conclusion, les auteurs soutiennent que le FMEP est capable d'identifier des microorganismes n'ayant pas pu être détectés par les analyses conventionnelles de laboratoire. Toutefois, ils soulignent que cette analyse ne pourrait totalement substituer les autres, étant donné qu'elle ne permet pas l'identification de tous les microorganismes associés à la méningite et à l'encéphalite. Selon les auteurs, le FMEP permet une analyse rapide avec une manipulation simplifiée et une réduction du volume de LCR, pour la détection des agents pathogènes responsables de la méningite et facilite le diagnostic et le traitement des infections du système nerveux central [Wootton *et al.*, 2016].

Utilisation du FilmArray^{MC} ME Panel sur des échantillons de LCR testés négatifs par d'autres techniques

L'étude prospective de Launes et ses collaborateurs [2017] incluant 20 enfants atteints d'encéphalite ou d'encéphalomyélite avait pour objectif de vérifier les

échantillons de LCR préalablement évalués à l'aide de cultures bactériennes ou de PCR en temps réel, en se servant du FMEP. L'âge médian des patients était de 27 mois (étendue interquartile : 27,7 mois à 77,6 mois). Quatre des vingt échantillons de LCR évalués entérovirus négatifs par PCR en temps réel avaient été rapportés positifs par FMEP (tableau 4). Toutefois, la différence dans la durée des symptômes chez ces 4 patients en comparaison aux 16 autres n'était pas significative [Launes *et al.*, 2017]. Par ailleurs, le virus herpès humain de type 6 (HHV-6) avait été identifié chez trois patients chez qui l'entérovirus n'avait pas été détecté. Toutefois, le HHV-6 n'avait été détecté ni dans le liquide nasopharyngé, ni dans le sang, et les symptômes associés à sa présence tels que des convulsions et l'exanthème n'avaient pas été observés. De ce fait, les auteurs ont émis l'hypothèse de la présence d'une forme latente du virus dans le LCR [Launes *et al.*, 2017].

Tableau 4 Résultats microbiologiques de l'analyse de LCR des 20 patients atteints d'encéphalite ou d'encéphalomyélite

NOMBRE DE PATIENTS	PCR EN TEMPS RÉEL – HSV 1 ET 2	PCR EN TEMPS RÉEL PAN-EV	COLORATION GRAM ET CULTURE BACTÉRIENNE	FMEP
13	négatif	négatif	négatif	Aucune détection
4	négatif	négatif	négatif	EV
3	négatif	négatif	négatif	HHV-6

Source : Article publié par [Launes *et al.*, 2017]

Abréviations : EV : Entérovirus ; FMEP : FilmArray^{MC} ME Panel ; HHV-6 : virus de l'herpès humain de type 6 ; LCR : liquide céphalo-rachidien.

Selon les auteurs, le FMEP révèle une meilleure sensibilité qu'une PCR en temps réel en une étape dans la détection des charges virales plus faibles [Launes *et al.*, 2017].

5.1.1 Performance diagnostique du FilmArray^{MC} ME Panel pour dépister la méningite chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Dans une étude prospective, Rhein et ses collaborateurs [2016] ont évalué l'utilité diagnostique du FMEP pour déterminer l'étiologie de la méningite chez 69 adultes infectés par le VIH avec une suspicion de méningite. La cohorte était constituée de 49 hommes et 20 femmes avec un âge médian de 32 (écart interquartile : 22 ans à 44 ans). Parmi les 69 participants, (36) 52 % présentaient un premier épisode de méningite cryptococcique (groupe 1), 8 (12 %) avaient eu un historique de méningite cryptococcique (groupe 2) et 25 (36 %) n'avaient pas une infection active, ou n'avaient pas expérimenté de méningite cryptococcique (groupe 3) [Rhein *et al.*, 2016].

Au total, 119 échantillons de LCR ont été prélevés de 69 patients :

- 84 échantillons du groupe 1;
- 10 échantillons du groupe 2;
- 25 échantillons du groupe 3.

Six agents pathogènes différents ont été identifiés par le FMEP. Toutefois, le *Cryptococcus* était l'agent pathogène le plus fréquemment détecté, avec 39 cas sur 69. Parmi ceux qui n'étaient pas affectés par une méningite cryptococcique, 1 % étaient atteints d'une méningite bactérienne, 7 % présentaient des virus autres que celui de Epstein-Barr, et 10 % étaient uniquement infectés par le virus Epstein-Barr. Aucun pathogène n'a été détecté chez 17 des 69 participants (25 %). Par ailleurs, les agents pathogènes ont également été détectés : cytomégalovirus (n = 2), virus varicelle-zona (n = 2), le virus de l'herpès humain type 6 (n = 1) et le *Streptococcus pneumoniae* (n = 1) [Rhein *et al.*, 2016].

Des 119 échantillons de LCR testés à l'aide du FMEP, 117 avaient également été analysés par une culture fongique. Un échantillon était aussi bien positif par le FMEP que par la culture fongique, tandis que l'analyse du deuxième échantillon était défailante. Le FMEP a démontré une sensibilité et une spécificité de 100 % en comparaison à la culture cryptococcique effectuée au moment de l'admission des patients : 18 échantillons étaient positifs tandis que 24 étaient négatifs. Une sensibilité de 96 % (IC 95 % : 83 % à 99 %) était attribuée au FMEP pour la détection de *Cryptococcus* à 100 UFC/ml et plus. Un résultat négatif de FMEP présageait une valeur prédictive à 95 % pour qu'une culture quantitative de LCR préalablement testée positive à l'analyse d'antigène cryptococcique contienne 100 UFC/ml et moins, ou qu'elle soit stérile [Rhein *et al.*, 2016].

Par ailleurs, les résultats du FMEP obtenus chez les patients ayant reçu un traitement antifongique avaient une valeur prédictive négative de 71 % pour la stérilité des échantillons [Rhein *et al.*, 2016]. En d'autres termes, 29 % des échantillons qui contiendraient le *Cryptococcus* seraient détectables [Rhein *et al.*, 2016].

Selon les auteurs, le FMEP est adéquat pour la détection du *Cryptococcus* surtout chez les patients ayant un historique de cryptococcose. De plus, les auteurs soulignent l'évaluation rapide de la stérilité des échantillons de LCR qui jouerait un rôle potentiel pour délimiter la durée d'un traitement antifongique et le temps d'hospitalisation. L'augmentation du nombre d'agents pathogènes détectables surtout dans les populations immunodéprimées pourrait augmenter l'utilité du FMEP. Toutefois, l'efficacité de cette technologie pourrait davantage être étayée par d'autres évaluations [Rhein *et al.*, 2016].

5.2 Valeur pronostique

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

5.4 Validité analytique

Description de la performance analytique du FilmArray^{MC} ME Panel

Lors d'une évaluation clinique prospective du FilmArray^{MC} ME Panel (FMEP), 1 643 échantillons de LCR prélevés par ponction lombaire ont été récoltés et testés dans 11 sites d'étude. Les échantillons inclus furent aussitôt congelés après leur prélèvement en vue d'être ultérieurement analysés au laboratoire source [Leber *et al.*, 2016].

Au total, 83 échantillons ont été exclus parce qu'ils ne remplissaient pas tous les critères d'inclusion après inscription. Des 1 560 échantillons finaux, 545 (35 %) ont été préalablement congelés avant d'être testés. Les performances du FMEP ont été évaluées en comparant les résultats de test FMEP pour chaque membre du panel aux résultats obtenus avec les méthodes de comparaison adéquates. Le nombre et le pourcentage de résultats positifs tels que déterminés par le FMEP sont présentés dans le tableau 5 [Leber *et al.*, 2016].

Tableau 5 Résumé des valeurs obtenues pour l'évaluation clinique prospective d'échantillons grâce au FilmArray^{MC} ME Panel

ORGANISMES DÉTECTÉS	ÉCHANTILLONS ANALYSÉS	
	TOTAL (n = 1 560)	POSITIFS* (n = 136) (%)
Bactéries		
<i>E. coli</i> K1	3 (0,2 %)	2,2
<i>H. influenzae</i>	2 (0,1 %)	1,5
<i>L. monocytogenes</i>	0 (0 %)	0,0
<i>N. meningitidis</i>	0 (0,0 %)	0,0
<i>S. agalactiae</i>	1 (0,1 %)	0,7
<i>S. pneumoniae</i>	16 (1,0 %)	11,8
Virus		
CMV	6 (0,4 %)	4,4
EV	51 (3,3 %)	37,5
HSV-1	4 (0,3 %)	2,9
HSV-2	12 (0,8 %)	8,8
HHV-6	22 (1,4 %)	16,2
HPeV	12 (0,8 %)	8,8
VZV	7 (0,4 %)	5,1
Levure		
<i>C. neoformans/gattii</i>	5 (0,3 %)	3,7

Source : Manuel d'utilisation du FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite (ME) Panel, [Leber *et al.*, 2016]

Abréviations : CMV : cytomégalovirus ; EV : entérovirus ; HHV-6 : virus de l'herpès humain type 6 ; HPeV : paréchéovirus humain ; HSV 1 et 2 : virus de l'herpès simplex de type 1 et 2 ; VZV : virus varicelle-zona.

* : les échantillons positifs sont ceux où au moins un microorganisme a été détecté.

Détection et codétection des agents pathogènes par le FilmArray^{MC} ME Panel

Dans l'ensemble, le FMEP a détecté au moins un organisme sur un total de 136 échantillons prospectifs (taux de positivité de 8,7 %). Le taux de réussite global du test FMEP lors du premier test de ces échantillons était de 98,0 %, soit 1 560 échantillons sur 1 577. Des 17 tests qui n'étaient pas concluants, 11 ne l'étaient pas en raison des tests incomplets, et 6 en raison d'échec des contrôles. Aucune fuite n'a été observée au niveau des cassettes. Un total de cinq échantillons comportait diverses détections de microorganismes recherchés. Deux agents pathogènes étaient rapportés par détection à multiples candidats, dont au moins un n'avait pas été détecté par la méthode de référence (tableau 6). En d'autres termes,

chacun de ces échantillons contenait au moins un résultat faussement positif [Leber *et al.*, 2016].

Tableau 6 Combinaisons de codétection telle que déterminée par le FilmArray^{MC} ME Panel

CO-DÉTECTION PAR LE FilmArray ^{MC} ME Panel	ÉCHANTILLONS (TOTAL : n = 5)	MICROORGANISMES NON DÉTECTÉS PAR LE COMPARATEUR*
CMV + <i>S. pneumoniae</i>	1	CMV
EV + HPeV	1	EV
HSV-1 + HHV-6	1	HSV-1
HSV-2 + <i>S. agalactiae</i>	1	<i>S. agalactiae</i>
<i>S. pneumoniae</i> + VZV	1	<i>S. pneumoniae</i> , VZV

Source : Manuel d'utilisation du FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite (ME) Panel

Abréviations : CMV : cytomégalovirus ; EV : entérovirus ; HHV6 : virus de l'herpès humain de type 6 ; HPeV : paréchéovirus ; HSV 1 et 2 : virus de l'herpès simplex de type 1 et 2 ; VZV : virus varicelle-zona ; S : *Streptococcus*

Notes tableau : * : Ces microorganismes n'ont pas été détectés par le test comparateur, mais l'étaient par le FilmArray^{MC} ME Panel.

La sensibilité, la spécificité et les pourcentages de concordance positifs et négatifs du FilmArray^{MC} ME Panel en comparaison à d'autres techniques de détection

La comparaison entre le FMEP et la culture a révélé une sensibilité de 100 % pour la détection d'*E. coli* K1 et de *S. pneumoniae* aussi bien dans les échantillons frais que dans ceux qui avaient été préalablement congelés à -70°C pendant 7 jours avant le prélèvement [Leber *et al.*, 2016]. Une sensibilité de 100 % a été rapportée chez 9 des 14 agents pathogènes testés : *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, cytomégalovirus, virus herpès simplex type 1 et 2, paréchéovirus humain, virus varicelle-zona, *Cryptococcus gattii* (tableau 7) [Leber *et al.*, 2016]. La spécificité quant à elle variait de 97,4 % à 100 % aussi bien entre les échantillons frais que congelés. Le pourcentage de concordance positif en comparaison à une PCR avec séquençage bidirectionnel était de 95,7 % [IC95 % : 85,5 à 98,8] pour les entérovirus et de 85, 7 % pour le virus humain de l'herpès de type 6 [Leber *et al.*, 2016]. Une différence de 3,4 % était observée chez les spécimens frais et congelés du virus humain de l'herpès de type 6. D'autre part, le pourcentage de concordance négatif variait entre 99,0 et 100 % pour tous les organismes détectés, et ce, indépendamment de l'état frais ou congelé de l'échantillon (tableau 7).

**Tableau 7 Résumé des performances cliniques prospectives du FilmArray^{MC} ME
Panel relativement à d'autres méthodes de détection**

ANALYTE	SENSIBILITÉ PAR RAPPORT À LA CULTURE		SPÉCIFICITÉ PAR RAPPORT À LA CULTURE	
	VP/(VP+FN)	POURCENTAGE [IC 95 %]	VN/(VN+FP)	POURCENTAGE [IC 95 %]
Bactéries				
<i>E. coli</i> K1	2/2	100 % [34,2 à 100]	1557/1558	99,9 % [99,6 à 100]
<i>H. influenzae</i>	1/1	100 % [-]	1558/1559	99,9 % [99,6 à 100]
<i>L. monocytogenes</i>	0/0	-	1560/1560	100 % [99,8 à 100]
<i>N. meningitidis</i>	0/0	-	1560/1560	100 % [99,8 à 100]
<i>S. agalactiae</i>	0/1	0,0 %	1558/1559	99,9 % [99,6 à 100]
<i>S. pneumoniae</i>	4/4	100 % [51,0 à 100]	1544/1556	99,2 % [98,7 à 99,6]
ANALYTE	POURCENTAGE DE CONCORDANCE POSITIF*		POURCENTAGE DE CONCORDANCE NÉGATIF*	
	VP/(VP+FN)	POURCENTAGE [IC 95 %]	VN/(VN+FP)	POURCENTAGE [IC 95 %]
Virus				
CMV	3/3	100 % [43,9 à 100]	1554/1557	99,8 % [99,4 à 99,9]
EV	44/46	95,7 % [85,5 à 98,8]	1507/1514	99,5 % [99,0 à 99,8]
HSV-1	2/2	100 % [34,2 à 100]	1556/1558	99,9 % [99,5 à 100]
HSV-2	10/10	100 % [72,2 à 100]	1548/1550	99,9 % [99,5 à 100]
HHV-6	18/21	85,7 % [65,4 à 95,0]	1532/1536	99,7 % [99,3 à 99,9]
HPeV	9/9	100 % [70,1 à 100]	1548/1551	99,8 % [99,4 à 99,9]
VZV	4/4	100 % [51,0 à 100]	1553/1556	99,8 % [99,4 à 99,9]
ANALYTE	POURCENTAGE DE CONCORDANCE POSITIF*		POURCENTAGE DE CONCORDANCE NÉGATIF*	
	VP/(VP+FN)	POURCENTAGE [IC 95 %]	VN/(VN+FP)	POURCENTAGE [IC 95 %]
Levure				
<i>C. neoformans/gattii</i>	1/1	100 % [-]	1555/1559	99,7 % [99,3 à 99,9]

Source : Manuel d'utilisation du FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite (ME) Panel, [Leber *et al.*, 2016]

Abréviations : IC : intervalle de confiance; FN : faux négatif; FV : faux positif; VN : vrai négatif; VP : vrai positif

*: Les mesures de performance du pourcentage de concordance positif et négatif se rapportent aux virus et aux levures également détectés par PCR ou par séquençage bidirectionnel.

Divergence des résultats de détection des valeurs attendues

Sur la base des résultats obtenus par les tests comparateurs, des divergences ont été observées pour 43 faux positifs et 6 faux négatifs. Ces valeurs étaient vérifiées en répétant l'analyse grâce au FMEP, le test comparateur ou un test additionnel si la quantité de l'échantillon le permettait. Les résultats du FMEP étaient attestés dans 21 faux positifs (43 %), faisant ainsi passer le pourcentage de concordance positif de 69,5 % à 84,4 % et en maintenant le pourcentage de concordance négatif supérieur à 99 %.

Des 1 556 échantillons testés grâce au FMEP pour le *S. pneumoniae*, 12 faux positifs ont été détectés dont sept n'ont pu être confirmés par un test PCR indépendant [Leber *et al.*, 2016]. Après une révision de données médicales des patients correspondants aux échantillons prélevés, aucun cas de méningite bactérienne ou encéphalite n'a été rapporté. La cause des faux positifs n'a pas été déterminée.

Limite de détection des agents pathogènes testés par le FilmArray^{MC} ME Panel

La limite de détection (LOD) des microorganismes du FMEP a été estimée en testant des dilutions d'échantillons artificiels contenant des concentrations connues d'un à cinq organismes (bactéries, virus et levures). La confirmation de la LOD a été atteinte en testant 20 répliques d'un échantillon artificiel contenant des microorganismes à leur limite de concentration détectable. Pour chaque microorganisme, la LOD a été fixée en prouvant leur présence dans au moins 19 des 20 répliques testées (tableau 8).

Chez les bactéries et les levures, la LOD est indiquée en unités formatrices de colonie (UFC/ml) ou en cellules/ml et pour la plupart des virus, la LOD est indiquée en unités infectieuses (dose infectieuse pour 50 % de la culture tissulaire ou DICT₅₀/ml). Toutefois, il est à noter que l'UFC/ml est une mesure des cellules viables et peut être une sous-estimation de la quantité de matériel génétique contenu dans l'échantillon, particulièrement pour les bactéries exigeantes comme la *N. meningitidis* et la *S. pneumoniae* [Leber *et al.*, 2016]. De la même façon, la quantification moléculaire est associée à l'efficacité du test et à la caractérisation du modèle standard utilisé pour déterminer les copies/ml.

Tableau 8 Limite de détection pour les agents pathogènes testés par le FilmArray^{MC} ME Panel

MICROORGANISME DÉTECTÉ	LIMITE DE DÉTECTION* (POURCENTAGE DE DÉTECTION)
Bactéries	
<i>E. coli</i> K1	1 x 10 ³ UFC/ml (100 %)
<i>H. influenzae</i>	1 x 10 ³ UFC/ml (100 %)
<i>L. monocytogenes</i>	1 x 10 ³ UFC/ml (100 %)
<i>N. meningitidis</i>	100 UFC/ml :~ 1,80 x 10 ³ copies/ml (95 %)
<i>S. agalactiae</i>	1 x 10 ³ UFC/ml (95 %)
<i>S. pneumoniae</i>	100 cellules/ml :~ 1,50 x 10 ³ copies/ml (95 %)
Virus	
CMV	100 DICT ₅₀ /ml: 4,30 x 10 ³ copies/ml (100 %)
EV (espèces A à D)	5 à 50 DICT ₅₀ /ml (100 %)
HSV-1	250 DICT ₅₀ /ml 1,51 x 10 ³ copies/ml (100 %)
HSV-2	50 DICT ₅₀ /ml; 1,29 x 10 ³ copies/ml (100 %)
HHV-6	1 x 10 ⁴ copies/ml (95 %)
HPeV	500 DICT ₅₀ /ml (95 %)
VZV	0,10 DICT ₅₀ /ml : 1,66 x 10 ³ copies/ml (100 %)
Levures	
<i>C. neoformans/gattii</i>	100 UFC/ml (100 %)

Source : [Leber *et al.*, 2016]; Manuel d'utilisation du FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite (ME) Panel

Abréviations : CMV: cytomégalovirus; DICT₅₀ : dose infectieuse pour 50 % de la culture tissulaire; HHV6 : virus de l'herpès humain de type 6; HPeV : paréchovirus; HSV 1 et 2 : virus de l'herpès simplex de type 1 et 2; VZV : virus varicelle-zona; UFC : unité formatrice de colonie.

* : l'article de Leber et ses collaborateurs [2016] ne rapporte dans son tableau S1 que les limites de détection chez les virus et des levures du FilmArray^{MC} ME Panel. Les limites de détection des bactéries ne sont rapportées uniquement que dans le manuel d'utilisation de la trousse.

Reproductibilité et répétabilité

Les études de reproductibilité multicentriques et multisystèmes ont été effectués sur FilmArray^{MC} et FilmArray^{MC} 2.0 pour déterminer la reproductibilité des résultats obtenus avec le FMEP [BioFire, 2016]. Le test de reproductibilité des échantillons artificiels a été effectué sur trois sites de test (FilmArray^{MC}) ou un site avec trois systèmes (FilmArray^{MC} 2.0). L'étude comprenait une plage de variation potentielle introduite par site ou par système, par jour, par opérateur (au moins deux par site ou par système), par lot de cassettes (au moins trois) et par instrument (au moins trois par site et six par système). Les échantillons contenaient diverses combinaisons de neuf microorganismes différents détectables par le FMEP, et chacun dans trois concentrations différentes : négative (absence de microorganisme), faiblement positive (une fois la concentration limite de détection) et modérément positive (trois fois la concentration limite de détection).

Toutefois, uniquement les concentrations négatives de l'herpès virus humain de type 6, de l'herpès virus simplex de type 1 et du *Streptococcus pneumoniae* ont été testées.

Les échantillons congelés ont été testés sur cinq jours pour 90 mesures différentes par échantillon sur FilmArray^{MC} et sur FilmArray^{MC} 2.0. Le FMEP a démontré une reproductibilité similaire sur ces deux systèmes.

Interférence de détection associée à l'utilisation du FilmArray^{MC} ME Panel

Des interférences ou des dommages subis par l'échantillon ont été observés par des niveaux élevés de protéines (concentration en albumine supérieure à 15 mg/ml) ou avec de l'eau de javel à 0,1 % (v/v) [BioFire, 2016]. Les effets de virus et autres microorganismes interférents ou potentiellement compétitifs sur les performances du FMEP ont été évalués. Pour ce faire, des échantillons artificiels contenant des organismes représentatifs du FMEP à des concentrations trois fois plus importantes que celle de leur limite de détection étaient enrichis de fortes concentrations d'autres virus, bactéries ou champignons détectés par le FMEP afin d'évaluer l'inhibition compétitive. Les organismes non détectés par le FMEP étaient ajoutés dans les échantillons afin d'en mesurer l'interférence virale ou microbienne). Aucune inhibition n'a été rapportée pour chacun des organismes du FMEP testés : *Escherichia coli* (K1) ($1,02 \times 10^8$ UFC/ml), entérovirus ($2,19 \times 10^5$ DICT₅₀/ml), virus herpès simplex de type 1 ($1,95 \times 10^6$ DICT₅₀/ml) et le *Cryptococcus neoformans* ($8,10 \times 10^5$ UFC/ml).

De même, aucune interférence n'a été rapportée avec les différents organismes analysés tels que : le virus d'Epstein-Barr, le virus de la grippe A H1N1-2009, le *Propionibacterium acnes*, le *Staphylococcus epidermidis*, l'*Escherichia coli* (hors K1), le *Staphylococcus aureus*, et le *Candida albicans*.

Conclusion des auteurs

Les auteurs soulignent la rapidité (environ 1 h) de l'obtention de résultats par la technologie du FMEP. L'utilisation de cet outil pour l'analyse de 1 560 échantillons de LCR a généré au total plus de 21 000 résultats [Leber *et al.*, 2016]. Selon les auteurs, cette analyse demeure fiable malgré quelques limites dans la détection

bactérienne qui est cependant comparable à celle d'une culture microbiologique au-delà de l'absence de détection du *Neisseria meningitidis* et du *Listeria monocytogenes* au sein de cette cohorte [Leber et al., 2016].

Le FMEP permet la détection d'un large spectre d'agents pathogènes directement à partir du LCR. Toutefois, cette technique devrait être utilisée conjointement à un test de culture [Leber et al., 2016].

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a procédé à une vérification de la trousse FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite Panel (FMEP) :

- en comparant la sensibilité des tests Simplexa HSV et FMEP pour la détection des virus *HSV-1* et *HSV-2*, à celle du TAAN du CHU de Sainte-Justine, utilisé pour confirmer un résultat négatif afin d'arrêter l'acyclovir;
- en comparant la sensibilité du FMEP à celle du TAAN du CHU Sainte-Justine pour la détection du virus de la varicelle–zona (VZV), ceci dans le but de garantir la compétence locale à effectuer cette analyse et de réduire les périodes d'attente sans interrompre les services;
- en effectuant la vérification de la limite de détection (LOD) des agents pathogènes impliqués dans les méningites bactériennes (en particulier le *Streptococcus pneumoniae* et le *Neisseria meningitidis*), ainsi que sa capacité à combler un besoin diagnostique;
- en détectant une souche non capsulée telle que l'*Haemophilus influenzae* qui est fréquemment rencontrée;
- en vérifiant l'ubiquité de détection des entérovirus impliqués dans les infections du système nerveux central.

La validité interne a été vérifiée avec des liquides céphalo-rachidiens (LCR) simulés constitués de solution saline et de dilutions sériées de souches connues et typées, afin d'évaluer la sensibilité et le niveau de détection du test. Les LCR choisis devaient être acellulaires afin de garantir une absence d'interférence avec d'autres agents pathogènes présents dans l'analyse.

Bactéries

Le processus de validation est composé de différentes analyses de LCR simulé contenant deux souches de pneumocoques et d'*Haemophilus influenzae* entre autres agents pathogènes (tableau 9). Les valeurs de référence considérées étaient celles des bactéries *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* et *Listeria monocytogenes*.

Tableau 9 Analyse du liquide céphalo-rachidien simulé avec des agents pathogènes bactériens

DILUTION (CFU/ml)	S. PNEUMONIAE (CQ 59)		N. MENINGITIDIS (CQ 39)		H. INFLUENZAE (CQ 10)		L. MONOCYTOGENES (CQ 142)	
	FMEP	HSJ	FMEP	HSJ	FMEP	HSJ	FMEP	HSJ
1000	Pos 2/2	Pos 2/2			Pos 2/2 (LOD)	Pos 2/2	Pos 2/2 (LOD)	Pos 2/2
100	Pos 1/2	Nég 2/2	Pos 2/2 (LOD)	Pos 2/2	Pos 1/2	Pos 2/2	Pos 1/2	Pos 1/2
10	Nég 2/2	Nég 2/2	Nég 2/2	Pos 1/2	Nég 2/2	Pos 1/2	Nég 2/2	Nég 2/2
DILUTION (CFU/ml)	S. AGALACTIAE (CQ 64)		E. COLI K1		S. PNEUMONIAE SÉROTYPE 19A		H. INFLUENZAE NON CAPSULÉE (SOUCHE CLINIQUE)	
	FMEP	HSJ	BF	HSJ	FMEP	HSJ	FMEP	HSJ
1000	Pos 1/1 (LOD)	Pos 2/2	Pos 1/1 (LOD)	Pos 2/2	Pos	Pos 2/2	Pos (LOD)	Pos 2/2
100	Nég 1/1	Nég 2/2	Pos 1/1	Pos 2/2	Pos (LOD)	Pos 1/2	Pos	Pos 2/2
10		Nég 2/2	Nég 1/1	Nég 2/2	Nég	Nég 2/2	Pos 1/2	Pos 2/2

Source : Document de vérification du FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel fourni par le demandeur.

Abréviations : FMEP: FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel ; CFU : unité formatrice de colonies, de l'anglais *Colony Forming Unit* ; HSJ : réfère au test utilisé à l'CHU Sainte-Justine ; LOD : limite de détection à déterminer ultérieurement ; Nég : résultat négatif ; Pos : résultat positif.

Cryptococcus neoformans

Pour ce qui est de l'analyse de LCR simulé avec le *Cryptococcus neoformans* (ATCC 208821), des dilutions sériées ont été effectuées afin d'obtenir une densité optique de $0,08 = 1,5 \times 10^6$ qui permettrait de vérifier la limite de détection rapportée par le fabricant. Aucun comparateur n'était disponible (tableau 10).

Tableau 10 Analyse du liquide céphalo-rachidien simulé avec le *Cryptococcus neoformans*

DILUTION (CFU/ml)	CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS
1000	Pos
100	Pos (LOD)
10	Nég

Source : Document de vérification du FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel fourni par le demandeur
Abréviations : CFU : unité formatrice de colonies, de l'anglais *Colony Forming Unit*; HSJ : réfère au test utilisé à l'CHU Sainte-Justine ; LOD : limite de détection à déterminer ultérieurement ; ml : millilitre ; Nég : résultat négatif ; Pos : résultat positif.

Virus de l'herpès simplex type 1 et 2

Le FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel rapporte des limites de détection TCID₅₀¹⁶ 250 pour HSV-1 et 50 pour HSV-2, ce qui correspondrait respectivement à $1,51 \times 10^3$ TCID₅₀/ml et $1,29 \times 10^3$ TCID₅₀/ml. Une solution Stock avec une limite de détection de l'amplification par PCR déterminée à 34 cycles (Cp)¹⁷ par une PCR maison du CHUL, a été diluée (1 :2) et testée en parallèle sur Simplexa^{MC} et FilmArray^{MC} (ME) Panel. Les réactions effectuées ont été réalisées à partir des dilutions sériées de HSV-1 et HSV-2 qui étaient respectivement de 1 :5000 et 1 :10 (tableau 11).

Tableau 11 Analyse du liquide céphalo-rachidien simulé avec les virus de l'herpès simplex type 1 et 2

DILUTION	VIRUS DE L'HERPÈS SIMPLEX TYPE 1			VIRUS DE L'HERPÈS SIMPLEX TYPE 2		
	FMEP	SIMPLEXA ^{MC} HSV	PCR MAISON	FMEP	SIMPLEXA ^{MC} HSV	PCR MAISON
1 :128	Pos 2/2	Pos 2/2	Nég	Pos		
1 :256	Pos 1/2	Pos 2/2				
1 :512	Pos 2/2	Pos 1/2				
1 :1024	Nég 2/2	Pos 1/2				
1 :2048		Nég 2/2				
1 :8192	Nég			Pos		
1 :32 768				Pos		
1 :524 288					Pos 2/2	
1 :1 048 576				Pos 2/2	Pos 1/2	Nég
1 :2 097 152				Pos 1/2	Pos 1/2	
1 :4 194 304				Pos 2/2	Nég 2/2	
1 :8 388 608				Nég 2/2		

Source : Document de vérification du FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel fourni par le demandeur
 Abréviations : FMEP : FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel; HSV : virus de l'herpès simplex; Nég : résultat négatif ; PCR : réaction en chaîne par polymérase; Pos : résultat positif.

¹⁶ TCID₅₀ : De l'anglais *calculated 50% tissue culture infective doses*

¹⁷ Cp : De l'anglais *Crossing point* ou *threshold cycle (CT)* est le cycle d'amplification auquel une augmentation notable de la fluorescence est observée.

Virus varicelle-zona (VZV)

Dans le LCR simulé avec le virus varicelle-zona, la trousse FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel rapporte une limite de détection de $1,66 \times 10$ copies/ml. Des dilutions ont été analysées en parallèle au CHU Sainte-Justine et avec la trousse (tableau 12).

Tableau 12 Analyse du liquide céphalo-rachidien simulé avec le virus varicelle-zona

DILUTION	VIRUS VARICELLE-ZONA (SOLUTION STOCK 1/5000)	
	FMEP	HSJ
1 :128	Pos 2/2	Pos 1/2
1 :256	Pos 2/2	Pos 1/2
1 :512	Nég 2/2	Nég 2/2
1 :1024	Nég 2/2	Nég 2/2

Source : Document de vérification du FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel fourni par le demandeur
Abréviations : FMEP : FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel; Nég : résultat négatif; Pos : résultat positif.

Entérovirus

Les souches d'entérovirus humains typées par le laboratoire national de microbiologie seront ultérieurement analysées grâce au FilmArray^{MC} ME Panel et les résultats obtenus seront comparés à ceux du CHU Sainte-Justine.

Validation de la trousse avec des échantillons de LCR cliniques

Des échantillons cliniques de LCR du CHU Sainte-Justine ont été dilués et quantifiés, ensuite testés en un exemplaire grâce à la trousse FilmArray^{MC} (ME) Panel et comparés aux résultats obtenus au CHU Sainte-Justine (tableau 13).

Tableau 13 Résultats comparatifs de deux systèmes d'analyse des échantillons cliniques du LCR

AGENT PATHOGÈNE	ÉCHANTILLONS	CONCENTRATION	HSJ	FMEP
HSV1	1	7,08 x 10 ⁴ c/ml	Pos	
	2	7,08 x 10 ³ c/ml	Pos	
	3	708 c/ml	Pos	Pos
	4	70,8 c/ml	Nég	Pos
	5	7,08 c/ml	Nég	Nég (mais pos HHV6)
	6	0,708 c/ml	Nég	
HSV2	1	3,24 x 10 ⁴ c/ml	Pos	
	2	3,24 x 10 ³ c/ml	Pos	
	3	324 c/ml	Pos	Pos
	4	32,4 c/ml	Nég	Pos

	5	3,24 c/ml	Nég	Nég
	6	0,324 c/ml	Nég	
	7	0,0324 c/ml	Nég	
CMV	1	2,59 x 104 c/ml	Pos	
	2	2,59 x 103 c/ml	Pos	Pos
	3	259 c/ml	Pos	Nég
	4	25,9 c/ml	Pos	Nég
	5	2,59 c/ml	Nég	
	6	0,259 c/ml	Nég	
	7	0,025 9 c/ml	Nég	
VZV	1	5,73 x 104 c/ml	Pos	
	2	5,73 x 103 c/ml	Pos	
	3	573 c/ml	Pos	
	4	57,3 c/ml	Pos	
	5	5,73 c/ml	Pos	Pos
	6	0,573 c/ml	Nég	Pos
	7	0,057 3 c/ml	Nég	Nég
Paréchovirus	1	1/10	Pos	
	2	1/100	Pos	
	3	1/103	Pos	
	4	1/104	Pos	Pos

Source : Document de vérification du FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel fourni par le demandeur

Abréviations : FMEP : FilmArray^{MC} méningite/encéphalite (ME) Panel; CMV : cytomégalovirus; HHV6 : virus de l'herpès humain de type 6; SV : virus de l'herpès simplex; Nég : résultat négatif; PCR : réaction en chaîne par polymérase; Pos : résultat positif ; VZV : virus varicelle-zona.

Évaluation du risque d'interférence

Le demandeur a référé au manuel d'utilisation de la trousse, qui soutient que la majorité des substances évaluées n'a eu aucun effet sur les résultats des tests d'organismes ou des tests de contrôle FilmArray^{MC} ME Panel (voir section 5.4.1). Bien que ces situations ne soient pas représentatives de la réalité clinique, des LCR troubles, hémorragiques et jaunâtres ont été testés prospectivement par le CHU sans déceler aucune anomalie.

Conclusion du demandeur

La performance globale de la trousse a été jugée satisfaisante pour implantation en routine clinique, afin de ne pas avoir d'interruption de service.

6. IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le diagnostic de la méningite et de l'encéphalite par un TAAN multiplexe de 14 pathogènes. 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 14. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse vise les patients avec des symptômes de méningite ou d'encéphalite;
- L'analyse proposée par le demandeur permettrait le remplacement complet des analyses suivantes réalisées au CHU de Québec :
 - TAAN entérovirus sur LCR (code 45038). La valeur pondérée est de 34;
 - TAAN multiplexe 5 (*S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *L. monocytogenes*, *H. influenzae* type b) sur LCR pour le diagnostic de la méningite bactérienne (code 45076). La valeur pondérée de cette analyse est de 127;
- Elle permettrait aussi le remplacement partiel des analyses suivantes réalisées au CHU de Québec :
 - TAAN herpès simplex type 1 ou 2 (HSV1 ou HSV2) (trousse non homologuée ou test développé par le laboratoire) sur spécimen clinique (code 46064). La valeur pondérée de cette analyse est de 34;
 - TAAN *Varicella-Zoster* (VZV) sur spécimen clinique (code 45110). La valeur pondérée de cette analyse est de 100;
- L'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec en 2015-2016;
- Selon la plus récente mise à jour du bilan démographique du Québec de l'Institut de la statistique du Québec, le taux d'accroissement de la population était de 0,61 % en 2015;
- Il est anticipé que 689, 693 et 697 analyses seraient réalisées au cours de chacune des trois prochaines années, respectivement;
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois;
- La valeur pondérée utilisée est de 161,59.

Tableau 14 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le diagnostic de la méningite et de l'encéphalite par un TAAN multiplexe de 14 pathogènes

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses TAAN 14 pathogènes	689	693	697	2 079
Impact brut	111 336 \$	111 982 \$	112 628 \$	335 946 \$
Impact net*	74 242 \$	74 686 \$	75 069 \$	223 997 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			194 808 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			252 375 \$

* L'impact net considère le remplacement complet des analyses 45038 et 45076 et le remplacement partiel des analyses 45064 et 45110 par la nouvelle analyse proposée. Cela permettrait une réduction de coûts d'environ 37 000 \$ par année, soit environ 111 000 \$ pour le total des trois premières années pour le CHU de Québec.

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le diagnostic de la méningite et de l'encéphalite grâce à un panel de 14 pathogènes par TAAN multiplexe pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 336 000 \$ (impact brut) pour le total des trois premières années. Toutefois, en considérant que certaines analyses seraient complètement et partiellement remplacées, ces coûts seraient plutôt estimés à environ 224 000 \$.

Par ailleurs, selon les experts consultés, compte tenu du court temps de réponse attendu, une prise en charge plus rapide des patients pourrait être observée. Cela permettrait notamment de réduire les coûts liés à l'admission et à l'hospitalisation des patients de même que ceux liés aux traitements médicamenteux qu'ils pourraient recevoir. Ainsi, les experts sont d'avis que ces réductions de coûts pourraient être plus importantes que les coûts liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire*.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Différents enjeux organisationnels associés à l'utilisation du FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite Panel ont été identifiés :

- Le raccourcissement du temps de réponse;
- La nécessité de confirmer les résultats générés par le FilmArray^{MC} Méningite/Encéphalite Panel en se servant d'une analyse conventionnelle de laboratoire;
- La conservation et la stabilité des échantillons du liquide céphalo-rachidien;
- La capacité d'identifier des agents pathogènes préalablement non détectés par culture ou autre analyse conventionnelle.

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

US Food and Drug Administration (FDA)

La FDA reconnaît le FilmArray^{MC} ME Panel comme étant un support à l'établissement du diagnostic des infections du système nerveux central; notamment chez les patients présentant des signes ou symptômes de méningite ou d'encéphalite. Cet outil diagnostique doit toutefois être utilisé en conjonction avec les observations cliniques et les résultats de tests de laboratoires [FDA, 2015]. Par ailleurs, elle souligne la rapidité de détection de plusieurs agents pathogènes à partir d'un seul échantillon du liquide céphalo-rachidien, qui permettrait au personnel traitant d'établir promptement un diagnostic avec un choix de traitement plus éclairé [FDA, 2015].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

TAAN multiplexe de 14 agents pathogènes pour un diagnostic de méningite ou d'encéphalite à partir du liquide céphalo-rachidien

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 reconnaissent la pertinence clinique et la validité de l'analyse au regard des données publiées et présentées en appui.
- ✓ L'accessibilité au test, le temps de réponse ainsi que la qualité des analyses réalisées constituent des enjeux majeurs pour les membres du comité. Le comité considère 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 performance analytique préalablement à sa désignation.
- ✓ Les membres considèrent qu'il serait utile de disposer d'un algorithme d'utilisation de la culture et de l'analyse proposée. Ils souhaitent que le demandeur collige en continu les données de performance analytique.

RÉFÉRENCES

- Arora HS, Asmar BI, Salimnia H, Agarwal P, Chawla S, Abdel-Haq N. Enhanced Identification of Group B Streptococcus and Escherichia Coli in Young Infants with Meningitis Using the Biofire Filmarray Meningitis/Encephalitis Panel. *The Pediatric infectious disease journal* 2017;36(7):685-7.
- BioFire D, LLC. FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel : Manuel d'utilisation. Salt Lake City : 2016.
- FDA. Evaluation of automatic ClassIII Designation - De novo Request. Silver Spring :
: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm466360.htm>; Regulation number: 21 CFR 8663970 2015;Public health services.
- Graf EH, Farquharson MV, Cardenas AM. Comparative evaluation of the FilmArray meningitis/encephalitis molecular panel in a pediatric population. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2017;87(1):92-4.
- Hanson KE, Slechta ES, Killpack JA, Heyrend C, Lunt T, Daly JA, et al. Preclinical Assessment of a Fully Automated Multiplex PCR Panel for Detection of Central Nervous System Pathogens. *J Clin Microbiol* 2016;54(3):785-7.
- Launes C, Casas-Alba D, Fortuny C, Valero-Rello A, Cabrerizo M, Munoz-Almagro C. Utility of FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel during Outbreak of Brainstem Encephalitis Caused by Enterovirus in Catalonia in 2016. *J Clin Microbiol* 2017;55(1):336-8.
- Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat J-M, Cullison J, Daly J, Holt S, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol* 2016;54(9):2251-61.
- Messacar K, Breazeale G, Robinson CC, Dominguez SR. Potential clinical impact of the film array meningitis encephalitis panel in children with suspected central nervous system infections. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2016;86(1):118-20.
- Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, et al. Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2016;84(3):268-73.
- Wootton SH, Aguilera E, Salazar L, Hemmert AC, Hasbun R. Enhancing pathogen identification in patients with meningitis and a negative Gram stain using the BioFire FilmArray() Meningitis/Encephalitis panel. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 2016;15(101152152):26.

ANALYSE DU TEST RESPIRATOIRE À L'URÉE MARQUÉE AU CARBONE 13 PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE À RATIOS ISOTOPIQUES POUR LA DÉTECTION DE *H. PYLORI*

(RÉFÉRENCE - 2013.03.003.1R)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital Saint-Luc du CHUM

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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, l'expert consulté est :

- **D^r Carlo Fallone**, interniste gastroentérologue à l'Hôpital Royal Victoria du Centre universitaire de santé McGill.

1.4 Retour sur l'évaluation précédente

Le présent document est une réévaluation de l'analyse du test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 par spectrométrie de masse à ratios isotopiques pour la détection de *H. pylori* transmis au ministre le 31 octobre 2013.

L'Institut national d'excellence en santé et services sociaux (INESSS) avait recommandé une réévaluation de l'analyse en stipulant que :

- Deux techniques d'analyse du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C (spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI) et spectroscopie infrarouge non dispersive (SIRND)) ont été évaluées et jugées équivalentes;
- La validité clinique et technique du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C est démontrée;
- La valeur pondérée de l'analyse doit être recalculée pour tenir compte des différentes techniques d'analyse utilisées et considérant que le code 70019 (prélèvement du test respiratoire de la détection de l'*Helicobacter pylori* à l'urée marquée au carbone 13) est déjà dans le *Répertoire* avec une valeur pondérée de 23,0;
- Il serait utile de disposer d'un algorithme d'utilisation au Québec comprenant le test sérologique, la recherche d'antigènes bactériens dans les selles et le TRU ^{14}C afin d'avoir un portrait global de l'utilisation de ces analyses dans les différentes situations cliniques, pour les adultes et les enfants.

2. RÉSUMÉ

L'infection à *Helicobacter pylori* peut mener à divers désordres comme la gastrite, l'ulcère gastroduodéal, l'adénocarcinome de l'estomac et le lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses de l'estomac. La prévalence de l'infection à *H. pylori* au Canada est estimée à 7,1 % chez les enfants de 5 ans à 18 ans et à 30 % chez les adultes.

L'infection à *H. pylori* peut être détectée par des analyses non invasives sérologiques et de recherche d'antigènes bactériens dans les selles ainsi que par le test respiratoire à l'urée marquée au ^{14}C (TRU ^{14}C) à l'aide d'une technique radiométrique en médecine nucléaire.

Analyse proposée et avantages évoqués

Le test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C (TRU ^{13}C) est plus performant que la sérologie pour la détection d'*H. pylori* tant pour diagnostiquer l'infection que pour confirmer son éradication post-traitement. Le TRU ^{13}C et le TRU ^{14}C ont généralement une efficacité équivalente, mais le ^{14}C est radioactif et doit être réalisé dans un centre disposant d'un service de médecine nucléaire, ce qui restreint son accessibilité.

Valeur diagnostique d'une infection à *H. pylori*

Trois revues systématiques avec méta-analyse évaluent la performance diagnostique du test respiratoire à l'urée. Celles-ci démontrent que :

- le TRU¹³C a une performance élevée pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* chez les patients dyspeptiques adultes et pédiatriques;
- le TRU¹³C présente une spécificité plus élevée que l'analyse sérologique.

Valeur pour confirmer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement

Quatre études prospectives démontrent que le TRU¹³C est une méthode non invasive performante pour confirmer l'éradication post-traitement d'*H. pylori*.

Validité analytique

Une étude réalisée au Québec a montré que le TRU¹³C est précis pour détecter l'infection à *H. pylori* et procure généralement des résultats clairement positifs ou négatifs pour le clinicien.

Le laboratoire de l'Hôpital Saint-Luc utilise la trousse Dia13-Helico^{MC} Breath Test Kit du fabricant RAD Diagnostics et a validé la concordance de l'analyse par spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI) localement avec l'analyse offerte par RAD Diagnostics.

Impacts budgétaires.

Deux scénarios sont proposés. Le premier considère la volumétrie actuellement réalisée au CHUM, soit 1 300, 1 400 et 1 500 analyses par an, ce qui implique des coûts supplémentaires d'environ 170 000 \$ sur les 3 premières années (considérant un coût par test de 40 \$).

Le deuxième scénario considère le déploiement de l'analyse au niveau provincial et le remplacement d'une partie des tests sérologiques. Ainsi 5 000, 7 500 et 10 000 tests pourraient être réalisés au cours des trois prochaines années, ce qui implique des coûts supplémentaires d'environ 900 000 \$ sur les 3 premières années.

Enjeux

L'approvisionnement en urée marquée au ¹⁴C au Québec peut constituer un enjeu.

L'accessibilité à un service de médecine nucléaire pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori* peut constituer un enjeu pour les patients en attente d'évaluation de la dyspepsie.

La dose de radiation associée au test respiratoire à l'urée marquée au ¹⁴C équivaut à 11 heures de radiation ambiante, soit plus de 1 000 fois inférieures à la dose de radiation fœtale considérée tératogène.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

Un consensus d'experts internationaux, des agences d'évaluations des technologies et des associations médicales reconnaissent la performance du TRU¹³C et

recommandent son usage pour diagnostiquer l'infection et confirmer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement.

3. ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Analyse du test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 (^{13}C) par spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI) pour la détection de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

3.2 Description de la méthode

Le test respiratoire à l'urée marquée au carbone ^{13}C (TRU ^{13}C) destiné à la détection d'*H. pylori* est basé sur le principe que, lorsque cette bactérie est présente dans l'estomac d'un individu et que ce dernier ingère de l'urée marquée au ^{13}C , ladite bactérie transforme cette urée en $^{13}\text{CO}_2$ et en ammoniacque (NH_3), et ce, grâce à l'action de son abondante uréase. La réaction enzymatique a lieu dans la couche de mucus où se trouve *H. pylori* et le $^{13}\text{CO}_2$ produit se diffuse dans les cellules épithéliales puis dans le sang et il est éliminé par les poumons [Wang *et al.*, 2013] (figure 1).

Un premier échantillon d'air exhalé par le patient est prélevé au temps 0 ($T = 0$) et un deuxième est prélevé une demi-heure après ($T = 30$). Les échantillons sont ensuite analysés par SMRI ou à l'aide d'autres technologies comme la spectroscopie infrarouge non dispersive (SIRND) ou l'analyse assistée par laser (LARA) [Gisbert et Pajares, 2004].

Le résultat de l'analyse de chaque échantillon est le delta (δ), exprimé en partie par millier (‰), qui représente la différence relative entre le ratio isotopique de l'échantillon et celui d'une substance de référence¹⁹. La différence entre les δ des échantillons ($T = 30$ et $T = 0$) d'un même patient représente le *delta over baseline* (DOB). Le résultat final du test est généralement considéré comme positif lorsque le DOB est supérieur à 5 ‰ [Gisbert et Pajares, 2004].

¹⁸ Un élément du tableau périodique peut présenter des atomes de masses différentes, appelés isotopes. Par exemple, la majorité du carbone dans la nature possède une masse atomique de 12, mais il existe du carbone de masse 13 (carbone 13 ou ^{13}C) et du carbone de masse 14 (carbone 14 ou ^{14}C). Informations tirées du site internet de l'Université Le Mans le 16 août 2017 à l'adresse : res-nlp.univ-lemans.fr/NLP_C_M13_G02/co/grain07.html.

¹⁹ $\delta = 1000(R_{\text{éch}} - R_{\text{réf}})/R_{\text{réf}}$. $R_{\text{éch}}$ est le ratio $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ dans l'échantillon et $R_{\text{réf}}$ est le ratio $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ dans une substance de référence [Wang *et al.*, 2013; Verkouteren *et al.*, 1995].

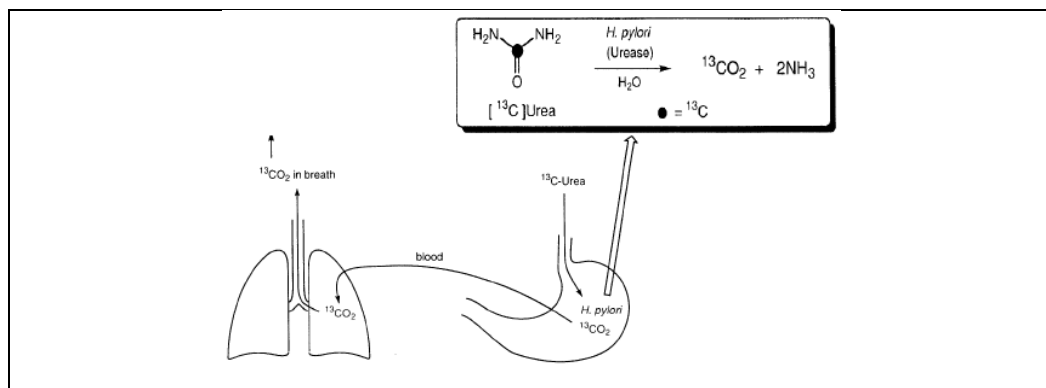


Figure 1 Principe du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C pour la détection d'*H. pylori*

Source : Kajiwara et al. [1997]

La SMRI est une spécialisation de la spectrométrie de masse, dont le principe est de séparer des ions en fonction de leur masse et de leur charge. Comme le montre la figure 2, l'échantillon à examiner est introduit²⁰ dans une source d'ionisation. Les molécules de l'échantillon sont alors ionisées (par un bombardement électronique) puis accélérées. Les détecteurs trient les ions selon leur masse (masse 44 pour le $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$, masse 45 pour le $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$, etc.). Ces différents ions parcourent, dans le champ magnétique, des trajectoires circulaires différentes dont les rayons dépendent du rapport masse sur charge. L'intensité des signaux est ainsi mesurée de façon spécifique et elle révèle le ratio $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ de l'échantillon [Elbast et Brazier, 1999; Brazier, 1997]. Selon l'information fournie dans la demande, la SMRI est une analyse semi-quantitative.

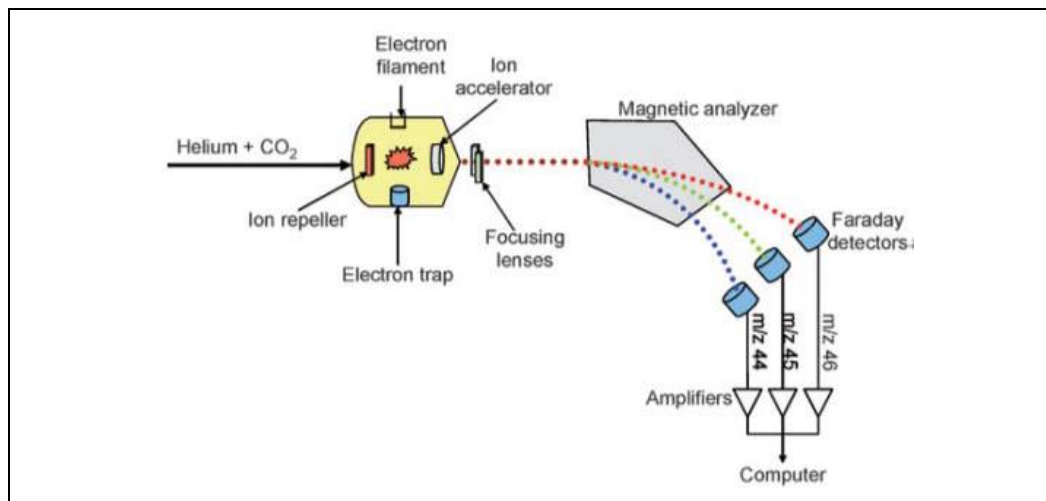


Figure 2 Fonctionnement d'un spectromètre de masse à ratios isotopiques

Source : Muccio et Jackson [2009]

²⁰ L'un des dispositifs d'introduction de l'échantillon les plus communs est un chromatographe en phase gazeuse qui permet la séparation des entités d'un mélange avant analyse [Muccio et Jackson, 2009].

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Selon l'information fournie par le demandeur, le TRU¹³C est pratiqué à l'aide de la trousse Dia13-Helico^{MC} de la compagnie RAD Diagnostics. Tout d'abord, le patient à jeun (depuis au moins 3 heures) doit boire une boisson à base d'acide citrique puis souffler, avec une paille, dans deux éprouvettes. Ensuite, il doit boire une autre boisson à base d'acide citrique dans laquelle l'urée marquée au ¹³C a été dissoute, puis attendre 30 minutes. Enfin, il doit souffler à nouveau, avec une paille, dans deux autres éprouvettes. En plus d'être à jeun, le patient doit se préparer en suivant des directives relatives à la consommation de certains médicaments²¹.

Le prélèvement doit être fait avec les éprouvettes de la trousse, lesquelles, après coup, doivent être fermées hermétiquement puis conservées et acheminées à la température ambiante. Ainsi, les échantillons peuvent être prélevés puis envoyés par la poste à l'établissement qui en fera l'analyse par SMRI. Ces échantillons sont en effet stables pour de longues périodes (5 semaines) [Jordaan et Laurens, 2008].

Dans le cas présent, le prélèvement est effectué au centre de prélèvements du CHUM ou celui de n'importe quel autre centre hospitalier du Québec. Le prélèvement est reçu au CHUM et envoyé au laboratoire du secteur métabolisme où l'analyse sera effectuée.

Selon l'information fournie dans la demande, l'analyse par SMRI des échantillons reçus sera pratiquée une fois par semaine et le temps de réponse sera d'une semaine.

3.4 Société ou concepteur

La trousse Dia13-Helico^{MC} Breath Test Kit est fabriquée par RAD Diagnostics.

Le protocole d'analyse par SMRI est fourni par le demandeur.

3.5 Homologation

La trousse Dia13-Helico^{MC} Breath Test Kit du fabricant RAD Diagnostics a été homologuée par Santé Canada en 2004 et porte le numéro 64105²².

3.6 Valeurs pondérées :

- Analyse : 4,07
- Prélèvement : 36,08

Le demandeur propose une mise à jour de la valeur pondérée du code 70 019
« Prélèvement du test respiratoire de la détection de l'*Helicobacter pylori* à l'urée

²¹ Le patient ne doit avoir consommé ni antibiotiques dans les 4 semaines précédant le test, ni inhibiteurs de pompe à protons dans les 2 semaines précédant le test, ni antiacides dans la semaine précédant le test. Informations tirées du site internet du CHUM le 16 août 2017 à l'adresse : https://labo.chumontreal.qc.ca/system/files/annexes/A7Bi_.pdf.

²² Informations sur les instruments médicaux homologués en vigueur tirées du site internet de Santé Canada consulté le 16 août 2017 à l'adresse : <https://produits-sante.canada.ca/mdall-limh/switchlocale.do?lang=fr&url=t.licence.type>.

marquée au carbone 13 » actuellement au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*). Ce dernier a actuellement une valeur pondérée de 23,0.

4. CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients de moins de 50 ans qui souffrent de dyspepsie sans symptôme alarmant²³ pour :

- le diagnostic de l'infection à *H. pylori*;
- la confirmation de l'éradication d'*H. pylori*.

4.2 Description de la maladie visée

L'infection à *Helicobacter pylori* est la plupart du temps acquise pendant l'enfance et est habituellement asymptomatique [Neale et Logan, 1995]. Cette infection peut mener à divers désordres comme l'inflammation de l'estomac (gastrite), l'ulcère gastroduodénal (de 10 % à 20 % des cas), l'adénocarcinome de l'estomac distal (de 1 % à 2 % des cas) et le lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses de l'estomac [Kusters *et al.*, 2006; Parsonnet *et al.*, 1994; Nomura *et al.*, 1991; Parsonnet *et al.*, 1991]. La prévalence de l'infection à *H. pylori* au Canada est estimée à 7,1 % chez les enfants de 5 ans à 18 ans et à 30 % chez les adultes d'après la World Gastroenterology Organization [Hunt *et al.*, 2011].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le volume d'analyses anticipé par le demandeur est de 1 300 à 1 500 tests par an pour le Québec si aucun changement de pratique ne survient.

4.4 Brève description de la situation actuelle

La SMRI pour l'analyse du test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C pour la détection de *H. pylori* est déjà réalisée au laboratoire de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM depuis 2006-2007. Cette analyse était alors présente au *Répertoire* (code 40100 – valeur pondérée : 40 unités pour le prélèvement et l'analyse), mais a été retirée en 2008-2009. Selon le demandeur, il est possible qu'elle ait été retirée parce que la demande est demeurée faible pendant quelques années après son introduction. L'analyse proposée est complémentaire au « Prélèvement du test respiratoire de la détection de l'*Helicobacter pylori* à l'urée marquée au carbone 13 », code 70019.

En plus du TRU¹³C, l'infection à *H. pylori* peut être détectée par des analyses non invasives sérologiques et de recherche d'antigènes bactériens dans les selles ainsi

²³ Symptômes alarmants : saignement, anémie, perte de poids inexplicquée (> 10 %), vomissements persistants, antécédent familial de cancer gastro-intestinal, ulcère gastroduodénal antérieur documenté, etc.) [Talley et Vakil, 2005].

que par le test respiratoire à l'urée marquée au ^{14}C (TRU ^{14}C) à l'aide d'une technique radiométrique²⁴ en médecine nucléaire.

4.5 Données médico-administratives

Les données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) sur le volume d'activités indiquent que le prélèvement associé au TRU ^{13}C a été réalisé à 404 et 488 reprises en 2014-2015 et 2015-2016, respectivement. Pour les mêmes périodes, le laboratoire du demandeur a réalisé 1 250 et 1 160 analyses par SMRI sur des échantillons de TRU ^{13}C . Les données relatives aux différentes analyses non invasives pour la détection d'*H. pylori* sont présentées au tableau 1.

Tableau 1 Données des analyses relatives à la détection d'*H. pylori* par des méthodes non invasives

ANALYSE	CODE	VALEUR PONDÉRÉE	2014-2015		2015-2016	
			VOLUME	VALEUR ANNUELLE (\$)	VOLUME	VALEUR ANNUELLE (\$)
Sérologie	40 690	6,2	55 226	331 356	56 264	348 837
Antigène dans les selles	40 005	32	1 724	55 168	2 339	74 848
Prél. ^{13}C	70 019	23	404	9 292	488	11 224
TRU ^{13}C *	-	4,07†	1 250	5 088	1 160	4 721

Abbreviations : Prél. : Prélèvement; TRU ^{13}C : test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C .

* Données provenant du centre demandeur seulement.

† À laquelle s'ajoute la valeur du prélèvement de 36,08 d'après le calcul du demandeur.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, le TRU ^{13}C pour la détection d'*H. pylori* est plus performant que la sérologie (*Helicobacter pylori* IgG ou anticorps totaux) pour le diagnostic, mais surtout pour le suivi de l'efficacité du traitement. En effet, le TRU ^{13}C par SMRI détecte uniquement l'uréase active d'*H. pylori*, contrairement à la sérologie, une analyse indirecte, qui ne permet pas de discriminer entre une infection passée et une infection active [Kalach *et al.*, 1998].

Le TRU ^{13}C et le TRU ^{14}C ont généralement une efficacité équivalente, mais le TRU ^{14}C est radioactif et doit être réalisé dans un centre disposant d'un service de médecine nucléaire, ce qui restreint son accessibilité.

L'obtention d'un rendez-vous serait plus rapide pour le TRU ^{13}C que pour le TRU ^{14}C puisqu'il est prélevé dans un centre de prélèvement au lieu d'un service de médecine nucléaire.²⁵

²⁴ Informations tirées de l'Annexe F – Médecine nucléaire de la circulaire 2017-006 transmise aux établissements de santé le 1^{er} avril 2017, disponible à l'adresse : msssa4.msss.gouv.qc.ca/fr/document/d26ngest.nsf/1f71b4b2831203278525656b0004f8bf/b973fc8332ef30038525812c005bf898?OpenDocument.

À l'échelle internationale, la SMRI constitue l'étalon or pour l'analyse des échantillons de TRU¹³C [Jordaan et Laurens, 2008].

4.7 Assurance qualité

Aucun contrôle externe n'est disponible pour le moment. Le centre demandeur réalise des contrôles externes par échanges d'échantillons en alternance entre son laboratoire et celui de RAD Diagnostics. Il s'agit habituellement de 3 échantillons de patients, dont au moins 1 positif.

5. DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique

La recherche documentaire, réalisée sur un horizon temporel de 10 ans (2007 à 2017), a permis de repérer :

- 3 revues systématiques avec méta-analyse évaluant la performance diagnostique du test respiratoire à l'urée [Ferwana *et al.*, 2015; Ling, 2013; Leal *et al.*, 2011];
- 4 études évaluant la performance du TRU¹³C pour déterminer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement [Manes *et al.*, 2005; Gatta *et al.*, 2003; Bilardi *et al.*, 2002; Perri *et al.*, 2002];
- 1 étude sur l'évolution des valeurs du TRU¹³C post-traitement [Buzas et Szeles, 2008].

5.1.1 Revues systématiques avec méta-analyse évaluant la performance du test respiratoire à l'urée pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori*

Les revues systématiques avec méta-analyse ont évalué la performance du test respiratoire à l'urée indépendamment de la méthode de détection. Le devis des revues systématiques avec méta-analyse est présenté à l'annexe A.

Performance globale du test respiratoire à l'urée pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori* chez les adultes

La première revue systématique avec méta-analyse, réalisée par Ferwana et ses collaborateurs [2015], présente 23 études traitant de 3 999 patients adultes testés par TRU¹³C ou TRU¹⁴C. D'après celle-ci, le test respiratoire à l'urée, basé sur l'isotope ¹³C ou ¹⁴C, relativement au diagnostic d'une infection à *H. pylori* chez l'adulte présente une sensibilité de 96 % (IC95 % : 95 % à 97 %), une spécificité de 93 % (IC95 % : 91 % à 94 %), un rapport de vraisemblance positif de 12,32 (IC95 % : 8,38 à 18,1), un rapport de vraisemblance négatif de 0,05 (IC95 % : 0,03 à

²⁵ Avantage allégué par D^r Carlo Fallone, interniste gastroentérologue à l'Hôpital Royal Victoria du Centre universitaire de santé McGill lors d'un entretien téléphonique le 6 octobre 2017.

0,07) et une aire sous la courbe ROC de 0,985. Le test d'asymétrie de Deeks ne présentait pas d'évidence de biais de publication ($P > 0,05$).

L'hétérogénéité a été déterminée élevée pour la sensibilité et la spécificité, respectivement 72,9 % et 72 %, avec un test Q significatif ($p < 0,05$).

Dans l'objectif d'expliquer l'hétérogénéité rencontrée, Ferwana et ses collaborateurs [2015] ont déterminé la performance selon l'isotope et selon la méthode de détection utilisée. Tant le TRU¹³C que le TRU¹⁴C ont présenté une performance élevée (tableau 2). Le test d'interaction de Bland Altman n'a pas montré de différence statistiquement significative se traduisant ainsi par l'absence d'un effet de sous-groupe ($p = 0,87$). L'analyse des échantillons par infrarouge a été comparée aux autres méthodes. Dans les 2 cas, la performance est demeurée élevée et n'a pas présenté de différence significative. Les analyses de sous-groupe n'ont pas permis de résoudre l'hétérogénéité.

Tableau 2 Performance du test respiratoire à l'urée selon l'isotope du carbone et selon la méthode de détection pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori* chez les adultes

PARAMÈTRES	NOMBRE D'ÉTUDES	SENSIBILITÉ % (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC95 %)
Isotope du carbone :			
¹³ C	14	96 (95 à 97)	94 (92 à 95)
¹⁴ C	9	97 (95 à 98)	91 (87 à 94)
Méthode de détection :			
Infrarouge	5	95 (93 à 96)	93 (91 à 95)
Autres méthodes	18	97 (96 à 98)	93 (91 à 95)

Source : [Ferwana *et al.*, 2015]

Abréviation : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %.

Les auteurs concluent que le test respiratoire à l'urée a une performance élevée pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* chez les adultes dyspeptiques. Ils ont toutefois remarqué une hétérogénéité significative qui limite la fiabilité des analyses et considèrent que leurs résultats devraient être interprétés avec précaution [Ferwana *et al.*, 2015].

Performance du TRU¹³C pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori*

La deuxième revue systématique avec méta-analyse, réalisée par Ling et ses collaborateurs [2013], est publiée sous la forme d'un rapport d'évaluation des technologies par Health Quality Ontario (HQP) et présente 19 études évaluant la performance diagnostique du TRU¹³C chez 4 168 patients adultes. Toutes les études incluses ont été réalisées chez des personnes atteintes d'une dyspepsie ulcéroforme non explorée. D'après celle-ci, le TRU¹³C a une sensibilité de 98,1 % (IC95 % : 96,3 % à 99,0 %), une spécificité de 95,1 % (IC95 % : 90,3 % à 97,6 %), un rapport de vraisemblance positif de 19,9 (IC95 % : 9,9 à 39,9), un rapport de vraisemblance négatif de 0,02 (IC95 % : 0,01 à 0,04) et une aire sous la courbe ROC de 0,988 (IC95 % : 0,974 à 1,00). De plus, 6 études retenues par Ling et ses

collaborateurs comparaient directement la performance diagnostique du TRU¹³C et celle de la sérologie (tableau 3).

Tableau 3 Comparaison de la performance du TRU¹³C et de la sérologie pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori*

PARAMÈTRES DE PERFORMANCE	TRU ¹³ C (19 ÉTUDES)	6 ÉTUDES COMPARANT LE TRU ¹³ C ET LA SÉROLOGIE	
		TRU ¹³ C	SÉROLOGIE
Sensibilité % (IC95 %)	98,1 (96,3 à 99,0)	95,0 (90,1 à 97,5)	92,9 (82,6 à 97,3)
Spécificité % (IC95 %)	95,1 (90,3 à 97,6)	91,6 (81,3 à 96,4)	71,1 (63,8 à 77,5)
RVP (IC95 %)	19,9 (9,9 à 39,9)	11,3 (4,8 à 26,6)	3,2 (2,4 à 4,3)
RVN (IC95 %)	0,02 (0,01 à 0,04)	0,05 (0,03 à 0,11)	0,10 (0,04 à 0,28)
ASC ROC (IC95 %)	0,988 (0,974 à 1,00)	0,973 (0,952 à 0,994)	0,919 (0,837 à 1,00)

Source : [Ling, 2013]

Abréviations : ASC ROC : aire sous la courbe ROC; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP : rapport de vraisemblance positif; TRU¹³C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C.

L'auteur conclut que le TRU¹³C a une sensibilité et une spécificité élevées pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori*. Comparativement à l'analyse sérologique, le TRU¹³C présente une sensibilité équivalente et une spécificité plus élevée. Toutefois, les études incluses présentent aussi une hétérogénéité significative et utilisent différentes méthodes comme standard de référence.

Performance du TRU¹³C pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori* chez les enfants

La troisième revue systématique avec méta-analyse, réalisée par Leal et ses collaborateurs [2011], présente 31 études évaluant la performance diagnostique du TRU¹³C chez 4 037 patients pédiatriques. D'après celle-ci, le TRU¹³C a une sensibilité de 95,9 % (IC95 % : 95,3 % à 96,4 %), une spécificité de 95,7 % (IC95 % : 95,3 % à 96 %), un rapport de vraisemblance positif de 17,4 (IC95 % : 14,6 à 20,7), un rapport de vraisemblance négatif de 0,06 (IC95 % : 0,05 à 0,07) et un rapport des cotes diagnostiques de 250,2 (IC95 % : 120,4 à 520,2)²⁶. La performance du TRU¹³C chez les enfants de 6 ans et moins et de plus de 6 ans est présentée au tableau 4.

²⁶ Le rapport des cotes diagnostiques (ou *diagnostic odds ratio-DOR*) est défini comme étant le ratio entre les probabilités que le test soit positif lorsque l'infection est présente et lorsque l'infection est absente.

Tableau 4 Performance du TRU¹³C pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori* chez les enfants

PARAMÈTRES	PERFORMANCE DIAGNOSTIQUE DU TRU ¹³ C CHEZ LES ENFANTS (IC95 %)		
	TOUS	≤ 6 ANS	> 6 ANS
Nombre d'études	31	21	11
Nombre de patients	2 904	1 401	1 503
Sensibilité (%)	95,9 (95,3 à 96,4)	95,0 (91,5 à 97,4)	96,6 (94,5 à 98,0)
Spécificité (%)	95,7 (95,3 à 96)	93,5 (92,1 à 94,9)	97,7 (96,6 à 98,6)
RVP	17,4 (14,6 à 20,7)	11,7 (8,3 à 16,7)	42,6 (22,2 à 81,9)
RVN	0,06 (0,05 à 0,07)	0,12 (0,08 à 0,18)	0,04 (0,03 à 0,06)
ASC ROC	ND	0,979 5	0,995 1

Source : [Leal *et al.*, 2011]

Abréviation : ASC ROC : aire sous la courbe ROC; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; ND : non déterminé; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP : rapport de vraisemblance positif.

Les résultats de la méta-analyse démontrent que le TRU¹³C présente une bonne performance avec une sensibilité et une spécificité de 95 %. Le TRU¹³C présente une meilleure performance chez les enfants de plus de 6 ans que chez ceux de 6 ans et moins.

5.1.2 Études évaluant la performance du TRU¹³C pour déterminer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement

Quatre études prospectives évaluant la performance du TRU¹³C pour déterminer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement ont été repérées [Manes *et al.*, 2005; Gatta *et al.*, 2003; Bilardi *et al.*, 2002; Perri *et al.*, 2002]. Dans ces études, la performance du TRU¹³C était comparée à celle d'autres méthodes non invasives telles que des tests d'antigène dans les selles basés sur des anticorps polyclonaux (HpSA^{MC} – Meridian Diagnostics) et sur des anticorps monoclonaux (FemtoLab - Connex). Lors de ces études, la confirmation post-traitement de l'éradication a été déterminée par les méthodes invasives nécessitant une endoscopie, soit l'histologie, le test d'uréase rapide et la culture, et ce, au moins 4 semaines après la fin du traitement. Les principales caractéristiques de ces études sont décrites au tableau 5.

Tableau 5 Paramètres des études évaluant la performance du TRU¹³C pour déterminer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement

ÉTUDE	POPULATION	DÉFINITION DE L'ÉRADICATION	MÉTHODES À L'ÉTUDE
[Gatta <i>et al.</i> , 2003]	Patients dyspeptiques infectés par <i>H. pylori</i> et traités	Tous les tests invasifs sont négatifs (culture, histologie, TUR)	TRU ¹³ C (75 mg) TRU ¹³ C (100 mg)
[Bilardi <i>et al.</i> , 2002]			TRU ¹³ C (75 mg) HpSA ^{MC}
[Perri <i>et al.</i> , 2002]	Référés pour tester l'éradication	Tous les tests invasifs sont négatifs (culture, histologie, TUR, IHC)	TRU ¹³ C (75 mg) HpSA ^{MC}
[Manes <i>et al.</i> , 2005]		Culture négative, et histologie ou TUR négatif	TRU ¹³ C (75 mg) HpSA ^{MC} FemtoLab <i>H. pylori</i>

Abréviations : IHC : immunohistochimie; TRU¹³C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C; TUR : test d'uréase rapide.

Suivant le traitement, l'éradication d'*H. pylori* a été obtenue chez 71 % à 80 % des patients selon l'étude. Les données de performance du TRU¹³C pour confirmer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement sont présentées au tableau 6.

Tableau 6 Performance du TRU¹³C pour déterminer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement conformément au diagnostic par des méthodes invasives

ÉTUDE	PATIENTS	SE (%)	SP (%)	VPP (%)	VPN (%)	EXACTITUDE (%)
TRU ¹³ C (75 mg)						
[Gatta <i>et al.</i> , 2003]	109	100	100	100*	100*	100*
[Bilardi <i>et al.</i> , 2002]	100	91	98	95	97	97
[Perri <i>et al.</i> , 2002] [†]	458	98,9	99,4	97,8*	99,7*	99,3*
[Manes <i>et al.</i> , 2005]	325	98,9	99,5	98,9	99,5	99,1
HpSA ^{MC} (test d'antigènes dans les selles avec des anticorps polyclonaux)						
[Bilardi <i>et al.</i> , 2002]	100	87	88	69	96	88
[Perri <i>et al.</i> , 2002] [†]	458	79,8	98,9	94,7*	97,8*	95,1*
[Manes <i>et al.</i> , 2005]	325	73,4	97,8	93,2	90,0	90,7
FemtoLab <i>H. pylori</i> (test d'antigènes dans les selles avec des anticorps monoclonaux)						
[Manes <i>et al.</i> , 2005]	325	88,3	94,8	87,4	95,2	92,9

Abréviations : SE : sensibilité; SP : spécificité; TRU¹³C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C; VPN : valeur prédictive négative; VPP : valeur prédictive positive.

* Ces valeurs de performance ont été calculées à partir des données de l'étude.

† Dans cette étude, l'éradication n'a pas été testée d'emblée par des méthodes invasives. Lorsque les résultats des tests TRU¹³C et HpSA^{MC} étaient concordants, ils ont été considérés comme de vrais positifs et de vrais négatifs. Les résultats discordants ont été validés par les méthodes invasives.

Conclusion

En conclusion, ces études démontrent que le TRU¹³C est une méthode non invasive performante pour confirmer l'éradication d'*H. pylori* post-traitement et semble légèrement supérieure au HpSA.

5.1.3 Évolution des valeurs du TRU¹³C post-traitement

Buzas et Szeles [2008] ont réalisé une étude prospective visant à analyser la variation des valeurs du TRU¹³C obtenue après un premier, un deuxième et un troisième traitement d'éradication d'*H. pylori*. Les patients âgés en moyenne de 50,8 ans $\pm$ 12,5 ans ont été sélectionnés à partir d'un groupe de 686 patients avec un ulcère duodénal positif à *H. pylori* confirmé par endoscopie, histologie et test d'uréase rapide. Le succès ou l'échec du traitement a été déterminé par le TRU¹³C analysé en spectrométrie de masse à sélection d'isotope par infrarouge. Un échec de traitement était défini par un DOB supérieur à 4 ‰.

Après un succès de traitement en 1^{ère} ligne, la valeur moyenne du TRU¹³C était significativement plus faible qu'en cas d'échec (1,3 ‰ [IC95 % : 0,5 ‰ à 2,3 ‰] contre 13,2 ‰ [IC95 % : 7,3 ‰ à 19,19 ‰]; $p = 0,001$). Les patients en échec de traitement ont par la suite reçu un traitement de 2^e ligne. Les données du TRU¹³C sont présentées au tableau 7.

Tableau 7 Résultats du TRU¹³C suivant les différentes lignes de traitements d'*H. pylori*

PRÉTRAITEMENT	POST-TRAITEMENT	P [†]
PATIENTS; TRU ¹³ C ‰ (IC95 ‰)	TRU ¹³ C ‰ (IC95 ‰); P*	
1 ^e ligne de traitement		
Total : 686; ND [‡] ND; ND [‡] 134; ND [‡]	Succès : 1,3 (0,5 à 2,3); ND Échec : 13,2 (7,3 à 19,19); ND	0,001
2 ^e ligne de traitement		
84; 12,4 (9,7 à 15,7) 41; 13,2 (7,3 à 19,1)	Succès : 1,8 (0,9 à 2,5); 0,001 Échec : 19,2 (13,4 à 25,0); 0,03	ND
3 ^e ligne de traitement		
23; 16,2 (13,4 à 19,6) 15; 19,2 (16,2 à 22,4)	Succès : 1,3 (0,8 à 1,8); 0,000 1 Échec : 25,8 (19,8 à 21,8); 0,04	ND

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; ND : non disponible, TRU¹³C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C.

* Différence statistique entre la valeur du TRU¹³C avant et après le traitement.

† Différence statistique entre le groupe en succès et le groupe en échec de traitement.

‡ Données du TRU¹³C non disponibles puisque le diagnostic a été établi par histologie et par test d'uréase rapide.

Les valeurs du TRU¹³C avant le traitement de 2^e ligne étaient plus faibles que celles avant le traitement de 3^e ligne tant dans les cas de succès de traitement (12,4 ‰ [IC95 % : 9,7 ‰ à 15,7 ‰] contre 16,2 ‰ [IC95 % : 13,4 ‰ à 19,6 ‰]; $p = 0,03$) qu'en cas d'échec de traitement (13,2 ‰ [IC95 % : 7,3 ‰ à 19,1 ‰] contre 19,2 ‰ [IC95 % : 16,2 ‰ à 22,4 ‰]; $p : 0,04$).

Conclusion

Les auteurs concluent que les résultats du TRU¹³C suivant des traitements successifs ont tendance à augmenter dans le temps chez les patients en échec de traitement. Selon eux, ce phénomène mérite d'être plus étudié. Il pourrait indiquer

une augmentation de la colonisation, le développement de résistance ou la surexpression du gène de l'uréase [Buzas et Szeles, 2008].

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

La revue de la littérature réalisée sur un horizon de 10 ans (2007 à 2017) a permis d'identifier 2 études primaires évaluant la validité analytique du TRU¹³C par spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI).

Étude réalisée par Charest et Bélair, 2017

Cette étude rétrospective avait pour objectif de comparer la distribution des résultats positifs et négatifs obtenus par le TRU¹³C en SMRI et par le TRU¹⁴C en compteur à scintillation. Elle visait également à vérifier si l'utilisation d'une catégorie indéterminée serait utile et à déterminer quels résultats devraient impliquer une reprise de l'analyse chez un patient.

Les résultats de tous les patients référés pour le TRU¹⁴C entre 2005 et 2009 et pour le TRU¹³C entre 2011 et 2013 ont été compilés rétrospectivement. Afin de rendre les résultats comparables, les valeurs mesurées par les deux méthodes ont été divisées par leur valeur seuil respective. Les résultats obtenus à partir de chacune des méthodes et la conversion permettant de comparer l'éloignement relatif des résultats aux valeurs seuils sont présentés au tableau 8.

Tableau 8 Comparaison de l'étalement des valeurs obtenues par les méthodes TRU¹⁴C et TRU¹³C SMRI

PARAMÈTRES		TRU ¹⁴ C	TRU ¹³ C PAR SMRI
NOMBRE DE PATIENTS		562	454
VALEURS SEUILS		≥ 0,33 cps	> 3,5 ‰
Mesures	Résultats négatifs (moyenne ± écart-type)	0,118 ± 0,050 cps*	0,360 ± 0,293 ‰
	Résultats positifs (moyenne ± écart-type)	2 998 ± 1,719 cps*	20 658 ± 10 359 ‰
Mesures converties	Résultats négatifs (conversion [†] ± écart-type)	0,357 ± 0,150	0,103 ± 0,084
	Résultats positifs (conversion ± écart-type)	9 084 ± 5 210*	5 920 ± 2 960

Abréviations : cps : comptes par secondes; SMRI : spectrométrie de masse à ratios isotopiques; TRU¹³C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C; TRU¹⁴C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹⁴C.

* Données validées avec l'auteur de l'étude D' Mathieu Charest, par courriel le 26 octobre 2017.

† La conversion consiste à : moyenne ± écart-type / valeur seuil.

La comparaison de la distribution des résultats a révélé que les résultats négatifs obtenus avec le TRU¹³C (0,360 ± 0,293 ‰) étaient plus éloignés de la valeur seuil (environ 10 fois plus faibles que la valeur seuil [0,103]) et plus étroitement regroupés autour de la valeur moyenne calculée (variation de 8,4 % de la valeur seuil) que ceux obtenus avec le TRU¹⁴C (0,118 ± 0,050 cps, soit environ 3 fois plus faibles que la valeur seuil [0,357] et avec une variation de 15 % de cette dernière).

Pour le TRU¹⁴C, les résultats entre 0,30 cps et 0,33 cps ont été classés indéterminés (8 patients, 1,42 %), ce qui correspond à une valeur convertie de 0,90 à 1,00 (mesure/valeur seuil). La transposition de ce rapport au TRU¹³C correspond aux résultats entre 3,0 ‰ et 3,5 ‰, soit l'équivalent d'un seul patient classé indéterminé (0,22 %) [Charest et Belair, 2017].

Les auteurs concluent que le TRU¹³C est précis pour détecter l'infection à *H. pylori*, qu'il est sécuritaire et simple pour les patients et procure généralement des résultats clairement positifs ou négatifs pour le clinicien. Finalement, l'usage d'une zone grise permettrait d'améliorer la précision diagnostique du test en considérant indéterminés des résultats près de la valeur seuil (entre 3,0 ‰ et 3,5 ‰ : 1 résultat sur 454 analyses par SMRI).

Étude réalisée par Perets et al., 2016

Cette étude avait pour objectif d'évaluer la reproductibilité du TRU¹³C par SMRI. Les analyses ont été réalisées sur une sélection aléatoire de 202 échantillons positifs (DOB > 3,5 ‰) et de 22 échantillons négatifs (DOB ≤ 3,5 ‰), correspondant à 224 paires de tubes. Chaque paire de tubes (T_{0min} et T_{30min}) a été testée par SMRI à 7 jours, 14 jours, 21 jours et 28 jours après sa collecte. Les échantillons étaient conservés à température ambiante.

La reprise des échantillons a permis de déterminer la reproductibilité des résultats positifs et négatifs et la précision de la mesure du DOB de $^{13}\text{CO}_2$ comparativement au 1^{er} essai (tableau 9).

Tableau 9 Reproductibilité et précision du TRU ^{13}C

SEMAINE (ESSAIS)	204 ÉCHANTILLONS POSITIFS		22 ÉCHANTILLONS NÉGATIFS	
	REPRODUCTIBILITÉ %	PRÉCISION %	REPRODUCTIBILITÉ %	PRÉCISION %
1 ^{ère}	référence	référence	référence	référence
2 ^e	99,0	98,6	100	96,4
3 ^e	97,5	99,2	100	99,2
4 ^e	97,0	96,7	100	98,0

Abréviation : TRU ^{13}C : test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C .

Six échantillons positifs n'étaient plus mesurables par SMRI après 4 séries d'essais engendrant ainsi une reproductibilité de 97,0 %. Les auteurs attribuent cette perte de mesurabilité par une faible concentration de CO_2 dans les tubes ou parce que ces derniers n'auraient pas été scellés adéquatement. Tous les échantillons négatifs sont demeurés mesurables [Perets *et al.*, 2016].

Les auteurs concluent que la conservation pendant 1 mois à température ambiante n'affecte pas la reproductibilité des échantillons ni la précision de la mesure [Perets *et al.*, 2016].

5.5 Données fournies par le demandeur

L'Hôpital Saint-Luc du CHUM réalise le TRU ^{13}C et l'analyse par SMRI depuis 2006. Cet établissement a réalisé 4 360 tests jusqu'en 2015-2016.

Les résultats d'analyses de précisions intra-essais réalisés avec 6 échantillons du gaz de référence (CO_2) sur 23 jours différents ont présenté une déviation de $1,01 \times 10^{-7}$ à $4,05 \times 10^{-7}$ alors que la cible visée était une déviation inférieure à 10×10^{-7} . Ces données sont présentées à l'annexe B.

La comparaison du signal obtenu à 5 quantités de CO_2 différentes a donné un signal (concentration de l'isotope majeur /concentration de l'isotope mineur) d'intensité constante. Ces données sont présentées à l'annexe C.

Les tests de précision intra-essais réalisés avec les échantillons de 35 patients différents sont présentés à l'annexe D.

Les tests de précision inter-essais réalisés avec les échantillons de 5 patients sont présentés à l'annexe E.

La corrélation entre les échantillons de 52 patients testés par laboratoire de l'Hôpital Saint-Luc et par RAD Diagnostics est présentée à l'annexe F.

6. IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse du TRU¹³C par spectrométrie de masse à ratios isotopiques pour la détection d'*H. pylori*. Deux scénarios sont présentés. Le premier considère le maintien de la volumétrie actuellement réalisée au CHUM, alors que le second considère le déploiement de l'analyse au niveau provincial. 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 :

- L'analyse proposée par le demandeur ciblerait les patients de moins de 50 ans souffrant de dyspepsie sans symptôme alarmant pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* et pour la confirmation de son éradication.
- L'analyse proposée pourrait remplacer complètement le TRU¹⁴C pour la détection d'*H. pylori*. Ce test est actuellement réalisé en médecine nucléaire. Aucune donnée médico-administrative concernant le coût ou la volumétrie de cette analyse n'est disponible.
- Il est estimé par le demandeur que l'analyse proposée pourrait remplacer une partie des tests sérologiques *H. pylori*, IgG ou anticorps totaux (code 40690) dont la valeur pondérée est de 6,2.
- Les analyses de sensibilité présentées reflètent l'incertitude concernant la volumétrie anticipée, notamment quant au remplacement des analyses sérologiques.
- L'analyse proposée est actuellement réalisée dans le laboratoire du demandeur qui en effectue environ 1 300 annuellement.
- Si la demande actuelle est maintenue, il est anticipé que 1 300, 1 400 et 1 500 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement. Toutefois, advenant un déploiement plus important de l'analyse à l'échelle provinciale, le demandeur anticipe que 5 000, 7 500 et 10 000 tests pourraient être réalisés au cours des trois prochaines années, respectivement.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 40,15 et se divise en deux volets. La valeur pondérée pour le prélèvement du test est estimée à 36,08 (en remplacement de 23,0 pour le code 70019) alors que celle anticipée pour l'analyse du test est de 4,07.

Tableau 10 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse du test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 par spectrométrie de masse à ratios isotopiques pour la détection de *H. pylori*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario 1 : Maintien de la volumétrie actuelle du CHUM				
Analyses ¹³ C	1 300	1 400	1 500	4 200
Coûts	52 195 \$	56 210 \$	60 225 \$	168 630 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			156 585 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			192 720 \$
Scénario 2 : Déploiement de l'analyse au Québec				
Analyses ¹³ C	5 000	7 500	10 000	22 500
Coûts	200 750 \$	301 125 \$	401 500 \$	903 375 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			542 025 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			2 810 500 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse du TRU¹³C par spectrométrie de masse à ratios isotopiques pour la détection d'*H. pylori* au Répertoire pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 170 000 \$ pour le total des trois premières années, et ce, en considérant la volumétrie actuellement réalisée au CHUM. Advenant que l'analyse soit déployée à l'ensemble de la province, des coûts supplémentaires estimés à environ 900 000 \$ sont à prévoir. Notons que cela ne considère pas les coûts liés au remplacement anticipé de l'analyse du TRU¹⁴C dont les données médico-administratives ne sont pas disponibles ni ceux liés au remplacement potentiel du test sérologique qui, pour ce dernier, sont substantiels selon les experts consultés. Les coûts présentés en analyse de sensibilité considèrent la promotion auprès des cliniciens de l'analyse TRU¹³C en première ligne et le remplacement de la majorité des tests sérologiques.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

L'approvisionnement en urée marquée au ¹⁴C au Québec peut être un enjeu, tel que démontré par une rupture de stock survenue au service de médecine nucléaire de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal en 2009 [Charest et Belair, 2017].

L'accessibilité à un service de médecine nucléaire pour réaliser un TRU¹⁴C constitue un enjeu pour les patients en attente d'une analyse permettant de diagnostiquer l'infection à *H. pylori* ou de confirmer son éradication post-traitement.

Un avis publié dans *Le Médecin de famille canadien* rappelle que la dose de radiations associée au TRU¹⁴C est de 1 µCi (37 kBq), ce qui équivaut à la dose reçue de l'environnement ambiant pendant 11 heures. On précise que la dose de radiation est suffisamment faible pour ne mériter aucune mesure de restriction chez les adultes et les jeunes enfants (3 à 6 ans) ou pour la reprise d'un test. La dose de radiation absorbée par un fœtus lors de l'exposition d'une femme enceinte est estimée à 0,31 mrad, alors que la dose de radiation fœtale jugée sécuritaire lors de

la grossesse est de 5 000 mrad. Advenant l'exposition imprévue d'une femme enceinte, celle-ci devrait être rassurée étant donné la faible dose de radiation fœtale [Bentur *et al.*, 2009].

De plus, les experts consultés soulignent que les résultats faux positifs engendrés par la sérologie entraînent des coûts supplémentaires en analyses, exposent les patients aux risques de procédures invasives et comportent d'autres désavantages notamment en raison d'une utilisation non judicieuse d'antibiotiques²⁷.

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

La 5^e édition du rapport issu du consensus de Maastricht/Florence²⁸ concernant la prise en charge de l'infection à *H. pylori* a conclu que le TRU est le test diagnostic non invasif le plus étudié et le plus recommandé dans un contexte de diagnostic et de suivi du traitement. Le TRU¹³C est la meilleure approche pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori* compte tenu de son excellente performance. Le TRU¹⁴C a également été discuté mais ne peut être recommandé chez des enfants et des femmes enceintes puisqu'il expose les patients à des radiations. De plus, les experts considèrent que le TRU est le meilleur test pour confirmer l'éradication d'*H. pylori* [Malfertheiner *et al.*, 2017].

L'American College of Gastroenterology recommande l'utilisation du TRU, de la recherche d'antigènes dans les selles ou de tests réalisés sur des biopsies lorsqu'une endoscopie a été réalisée, tant pour le diagnostic d'infection à *H. pylori* que pour la confirmation de son éradication à la suite d'un traitement [Chey *et al.*, 2017].

Un guide de pratique clinique sur le diagnostic et le traitement de l'infection à *H. pylori* chez l'adulte produit par Toward Optimized Practice Alberta a été révisé en 2016. Ce guide recommande de ne pas utiliser les tests sérologiques (IgG) et d'antigènes dans les selles pour diagnostiquer l'infection à *H. pylori*. On y décrit le test respiratoire à l'urée (sans préciser l'isotope du carbone et la méthode de détection) comme une méthode dont la performance diagnostique est supérieure aux autres méthodes diagnostiques. On y indique également que le TRU devrait être envisagé pour confirmer l'éradication d'*H. pylori* chez :

- Les patients dyspeptiques qui continuent d'être symptomatiques après un traitement complet;
- Les patients dyspeptiques dont la situation clinique s'améliore initialement post-traitement mais qui développent des symptômes récurrents;

²⁷ Communication électronique personnelle avec D^r Carlo Fallone, interniste gastroentérologue à l'Hôpital Royal Victoria du Centre universitaire de santé McGill (19 novembre 2017).

²⁸ Le consensus correspondait à l'appui de 80 % ou plus des 43 experts de 24 pays qui ont pris part activement à cette conférence [Malfertheiner *et al.*, 2017].

- Les patients traités pour un ulcère gastrique ou duodénal ou pour un cancer gastrique.

Le guide de pratique clinique fournit également un algorithme de diagnostic et de traitement d'*H. pylori* chez l'adulte [TOP Alberta, 2016]. Cet algorithme est présenté à l'annexe G.

Les lignes directrices produites par le National Institute for Health and Care Excellence (NICE) en 2004 ont été reconduites en 2014 [NICE, 2014]. Celles-ci concernant plus particulièrement les soins primaires dispensés aux adultes atteints de dyspepsie, recommandent le TRU¹³C, la recherche d'antigènes bactériens dans les selles ou le test sérologique (lorsqu'il a été validé par le laboratoire) pour la détection initiale de *H. pylori*. Seul le TRU¹³C est recommandé pour confirmer l'éradication. Le guide indique que les preuves sont insuffisantes pour recommander la recherche d'antigènes dans les selles. Ces recommandations sont en phase avec celles du Canadian Helicobacter Study Group (CHSG) initialement émises en 1999 et par la suite confirmées en 2002 et 2004 [Hunt *et al.*, 2004; Hunt *et al.*, 2002; Hunt *et al.*, 1999].

En 2013, le Health Quality Ontario a analysé les données probantes relatives aux adultes atteints de dyspepsie qui ne présentaient pas de symptômes alarmants et pour qui l'endoscopie n'était pas indiquée. L'organisme a notamment conclu que le TRU¹³C est une analyse qui offre une grande sensibilité et une grande spécificité, tant pour le diagnostic que pour le suivi du traitement contre *H. pylori* [Ling, 2013].

En 2005, l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS) recommandait d'offrir le test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C dans toutes les régions du Québec [AÉTMS, 2005].

Recommandations d'usage en pédiatrie

L'European Society for Paediatrics Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) et la North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) ont mis à jour leur Guide de prise en charge d'*H. pylori* chez les enfants et les adolescents en 2016. Selon eux, l'objectif primaire de l'investigation des symptômes gastro-intestinaux devrait être de déterminer la cause des symptômes et pas seulement de déterminer la présence d'*H. pylori*. Ainsi le diagnostic initial d'infection à *H. pylori* ne devrait pas être basé sur une méthode diagnostique non invasive (par exemple le TRU¹³C). Toutefois, un résultat positif obtenu par une méthode non invasive supporte le diagnostic lorsque l'histologie est la seule méthode invasive disponible. On y recommande également que tous les enfants recevant un traitement contre *H. pylori* devraient être testés afin de valider l'efficacité du traitement. Le TRU¹³C ou un test d'antigènes dans les selles sont alors recommandés pour la vérification post-traitement [Jones *et al.*, 2017].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse du test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 par spectrométrie de masse à ratios isotopiques pour la détection de *H. pylori*

La recommandation de l'INESSS

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

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ Le CSABM recommande au laboratoire demandeur de mettre en place un mécanisme de contrôle de qualité externe (échanges systématiques d'échantillons avec d'autres laboratoires).

ANNEXE A Description du devis des revues systematiques avec meta-analyse retenue evaluant la performance diagnostique du test respiratoire à l'urée

ÉTUDES	N ÉTUDES (N PATIENTS)	CRITÈRES D'INCLUSION	DIAGNOSTIC DE L'INFECTION À <i>H. pylori</i>
[Ferwana <i>et al.</i> , 2015]	23 (3999)	- De 1990 à 2013 - Que des adultes - Patients dyspeptiques - Performance diagnostique du TRU¹³C et du TRU¹⁴C - Données de vrai-positifs, faux-positifs, vrai-négatifs et de faux-positifs	culture ou examen histologique
[Leal <i>et al.</i> , 2011]	31 (4037)	- Décembre 1997 et mai 2009 - Que des enfants - Performance diagnostique du TRU¹³C - Minimum de 30 patients - Données de vrai-positifs, faux-positifs, vrai-négatifs et de faux-positifs	culture, examen histologique ou test d'uréase rapide
[Ling, 2013]	19 (4168)	1^{er} janvier 2003 et le 14 décembre 2012 - Devaient inclure des adultes (pas que des enfants ou que des personnes âgées) - Des symptômes de dyspepsie similaires à un ulcère sans signe alarmant - Performance diagnostique du TRU¹³C	méthodes basées sur l'endoscopie comme standard de référence avec une concordance sur au moins 2 méthodes

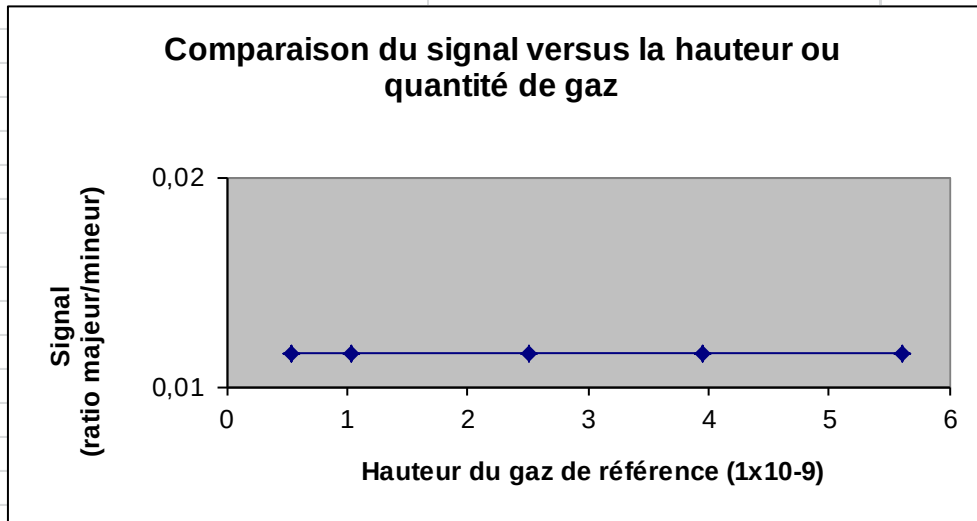
Abréviations : N : nombre; TRU¹³C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C; TRU¹⁴C : test respiratoire à l'urée marquée au ¹⁴C

ANNEXE B

Test de précision (intra-essai) avec la bonbonne de gaz de référence							
Injection de 6 échantillons du CO2 de référence à partir de la bonbonne pour chaque date							
Cible visée < 10E-7							
Date	Standard de déviation du signal						
2016-05-30	3,89E-07						
2016-06-01	2,11E-07						
2016-06-02	2,44E-07						
2016-06-07	1,19E-07						
2016-06-09	2,56E-07						
2016-06-16	2,72E-07						
2016-06-22	1,01E-07						
2016-07-05	2,35E-07						
2016-07-19	1,99E-07						
2016-08-03	2,09E-07						
2016-08-10	2,67E-07						
2016-09-14	1,41E-07						
2016-09-23	1,62E-07						
2016-10-03	1,19E-07						
2016-10-24	1,70E-07						
2016-11-10	2,99E-07						
2016-11-17	2,83E-07						
2016-12-13	2,52E-07						
2016-12-29	3,07E-07						
2017-01-05	2,43E-07						
2017-01-12	3,18E-07						
2017-01-26	4,05E-07						
2017-02-07	3,16E-07						

ANNEXE C Comparaison du signal selon la quantité de CO2 expiré

Hauteur du gaz CO2 (1* 10 -9)	Signal (Ratio majeur/minor)
0,53	0,0115930
1,04	0,0115930
2,50	0,0115950
3,96	0,0115950
5,61	0,0115930



Le même signal (résultat) est obtenu de 0,53 à 5,61 de hauteur de CO2 de référence. Ceci est comparable entre des échantillons avec peu et beaucoup d'air expiré (en moyenne entre 1 et 2 de hauteur pour les patients).

ANNEXE D

Test de précision (intra-essai) 5 fois le même tube de patients						
(Le maximum d'injection pour un même tube est de 5)						
Date: 2007-12-04						
Valeur du dC13						
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	
1	-24,97	-24,738	-24,749	-24,827	-24,866	
2	-24,967	-24,798	-24,836	-24,779	-24,84	
3	-24,895	-24,802	-24,867	-24,852	-24,913	
4	-25,113	-24,871	-24,86	-24,891	-24,907	
5	-24,997	-24,87	-24,847	-25,092	-24,962	
Moyenne	-24,9884	-24,8158	-24,8318	-24,8882	-24,8976	
SD	0,08	0,06	0,05	0,12	0,05	
CV (%)	0,317	0,226	0,192	0,486	0,188	
Test de précision (intra-essai)						
Date: 2008-01-24						
Valeur du dC13						
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	
1	-24,703	-24,684	-24,658	-24,458	-24,578	
2	-24,572	-24,602	-24,598	-24,473	-24,464	
3	-24,496	-24,496	-24,526	-24,383	-24,397	
4	-24,35	-24,403	-24,338	-24,237	-24,385	
5	-24,332	-24,37	-24,413	-24,195	-24,292	
Moyenne	-24,4906	-24,511	-24,5066	-24,3492	-24,4232	
SD	0,16	0,13	0,13	0,13	0,11	
CV (%)	0,635	0,540	0,535	0,522	0,434	
Test de précision (intra-essai)						
Date: 2008-01-28						
Valeur du dC13						
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	
1	-24,032	-24,196	-23,759	-24,127	-24,008	
2	-23,984	-24,119	-23,789	-24,007	-23,936	
3	-23,952	-24,059	-23,669	-23,905	-23,904	
4	-23,829	-23,993	-23,611	-23,847	-23,801	
5	-23,666	-23,781	-23,499	-23,665	-23,646	
Moyenne	-23,8926	-24,0296	-23,6654	-23,9102	-23,859	
SD	0,15	0,16	0,12	0,17	0,14	
CV (%)	0,616	0,657	0,494	0,726	0,589	
Test de précision (intra-essai)						
Date: 2008-02-26						
Valeur du dC13						
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	
1	-23,736	-23,718	-23,898	-23,927	-23,814	
2	-23,81	-23,743	-23,921	-23,876	-23,814	
3	-23,812	-23,778	-23,831	-23,839	-23,977	
4	-23,78	-23,87	-23,801	-23,834	-23,922	
5	-23,768	-23,728	-23,836	-23,802	-23,904	
Moyenne	-23,7812	-23,7674	-23,8574	-23,8556	-23,8862	
SD	0,03	0,06	0,05	0,05	0,07	
CV (%)	0,133	0,260	0,210	0,200	0,298	

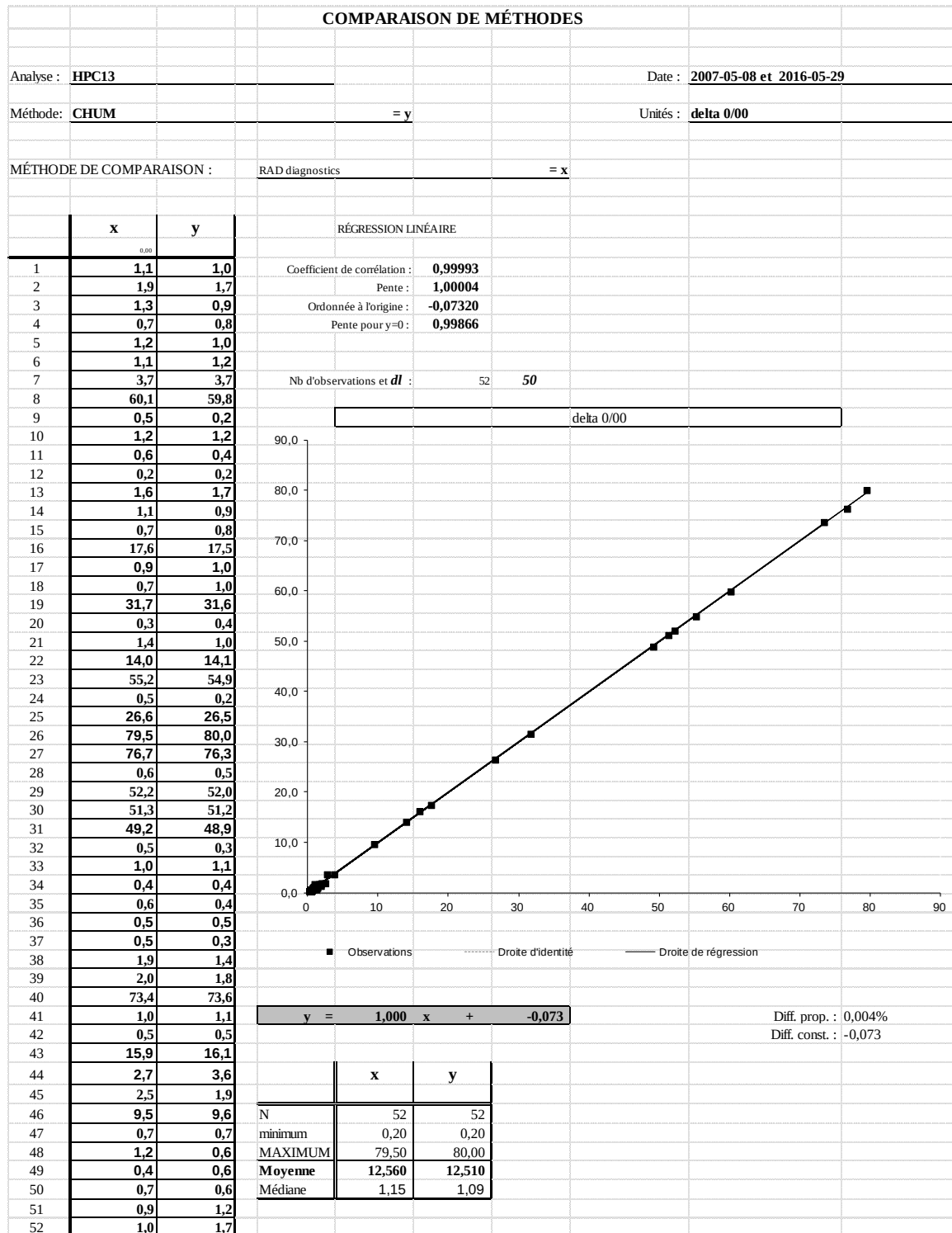
ANNEXE D (suite)

Test de précision (intra-essai)							
Date: 2008-11-07							
Valeur du dC13							
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5		
1	-23,589	-23,466	-23,516	-23,437	-23,43		
2	-23,611	-23,31	-23,502	-23,411	-23,431		
3	-23,72	-23,439	-23,452	-23,393	-23,292		
4	-23,697	-23,282	-23,422	-23,502	-23,428		
5	-23,553	-23,34	-23,523	-23,368	-23,527		
Moyenne	-23,634	-23,3674	-23,483	-23,4222	-23,4216		
SD	0,07	0,08	0,04	0,05	0,08		
CV (%)	0,303	0,346	0,187	0,219	0,358		
Test de précision (intra-essai)							
Date: 2009-03-25							
Valeur du dC13							
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5		
1	-20,44	-20,83	-20,835	-20,891	-20,807		
2	-20,531	-20,404	-20,676	-20,778	-20,674		
3	-20,387	-20,658	-20,592	-20,85	-20,568		
4	-20,39	-20,455	-20,643	-20,865	-20,526		
5	-20,408	-20,462	-20,507	-20,653	-20,726		
Moyenne	-20,4312	-20,5618	-20,6506	-20,8074	-20,6602		
SD	0,06	0,18	0,12	0,10	0,11		
CV (%)	0,292	0,868	0,587	0,461	0,555		
Test de précision (intra-essai)							
Date: 2009-05-04							
Valeur du dC13							
Réplicat	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5		
1	-21,307	-21,583	-21,637	-21,886	-21,773		
2	-21,314	-21,757	-21,754	-21,697	-21,91		
3	-21,535	-21,838	-21,774	-21,995	-21,928		
4	-21,624	-21,955	-21,944	-22,084	-22,137		
5	-21,673	-21,901	-22,044	-22,157	-22,18		
Moyenne	-21,4906	-21,8068	-21,8306	-21,9638	-21,9856		
SD	0,17	0,15	0,16	0,18	0,17		
CV (%)	0,799	0,666	0,742	0,821	0,771		

ANNEXE E Tests de précision inter-essais

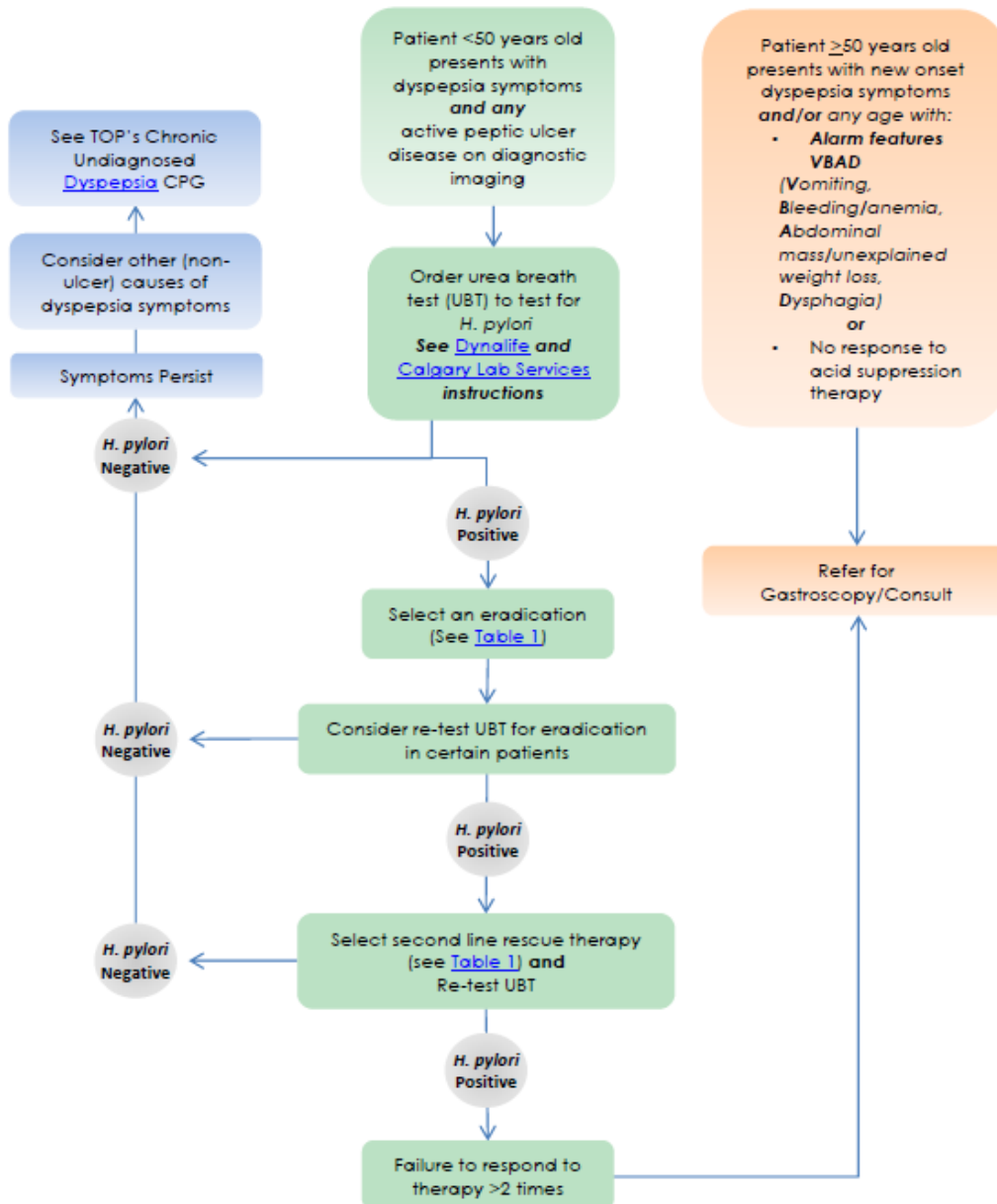
Patient 1 = Inter-essai même tube pour 5 journées différentes				
Date	dC13 T0	dC13 T30	Delta (T30-T0)	Différence de Delta (T30-T0)
2016-07-19	-20,531	-5,25	15,3	0,0
2016-09-14	-20,669	-5,459	15,2	0,1
2016-09-15	-20,936	-5,501	15,4	-0,2
2016-08-04	-20,685	-5,398	15,3	0,0
2016-08-10	-20,874	-5,564	15,3	0,0
Moyenne	-20,739	-5,4344	15,3	0,0
SD	0,16	0,12	0,08	
CV (%)	0,793	2,200	0,535	
Valeur de référence			< 3,00	
Patient 2 = Inter-essai même tube pour 5 journées différentes				
Date	dC13 T0	dC13 T30	Delta (T30-T0)	Différence de Delta (T30-T0)
2016-09-14	-20,93	-19,674	1,3	0,0
2016-09-15	-20,904	-19,542	1,4	-0,1
2016-09-29	-20,991	-19,85	1,1	0,1
2016-10-03	-21,116	-19,542	1,6	-0,3
2016-10-04	-21,06	-19,421	1,6	-0,4
Moyenne	-21,0002	-19,6058	1,4	-0,1
SD	0,09	0,16	0,21	
CV (%)	0,421	0,833	15,065	
Valeur de référence			< 3,00	
Patient 3 = Inter-essai même tube pour 5 journées différentes				
Date	dC13 T0	dC13 T30	Delta (T30-T0)	Différence de Delta (T30-T0)
2016-10-25	-19,014	44,638	63,7	0,0
2016-11-10	-18,986	44,8	63,8	-0,1
2016-11-17	-19,328	44,418	63,7	-0,1
2016-12-05	-19,314	44,761	64,1	-0,4
2016-11-10	-19,016	44,56	63,6	0,1
Moyenne	-19,1316	44,6354	63,8	-0,1
SD	0,17	0,15	0,19	
CV (%)	0,906	0,347	0,299	
Valeur de référence			< 3,00	
Patient 4 = Inter-essai même tube pour 5 journées différentes				
Date	dC13 T0	dC13 T30	Delta (T30-T0)	Différence de Delta (T30-T0)
2016-11-11	-20,172	40,131	60,3	0,0
2016-11-17	-20,233	40,222	60,5	-0,2
2016-11-18	-19,796	40,359	60,2	0,1
2016-12-13	-20,149	40,161	60,3	0,0
2016-12-14	-19,864	40,321	60,2	0,1
Moyenne	-20,0428	40,2388	60,3	0,0
SD	0,20	0,10	0,12	
CV (%)	0,989	0,246	0,197	
Valeur de référence			< 3,00	
Patient 4 = Inter-essai même tube pour 5 journées différentes				
Date	dC13 T0	dC13 T30	Delta (T30-T0)	Différence de Delta (T30-T0)
2016-11-11	-21,331	-19,783	1,5	0,0
2016-11-17	-21,612	-20,035	1,6	0,0
2016-11-10	-20,693	-19,263	1,4	0,1
2016-10-24	-21,259	-19,306	2,0	-0,4
2016-10-04	-20,758	-19,198	1,6	0,0
Moyenne	-21,1306	-19,517	1,6	-0,1
SD	0,39	0,37	0,20	
CV (%)	1,861	1,900	12,294	
Valeur de référence			< 3,00	

ANNEXE F



ANNEXE G Algorithme de diagnostic et de traitement d'*H. Pylori* chez les adultes* émis par toward optimized practice alberta [2016]

(sauf les femmes enceintes ou qui allaitent)



RÉFÉRENCES

- Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé et en services sociaux (AETMIS). Le test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C pour la détection de *Helicobacter pylori* : possibilités d'application au Québec. Note technique préparée par Lonny Erickson. Montréal, Qc : AETMIS; 2005.
- Bentur Y, Matsui D, Koren G. Safety of 14C-UBT for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in pregnancy. *Can Fam Physician* 2009;55(5):479-80.
- Bilardi C, Biagini R, Dulbecco P, Iritano E, Gambaro C, Mele MR, et al. Stool antigen assay (HpSA) is less reliable than urea breath test for post-treatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16(10):1733-8.
- Brazier JL. Chapter 21. Breath test: drug metabolism studies. Dans : Browne TR, réd. *Stable isotopes in pharmaceutical research*. Amsterdam, NL : Elsevier Science B.V.; 1997 : 454 p.
- Buzas GM et Szeles I. Interpretation of the 13C-urea breath test in the choice of second- and third-line eradication of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol* 2008;43(2):108-14.
- Charest M et Belair MA. Comparison of Accuracy Between 13C- and 14C-Urea Breath Testing: Is an Indeterminate-Results Category Still Needed? *J Nucl Med Technol* 2017;45(2):87-90.
- Chey WD, Leontiadis GI, Howden CW, Moss SF. ACG Clinical Guideline: Treatment of *Helicobacter pylori* Infection. *Am J Gastroenterol* 2017;112(2):212-39.
- Elbast W et Brazier JL. La spectroscopie infrarouge non dispersive, une alternative à la spectrométrie de masse isotopique, cas du test respiratoire à l'urée ^{13}C . *Analisis* 1999;27(3):228-31.
- Ferwana M, Abdulmajeed I, Alhajiahmed A, Madani W, Firwana B, Hasan R, et al. Accuracy of urea breath test in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2015;21(4):1305-14.
- Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JF, Tampieri A, Perna F, et al. A rapid, low-dose, 13C-urea tablet for the detection of *Helicobacter pylori* infection before and after treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17(6):793-8.
- Gisbert JP et Pajares JM. Review article: 13C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(10):1001-17.
- Hunt R, Fallone C, Veldhuyzen van Zanten S, Sherman P, Smaill F, Flook N, Thomson A. Canadian *Helicobacter* Study Group Consensus Conference: Update on the management of *Helicobacter pylori*--an evidence-based evaluation of six topics relevant to clinical outcomes in patients evaluated for *H pylori* infection. *Can J Gastroenterol* 2004;18(9):547-54.
- Hunt RH, Fallone C, Veldhuyzen Van Zanten S, Sherman P, Flook N, Smaill F, Thomson AB. Etiology of dyspepsia: implications for empirical therapy. *Can J Gastroenterol* 2002;16(9):635-41.

- Hunt RH, Fallone CA, Thomson AB. Canadian *Helicobacter pylori* Consensus Conference update: infections in adults. Canadian *Helicobacter* Study Group. *Can J Gastroenterol* 1999;13(3):213-7.
- Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Leon-Barua R, Bazzoli F, van der Merwe S, et al. *Helicobacter pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. *J Gastrointest Liver Dis* 2011;20(3):299-304.
- Jones NL, Koletzko S, Goodman K, Bontems P, Cadranet S, Casswall T, et al. Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the Management of *Helicobacter pylori* in Children and Adolescents (Update 2016). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;64(6):991-1003.
- Jordaan M et Laurens JB. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with the (13)C-urea breath test by means of GC-MS analysis. *J Sep Sci* 2008;31(2):329-35.
- Kajiwara M, Iida K, Takatori K, Taniguchi Y, Kimura K. Validity of the 13-C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1997;45(4):741-3.
- Kalach N, Briet F, Raymond J, Benhamou PH, Barbet P, Bergeret M, et al. The 13carbon urea breath test for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* in children: comparison with culture and determination of minimum analysis requirements. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26(3):291-6.
- Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev* 2006;19(3):449-90.
- Leal YA, Flores LL, Fuentes-Panana EM, Cedillo-Rivera R, Torres J. 13C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2011;16(4):327-37.
- Ling D. Carbon-13 urea breath test for *Helicobacter pylori* infection in patients with uninvestigated ulcer-like dyspepsia: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser* 2013;13(19):1-30.
- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 2017;66(1):6-30.
- Manes G, Zanetti MV, Piccirillo MM, Lombardi G, Balzano A, Pieramico O. Accuracy of a new monoclonal stool antigen test in post-eradication assessment of *Helicobacter pylori* infection: comparison with the polyclonal stool antigen test and urea breath test. *Dig Liver Dis* 2005;37(10):751-5.
- Muccio Z et Jackson GP. Isotope Ratio Mass Spectrometry. *Analyst* 2009;134(2):213-22.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Gastro-oesophageal reflux disease and dyspepsia in adults : investigation and management. Clinical Guideline 184. London (UK) : National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2014. 2 septembre. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/cg184/resources/gastrooesophageal-reflux-disease-and-dyspepsia-in-adults-investigation-and-management-pdf-35109812699845>
- Neale KR et Logan RP. The epidemiology and transmission of *Helicobacter pylori* infection in children. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 Suppl 2:77-84.

- Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991;325(16):1132-6.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991;325(16):1127-31.
- Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med* 1994;330(18):1267-71.
- Perets TT, Shporn E, Boltin D, Dickman R, Niv Y. Stability of (13) C-Urea Breath Test Samples Over Time in the Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *J Clin Lab Anal* 2016;30(3):231-4.
- Perri F, Manes G, Neri M, Vaira D, Nardone G. *Helicobacter pylori* antigen stool test and 13C-urea breath test in patients after eradication treatments. *Am J Gastroenterol* 2002;97(11):2756-62.
- Talley NJ et Vakil N. Guidelines for the management of dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2005;100(10):2324-37.
- Toward Optimized Practice. Diagnosis and Treatment of *Helicobacter pylori* Infection in Adults. Clinical Practice Guideline. TOP; 2016.
- Verkouteren RM, Klouda GA, Currie LA. Reference and intercomparison materials for stable isotopes of light elements. Dans : International Atomic Energy Agency, réd.; Vienna, AT; 1995.
- Wang W, Wang Y, Gong F, Zhu W, Fu S. MTHFR C677T polymorphism and risk of congenital heart defects: evidence from 29 case-control and TDT studies. *PLoS One* 2013;8(3):e58041.

MESURE QUANTITATIVE DES VITAMINES HYDROSOLUBLES (B1, B2, B3, B6 ET C) PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (HPLC) (RÉFÉRENCE - 2017.01.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHUM – Hôpital Notre-Dame

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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, l'expert consulté est :

- **D' Amichai Grunbaum**, médecin biochimiste, CUSM.

2. RÉSUMÉ

Les vitamines hydrosolubles B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B6 (pyridoxine) et C (acide ascorbique) ont fait l'objet d'une pléthore d'études scientifiques. Elles sont particulièrement impliquées dans la physiologie cellulaire et jouent un rôle de coenzyme dans plusieurs réactions métaboliques de l'organisme.

Dans les sociétés industrialisées, les populations les plus à risque de présenter des carences en vitamines hydrosolubles sont des personnes âgées, celles ayant une condition préexistante et des alcooliques dénutris.

L'utilisation d'un produit dopaminergique dans le traitement de la maladie de Parkinson a, entre autres effets indésirables, la malabsorption de la vitamine B6 pouvant causer une carence chez le patient. De ce fait, l'analyse des concentrations plasmatiques en cette vitamine est requise lors du traitement.

L'encéphalopathie de Wernicke-Korsakoff, généralement associée à une carence en thiamine, nécessite un traitement prophylactique, préventif ou sur demande chez les patients atteints, entre autres, d'alcoolisme chronique ou ayant subi une chirurgie bariatrique. À cet effet, la Fédération européenne des sociétés neurologiques recommande de déterminer le taux sanguin de thiamine par HPLC avant l'administration de la thiamine à un patient susceptible d'avoir cette affection neurologique. L'HPLC est une méthode analytique assez sensible pour détecter les vitamines dans un milieu complexe comme le plasma.

De même, les patients qui développent une neuropathie périphérique associée à une carence en vitamine B6 bénéficieront de suppléments vitaminiques. Moins de 3 % des Canadiens adultes ont une carence en vitamine C.

3. ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

La mesure quantitative des vitamines hydrosolubles vise à détecter les déficits en vitamines hydrosolubles plasmatiques (B1, B2, B3, B6, et C) chez les patients dont un diagnostic demeure à préciser.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse consiste en la mesure quantitative des vitamines par chromatographie liquide à haute performance (de l'anglais *High-performance liquid chromatography* – HPLC). Les demandes d'analyses sont faites pour chaque vitamine susceptible d'être déficiente, et sont regroupées dans une chromatographie unique. Le principe de la chromatographie est de séparer ou de purifier un ou plusieurs composés d'un mélange en vue de les identifier et de les quantifier [Aguilar, 2004]. Le mélange d'échantillons contenu dans un solvant (phase mobile) est introduit grâce à une pompe à grande pression dans une colonne garnie d'un gel chromatographique

(phase stationnaire) qui permettra de les séparer à différentes étapes d'élution. Un chromatogramme est généré au courant de l'élution en fonction du temps (figure 1). Ainsi, le temps nul (t_0) indique le début de l'injection et le temps mis par un composé non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne est le temps mort (t_m). Par ailleurs, le temps de rétention (t_r) est le temps mis par un soluté pour traverser la colonne et correspond au temps passé dans la phase stationnaire et dans le volume mort de la colonne. Ce temps caractérise un soluté dans des conditions d'analyse données [Aguilar, 2004]. La surface du pic varie en fonction de la quantité du constituant dont il est la trace et la largeur du pic est caractéristique de l'efficacité de la séparation²⁹. Les chromatogrammes sont enregistrés par un détecteur de fluorescence à ultraviolet (UV-Vis à 270 nm) (figure 1).

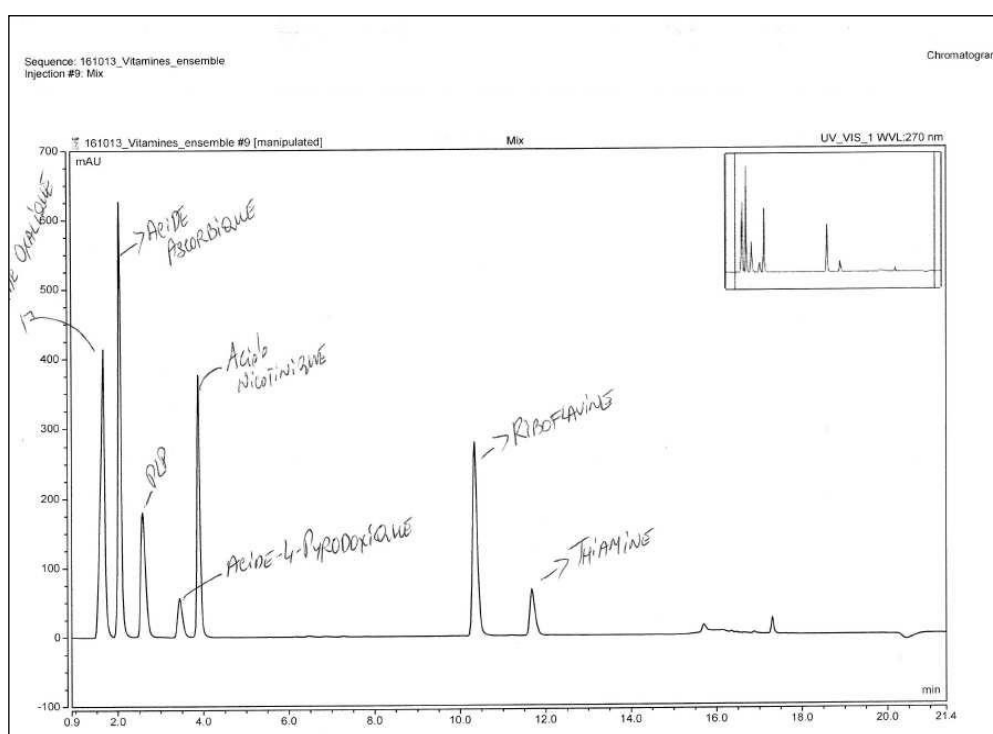


Figure 1 : Chromatogrammes des vitamines hydrosolubles

Les chromatogrammes résultent de l'intensité d'absorbance de la molécule à détecter (Y: axe des ordonnées) en fonction du temps en minutes (X : axe des abscisses). Les substances suivantes ont été détectées : l'acide oxalique, de l'acide ascorbique, du phosphate de pyridoxal (PLP), l'acide 4-pyridoxique, la riboflavine, et la thiamine.

Source : Données préliminaires fournies par le demandeur.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements de sang seront effectués au CHUM ou dans les autres établissements de santé, pour être ensuite acheminés à l'Hôpital Notre-Dame

²⁹ Information adaptée et prélevée du site biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9, consulté le 31 mai 2017.

du CHUM pour analyse. Le temps de réponse pour cette analyse est de trois semaines.

3.4 Société ou concepteur

Il s'agit d'une analyse «maison».

3.5 Homologation

Cette analyse maison n'est homologuée ni par la FDA ni par Santé Canada.

3.6 Valeur pondérée : 13,4

4. CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Cette analyse est requise pour des personnes présentant des signes de carence en une ou plusieurs des vitamines hydrosolubles suivantes : B1, B2, B3, B6 ou C et chez qui un diagnostic est à préciser.

4.2 Description de la maladie visée

De manière générale, les carences en vitamines sont rares dans les pays occidentaux grâce à l'abondance, à la variété des vivres et à leur moindre coût. Toutefois, la présence de carences multiples est observée chez des personnes atteintes d'affections chroniques, des alcooliques, des patients ayant subi une chirurgie bariatrique ou des personnes âgées [Longo, 2012].

Vitamine B1 ou thiamine

La carence en thiamine constitue un problème de santé publique dans de nombreuses régions du monde. Selon les laboratoires Mayo, les valeurs de référence normales de la thiamine varient de 70 à 180 nmol/l dans des échantillons de sang total [MML, 2017]. Dans sa forme sévère, la carence en thiamine provoque le béribéri³⁰. Cette affection a toutefois été largement éradiquée dans la plupart des pays du premier monde [OMS, 2011].

Dans les pays occidentaux, parmi les personnes à risque de développer une carence en thiamine, sont entre autres compris les alcooliques chroniques, les patients ayant subi une chirurgie bariatrique, atteints d'un cancer ou suivant un traitement diurétique, des personnes avec des troubles alimentaires et les femmes présentant des vomissements prolongés (hyperémèse) [Longo, 2012]. Une carence en thiamine peut induire certains troubles neurologiques tels que le syndrome de

³⁰ Les manifestations essentielles sont neurologiques (polynévrite) et cardiologiques (tableau progressif d'insuffisance cardiaque). Dans sa forme carencielle vraie, cette maladie est rare dans les pays développés ; mais la polynévrite et les myocardiopathies des alcooliques, où intervient un déficit en vitamine B1, sont appelées béribéri occidental : Information tirée du site www.universalis.fr/encyclopedie/beriberi/ ; consulté le 9 juin 2017.

Wernicke-Korsakoff et la maladie de Marchiafava-Bignami [Sechi *et al.*, 2016; Jung *et al.*, 2012].

Le syndrome de Wernicke-Korsakoff, également connu comme encéphalopathie de Wernicke, est une condition neuropsychiatrique aiguë et potentiellement létale liée à une déficience en thiamine [Groen et Hoff, 1977]. Ce syndrome peut survenir chez les sujets atteints d'anomalies génétiques de la transcétolase, réduisant ainsi son affinité à la thiamine pyrophosphate qui en est un cofacteur [Groen et Hoff, 1977]. Par ailleurs, le syndrome de Wernicke-Korsakoff peut être induit par une complication neurologique postopératoire chez les patients ayant subi une chirurgie bariatrique [Cheng *et al.*, 2016; Becker *et al.*, 2012; Sola *et al.*, 2003; Toth et Voll, 2001].

La maladie de Marchiafava-Bignami est une affection rare dont la pathogenèse n'est pas encore clairement établie [Fernandes *et al.*, 2017]. Elle se manifeste par une démyélinisation du corps calleux en l'absence d'inflammation et est associée au stress oxydatif et à l'hypovitaminose B ainsi qu'à une détérioration de l'état mental, telle que la démence, les crises mentales, la dépression, etc. [Fernandes *et al.*, 2017].

Vitamine B2 ou riboflavine

Selon les laboratoires Mayo, les valeurs de référence normales pour la riboflavine varient de 1 à 19 µg/l dans le plasma [MML, 2017]. Bien qu'une déficience isolée en riboflavine soit rare, elle survient dans les cas d'ingestion accidentelle d'acide borique ou de surconsommation d'alcool [Sechi *et al.*, 2016]. Chez les adultes, les symptômes d'une déficience en riboflavine sont généralement non spécifiques et incluent des céphalées fréquentes, de la fatigue, des lésions mucocutanées et des anémies normochromes et normocytaires³¹ [Sechi *et al.*, 2016]. Comme pour les autres vitamines du groupe B, l'alcoolisme chronique et la chirurgie bariatrique constituent un facteur de risque supplémentaire [Becker *et al.*, 2012; OMS, 2011].

Vitamine B3 ou niacine

Les valeurs de référence normales de la niacine mesurée dans le plasma sont fixées entre 0,50 à 8,45 µg/ml chez les enfants de 10 ans et plus, et entre 0,50 à 8,91 µg/ml chez ceux de moins de 10 ans [MML, 2017]. Bien que les déficiences en niacine soient rarement rapportées dans la population générale, les données post mortem de patients hospitalisés pour alcoolisme ont révélé une prévalence de 27 % présentant une déficience en niacine [Sechi *et al.*, 2016]. Parmi les autres conditions associées à cette déficience sont également énumérés les syndromes de malabsorption, et des dialyses fréquentes [Sechi *et al.*, 2016]. Les manifestations cliniques de déficits en niacine sont les vomissements épisodiques, les douleurs

³¹ Forme d'anémie caractérisée par une grosseur moyenne des globules rouges ainsi que leur teneur moyenne en hémoglobine située dans les limites des valeurs normales : Information recueillie à l'adresse suivante : <https://www.britannica.com/science/blood-disease/Normocytic-normochromic-anemias>, consultée le 30 mai 2017.

abdominales, la constipation, les céphalées, l'insomnie, la fatigue, la déglutition douloureuse et un prurit photosensible sur les surfaces corporelles exposées au soleil. Des cas de pellagre³² alcoolique ont également été rapportés [Sechi *et al.*, 2016].

La vitamine B6 ou pyridoxine

La vitamine B6 est un groupe de trois composés naturellement présents dans les aliments, à savoir la pyridoxine (PN), le pyridoxal (PL) et la pyridoxamine (PM). Les valeurs de référence du 5'-phosphate de pyridoxal (PLP) vont de 5 à 50 µg/l et de 3 à 30 µg/l pour l'acide pyridoxique [MML, 2017]. Une carence en vitamine B6 est majoritairement causée par la malnutrition, la malabsorption, l'alcoolisme ou par les effets indésirables à un traitement antagoniste à cette vitamine [Sechi *et al.*, 2016; OMS, 2011]. Les facteurs de risque reliés à une carence en pyridoxine comportent : une hyperoxalurie, l'inflammation et la détérioration des tissus, les maladies rénales ou hépatiques chroniques, l'infection au VIH, l'anémie falciforme, l'anémie héréditaire sidéroblastique et l'arthrite rhumatoïde [Sechi *et al.*, 2016]. Les polyneuropathies survenant après des chirurgies bariatriques peuvent également être causées par une carence en vitamine B6 [Becker *et al.*, 2012].

La vitamine C ou acide ascorbique

L'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble que le corps humain ne produit pas de façon endogène [STATCAN, 2016]. Ses valeurs de référence normales vont de 0,4 à 2 mg/dl [MML, 2017]. Selon l'OMS, le seuil de définition d'une carence en acide ascorbique dans le plasma est inférieur à 0,3 mg/100 ml lorsqu'elle est légère et inférieure à 0,2 mg/100 ml lorsqu'elle est sévère [OMS, 2011]. Un apport insuffisant en vitamine C pendant plusieurs semaines peut causer le scorbut, dont les symptômes cliniques sont la fatigue, les capillaires fragiles et une guérison ralentie. Bien que les carences graves en vitamine C soient rares dans les pays développés, elles peuvent survenir chez les personnes dont l'apport journalier est inférieur à 10 mg [STATCAN, 2016].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime à 735 le nombre d'analyses par année pour le Québec. Le temps de réponse attendu est de trois semaines.

4.4 Brève description de la situation actuelle

L'analyse des vitamines hydrosolubles est actuellement effectuée hors Québec. Selon les experts consultés, une carence en vitamines hydrosolubles implique généralement plus d'une vitamine⁵. Dans le cas où les carences sont causées par la malnutrition, l'alcoolisme, ou d'importantes pertes induites par diurèse chronique ou par dialyse, des déficiences multiples peuvent coexister [Longo, 2012].

³² Affection caractérisée par une perte de la mémoire récente ainsi que par de la lassitude, de l'appréhension et de la dépression [OMS, 1969].

Tout comme les autres vitamines hydrosolubles, la vitamine B6 est une coenzyme intervenant dans les réactions enzymatiques. Son affinité à l'enzyme détermine le déroulement de la réaction enzymatique. Cependant, certains produits interfèrent avec la liaison entre la vitamine B6 et l'holoenzyme en formant des complexes inhibiteurs de la fonction enzymatique. Un test de détection de la vitamine B6 est donc requis chez un patient atteint de la maladie de Parkinson avant l'administration du Carbidopa^{MC} ou d'un autre produit dopaminergique tel que le DUODOPA^{MC}. De plus, les taux de vitamine B peuvent être contrôlés chez les patients atteints de polyneuropathies [Dreyfus et Victor, 1961]. Chez une population pédiatrique, la détection des vitamines B est parfois requise pour le traitement des cas d'épilepsie³³
³⁴.

En outre, l'expert souligne qu'en cas de soupçon d'une carence, un complexe multi-vitaminique est généralement administré aux patients. Des effets indésirables causés par une supplémentation en vitamines ont rarement été rapportés [Longo, 2012].

4.5 Données médico-administratives

À ce jour, l'analyse proposée n'est pas inscrite dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Les analyses envoyées hors Québec pour les années 2013 à 2016 sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 Analyses effectuées hors Québec

ANNÉES	NOMBRE TOTAL D'ANALYSES	COÛT TOTAL (\$)	LABORATOIRE
2013 - 2014	126	9 893	MML, HICL, CLS
2014 - 2015	133	11 156	MML, HICL
2015 - 2016	257*	15 447	MML, HICL

Abréviations : CLS: Calgary Laboratories Services; MML Mayo Medical Laboratories; HICL : Hospital In-Common Laboratories

* : Selon le demandeur, 147 analyses ont été enregistrées pour le CHUM, dont 119 se rapportaient à la détection de B1 (n = 58) et de B6 (n = 61)

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'inscription de l'analyse dans le *Répertoire* comblerait les besoins au niveau provincial, et permettrait le rapatriement des envois hors Québec.

³³ Communication personnelle du D^r Grunbaum, médecin biochimiste du CISSS de Laval

³⁴ Communication personnelle avec le D^r Sylvain Chouinard, neurologue du CHUM, 2 juin 2017

4.7 Assurance qualité

Pour assurer la fiabilité des résultats, le demandeur propose d'effectuer des contrôles maison (pools) pour le suivi de la stabilité analytique (CQ interne) et de participer à des contrôles de qualité externes pour assurer l'exactitude des résultats générés. Selon le demandeur, le contrôle de qualité externe sera effectué avec les programmes d'assurance qualité du Collège royal des pathologistes de l'Australasie (de l'anglais *Royal College of Pathologists of Australasia*).

5. DONNÉES PUBLIÉES

Aucune étude clinique menée dans un pays occidental et portant sur la détection des vitamines B1, B2, B3, B6 et C par HPLC dans le but d'établir une association entre une carence vitaminique et une affection spécifique dont elle est le déclencheur n'a été repérée. À titre illustratif du contexte de la détection d'une carence en vitamines, une étude a été repérée pour étayer chacune des valeurs diagnostiques, thérapeutiques et analytiques de cette analyse.

5.1 Valeur diagnostique

5.1.1 Carence en vitamine C au sein d'une population pédiatrique en Amérique du Nord

Une étude rétrospective menée par Golriz et ses collaborateurs [2017], sur une période de cinq années, avait pour objectif d'évaluer les concentrations en acide ascorbique chez les patients pédiatriques atteints de maladies chroniques : l'anémie falciforme ou la thalassémie. Les niveaux d'acide ascorbique étaient jugés normaux lorsqu'ils étaient supérieurs à 23 $\mu\text{mol/l}$. La déficience légère à modérée était fixée entre 11 et 23 $\mu\text{mol/l}$, tandis qu'une déficience était jugée sévère pour les concentrations en dessous de 11 $\mu\text{mol/l}$. Des 151 enfants dont les concentrations en acide ascorbique avaient été déterminées par HPLC, 32 dont 19 garçons et 13 filles âgés en moyenne de 11 ans (Intervalle : 4 ans à 19 ans) avaient une carence. Des 32 enfants présentant des carences en acide ascorbique, 10 étaient des cas modérés et 22 des cas sévères [Golriz *et al.*, 2017].

Toutefois, 20 de ces enfants en carence de vitamine C présentaient des surcharges de l'organisme en fer à cause de nombreuses transfusions reliées aux conditions préexistantes. De plus, quatre de ces enfants avaient des troubles neurologiques, dont trois atteints d'autisme et un avec un retard de développement. Trois autres enfants avaient reçu une greffe de la moelle osseuse et une chimiothérapie [Golriz *et al.*, 2017].

Selon les auteurs, la déficience en vitamine C n'est pas rare chez les patients pédiatriques atteints de maladies chroniques. Parmi les populations à risque, on compte les enfants avec une surcharge en fer causée par de multiples transfusions sanguines et des conditions neurologiques, ou des patients présentant des affections qui nécessitent un régime alimentaire spécifique. Ils soulignent cependant

qu'aucune déficience de la vitamine C n'a été rapportée chez des patients en bonne santé [Golriz *et al.*, 2017].

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

Association entre le taux sanguin de thiamine et le syndrome de Wernicke

Une étude observationnelle allant de 1962 à 1972 a été effectuée par Groen et Hoff [1977] afin de déterminer entre autres la réhabilitation sociale et l'espérance de vie des patients atteints du syndrome de Wernicke après leur séjour en clinique neurologique. Pour ce faire, 50 patients, dont 29 hommes et 21 femmes, ont été suivis quelques années après avoir quitté la clinique. Les paramètres d'évaluation du suivi de ces patients portaient sur l'étiologie, la symptomatologie et l'encéphalographie. La concentration en thiamine était également évaluée chez les patients, en mesurant par dosage l'effet de la thiamine pyrophosphate; un cofacteur enzymatique dont la valeur normale était fixée à 20 % [Groen et Hoff, 1977].

Tous les patients avaient reçu un traitement à base d'un complexe de vitamine B administré par voie intramusculaire (tableau 2), et à dose variable au cours du traitement [Groen et Hoff, 1977].

À la période de suivi, 19 décès survenus dans les 5 années suivant le séjour clinique ont été rapportés. Le syndrome de Wernicke était considéré comme la cause de décès chez quatre patients. De même, l'effet de la thiamine pyrophosphate mesurée chez 18 patients s'était amélioré chez 6 patients en atteignant 33 %. Au total, l'effet de la thiamine pyrophosphate n'était jugé normal que chez 38 % des patients, permettant ainsi d'associer une carence en vitamine B1 à un diagnostic simultané du syndrome de Wernicke [Groen et Hoff, 1977].

Les auteurs ont conclu une association entre le taux de thiamine dans le sang des patients et le diagnostic clinique du syndrome de Wernicke. Ils recommandent un traitement prophylactique à base de thiamine ou de complexe de vitamines B chez les personnes ayant une consommation chronique d'alcool combinée à la malnutrition [Groen et Hoff, 1977].

Tableau 2 Composition du complexe vitaminique administré aux 50 patients atteints du syndrome de Wernicke

COMPOSANT	QUANTITÉ (mg)
Thiamine (Vitamine B1)	250
Riboflavine (Vitamine B2)	4
Pyridoxine (Vitamine B6)	50
Nicotinamide (Vitamine B3)	160
Acide pantothénique (Vitamine B5)	5

Abréviation : mg : milligrammes

5.4 Validité analytique

5.4.1 Détection de vitamines hydrosolubles dans le plasma

Dans le but de combler le besoin d'un test de routine analytique et robuste, Giorgi et ses collaborateurs [2012] ont développé et validé une nouvelle méthode de détection des vitamines hydrosolubles par HPLC à partir de fluides biologiques. Les vitamines suivantes étaient détectées : B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12, et C, avec la théobromine comme contrôle interne pour chaque échantillon.

Trois courbes de calibration ont été effectuées à partir de solutions standards pendant trois jours consécutifs. Les solutions standards étaient fraîchement préparées tous les jours à partir de solutions étalons de vitamines hydrosolubles à des concentrations connues de 100 ng/μl en dehors de la vitamine B2 qui était à 50 ng/μl. La linéarité a été évaluée en analysant six concentrations standards (0,5; 1; 2; 5; 10; 15 et 20 ng/μl) en utilisant la théobromine comme contrôle interne à une concentration constante de 2 ng/μl [Giorgi *et al.*, 2012].

Les données étaient linéaires pour toutes les concentrations testées, et aucune différence significative n'était relevée dans l'analyse des vitamines en solution aqueuse ou contenue dans le plasma ($p > 0,05$). Par ailleurs, les échantillons de plasma utilisés pour la validation étaient préparés en triplicata et prélevés chez 24 hommes alcooliques en phase d'abstinence. Une corrélation importante entre la quantité de vitamine à analyser et l'ampleur de la détection excédait des valeurs R^2 de 0,996 (Écart-type : 0,002).

La précision de la méthode a été évaluée par sa répétabilité et sa précision intermédiaire sur trois jours consécutifs. Pour ce faire, quatre solutions à concentration différente de vitamines hydrosolubles (2, 5, 10 et 15 ng/μl) ont été évaluées en cinq séries indépendantes pendant la même journée afin de déterminer la précision intra-journalière. La répétabilité a été évaluée en analysant 10 répliques consécutives du même échantillon et en calculant un écart-type relatif à partir de la surface de la courbe et des temps d'élution. La limite de détection a été définie à partir du rapport signal sur bruit et fixée à la concentration la

plus faible capable de générer un signal trois fois plus élevé que celui du bruit (tableau 3).

Tableau 3 Données de validation des vitamines hydrosolubles

VITAMINE	TDR (% CV) (minutes)	LDD (ng/μl) (λ [†])	RÉPÉTABILITÉ (%)	REPRODUCTIBILITÉ (%)
C	3,5 (0,9)	0,5 (230 nm)	0,56	1,97
B1	4,3 (0,7)	1 (270 nm)	0,99	2,76
B2	13,8 (0,2)	0,5 (265 nm)	0,13	0,89
B3	5,3 (1,1)	n.d.	n.d.	n.d.
B5	6,8 (0,29)	1 (266 nm)	0,90	2,75
B6*	6,1 (0,99)	0,5 (257 nm)	0,46	1,93
B9	13 (0,07)	1 (280 nm)	0,18	1,2
B12	13,4 (0,6)	2 (230 nm)	0,67	2,37

Abréviations : CV : coefficient de variation ; LDD : limite de détection ; TDR : temps de rétention ; † : λ : longueur d'onde utilisée pour la détection; n.d : non déterminé ; nm : nanomètres; * : la vitamine B6 est également détectée comme 5'-PLP : 5'-phosphate pyridoxal.

Les concentrations en vitamines hydrosolubles détectées dans le plasma à l'aide de la méthode d'HPLC étaient comparables à celles qui ont été rapportées dans d'autres études (tableau 4).

Tableau 4 Concentrations des vitamines hydrosolubles dans le plasma de 24 participants à l'étude

VITAMINE	MOYENNE (n =24)	ERREUR STANDARD *	VALEUR DE RÉFÉRENCE [†] (INTERVALLE)
C (µmol/l)	44,7	16,3	24 à 84
B1 (nmol/l)	51,3	27,6	9 à 44
B2 (nmol/l)	15,6	5,5	6,2 à 39
B5 (nmol/l)	32,3	32,7	n.d.
B6 (nmol/l)	73,3	37,9	7 à 52
B9 (nmol/l)	8,5	4,3	3,1 à 18
B12 (nmol/l)	5,7	1,7	1,9 à 3,5

Source : tableau adapté de l'article Giorgi et al., 2012.

* : l'erreur standard plus élevée pour les vitamines B1, B5 et B6 reflète une grande variabilité des concentrations au sein des individus testés. † : Les valeurs de référence ont été adaptées par Giorgi et ses collaborateurs à partir des articles suivants : [Talwar et al., 2005; Malmauret et al., 2002]

De plus, l'évaluation du pourcentage de recouvrement des vitamines à partir du plasma contenant des concentrations respectives inférieures ou égales à 20 ng/µl, ont donné des valeurs allant de 93 % à 100 % [Giorgi et al., 2012].

En conclusion, les auteurs ont jugé la méthode HPLC suffisamment sensible pour détecter les vitamines hydrosolubles dans un milieu aussi complexe que le plasma. De même, ils suggèrent de l'utiliser comme une méthode clinique de routine pour l'analyse des échantillons à concentration limitée en vitamines hydrosolubles [Giorgi et al., 2012].

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a effectué l'analyse à partir d'étalons de vitamines contenues dans l'eau ou dans une solution d'acide oxalique afin d'assurer la stabilité des échantillons. Un contrôle interne a également été ajouté à chaque échantillon testé.

Paramètres de la chromatographie

La colonne utilisée pour la chromatographie était une Eclipse^{MC} mesurant 4,6 x 150 mm, avec une granulométrie de 3,5 µm. La détection des substances à analyser était effectuée grâce à une lampe UV-Vis à 270 nm, la température de la colonne était établie à 60°C avec un débit fixé à 0,5 ml/min pour un volume

d'injection de 20 µl. La durée du chromatogramme rapportée s'élevait à 22 minutes. Le demandeur prévoit l'utilisation des colonnes Novum SLE^{MC} (*simplified liquid extraction*) de Phenomenex afin d'extraire les vitamines. Les différents chromatogrammes des vitamines hydrosolubles et du contrôle interne sont présentés à l'annexe A. Les données sur l'évaluation de la linéarité sont rapportées à l'annexe B.

6. IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la mesure quantitative des vitamines hydrosolubles (B1, B2, B3, B6 et C) par HPLC. 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 5. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Cette analyse vise les personnes présentant des signes de carence en une ou plusieurs vitamines hydrosolubles et chez qui un diagnostic est à préciser;
- Une augmentation du nombre d'analyses envoyées hors Québec a été observée depuis 2013-2014;
- En 2015-2016, 257 analyses ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 61 \$. Le rapatriement de l'ensemble de ces tests est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*;
- Selon l'opinion d'experts consultés, le nombre de tests réalisés une fois l'analyse introduite au *Répertoire* devrait être considérablement plus important que le nombre d'analyses actuellement envoyées hors Québec;
- Ainsi, il est estimé que 735, 846 et 974 analyses seraient effectuées pour chacune 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 13,4.

Tableau 5 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant la mesure quantitative des vitamines hydrosolubles (B1, B2, B3, B6 et C) par HPLC

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative des vitamines hydrosolubles au Répertoire				
Analyses hors Québec	303	369	434	1 106
Coûts	18 513 \$	22 546 \$	26 517 \$	67 576 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative des vitamines hydrosolubles au Répertoire				
Analyses HPLC	735	846	974	2 555
Coûts	9 849 \$	11 336 \$	13 052 \$	34 237 \$
Impact net	-8 664 \$	-11 210 \$	-13 465 \$	-33 339 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			-37 427 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			-24 840 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative des vitamines hydrosolubles (B1, B2, B3, B6, et C) par HPLC pourrait générer une réduction de coûts d'environ 33 000 \$ pour le total des trois premières années.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Selon les experts, 90 % de vitamine B1 contenue dans un échantillon de sang total sont présents à 80 % dans les érythrocytes et à moins de 10 % dans le plasma. De ce fait, la détection et la quantification de cette vitamine seraient plus appropriées à partir d'échantillons d'érythrocytes. Il a été démontré chez les alcooliques malnutris ou chez les personnes ayant subi une chirurgie bariatrique qu'une carence en thiamine peut dégénérer en syndrome de Wernicke-Korsakoff. Néanmoins, l'administration de la thiamine en traitement prophylactique chez les patients alcooliques est susceptible de prévenir les symptômes de cette affection [Groen et Hoff, 1977].

Les autres populations à risque de développer des carences ont été identifiées chez les personnes âgées dénutries, les jeunes patients présentant certaines affections (autisme, affections cardiovasculaires, etc.), ou chez ceux qui étaient soumis à une dialyse suite à une maladie rénale en phase terminale [Golriz et al., 2017; Clase et al., 2013].

Une revue systématique récente a souligné des risques de carence en vitamines B1, B2, B3, B6 et C associés à une ration inadéquate en ces dernières chez les personnes âgées. Ces risques sont rapportés chez 24 % de femmes contre 31 % d'hommes pour la vitamine B6. Les risques de carence en vitamines B2 et C ont été notifiés chez 31 % et 41 % de femmes, tout comme chez 23 % et 29 % d'hommes [Porter et al., 2016; ter Borg et al., 2015].

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

European Federation of Neurological Societies (EFNS)

En cas de soupçon d'une encéphalopathie de Wernicke-Korsakoff chez tout patient, la Fédération européenne des sociétés neurologiques recommande de mesurer la teneur totale en thiamine d'un échantillon de sang du patient par HPLC immédiatement avant toute administration de la thiamine [Galvin et al., 2010].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Mesure quantitative des vitamines hydrosolubles (B1, B2, B3, B6 et C) par chromatographie liquide haute performance (HPLC)

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 reconnaissent l'utilité du test ainsi que les avantages de le rapatrier au Québec.
- ✓ Le risque de surutilisation de l'analyse suite à son rapatriement constitue une préoccupation importante pour les membres du comité. À ce titre, ils suggèrent au demandeur de mettre en place un mécanisme et un algorithme destinés à assurer un encadrement strict de l'accès au test.
- ✓ La validation analytique doit être complétée notamment avec l'utilisation d'échantillons cliniques. Actuellement, les données présentées ne démontrent que la faisabilité de l'analyse par HPLC.

ANNEXE A : Résultats préliminaires du demandeur

1.

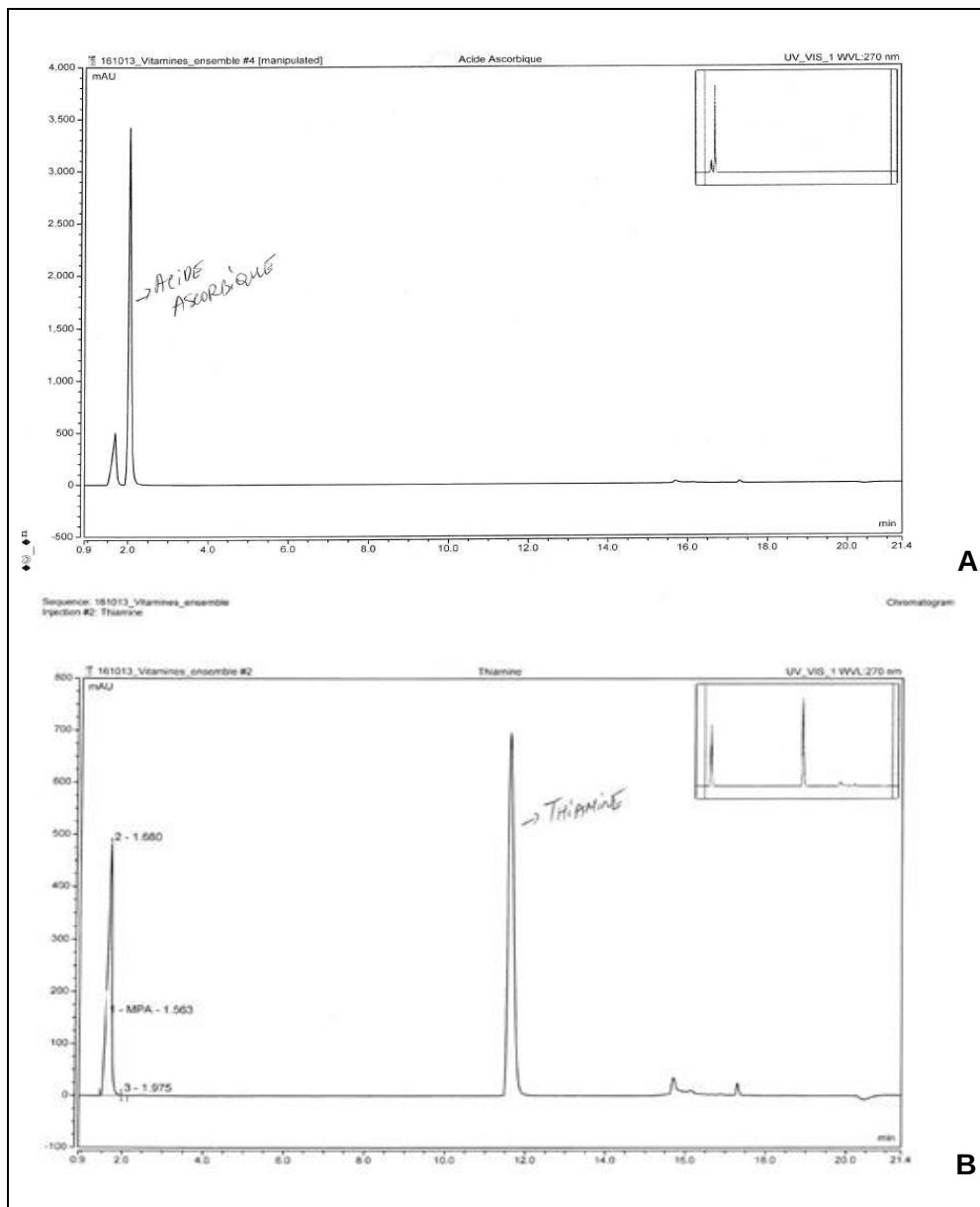


Figure 1 Chromatogramme des vitamines hydrosolubles

A : Acide Ascorbique ou vitamine C; B : Thiamine ou vitamine B1

Source : Données préliminaires du demandeur

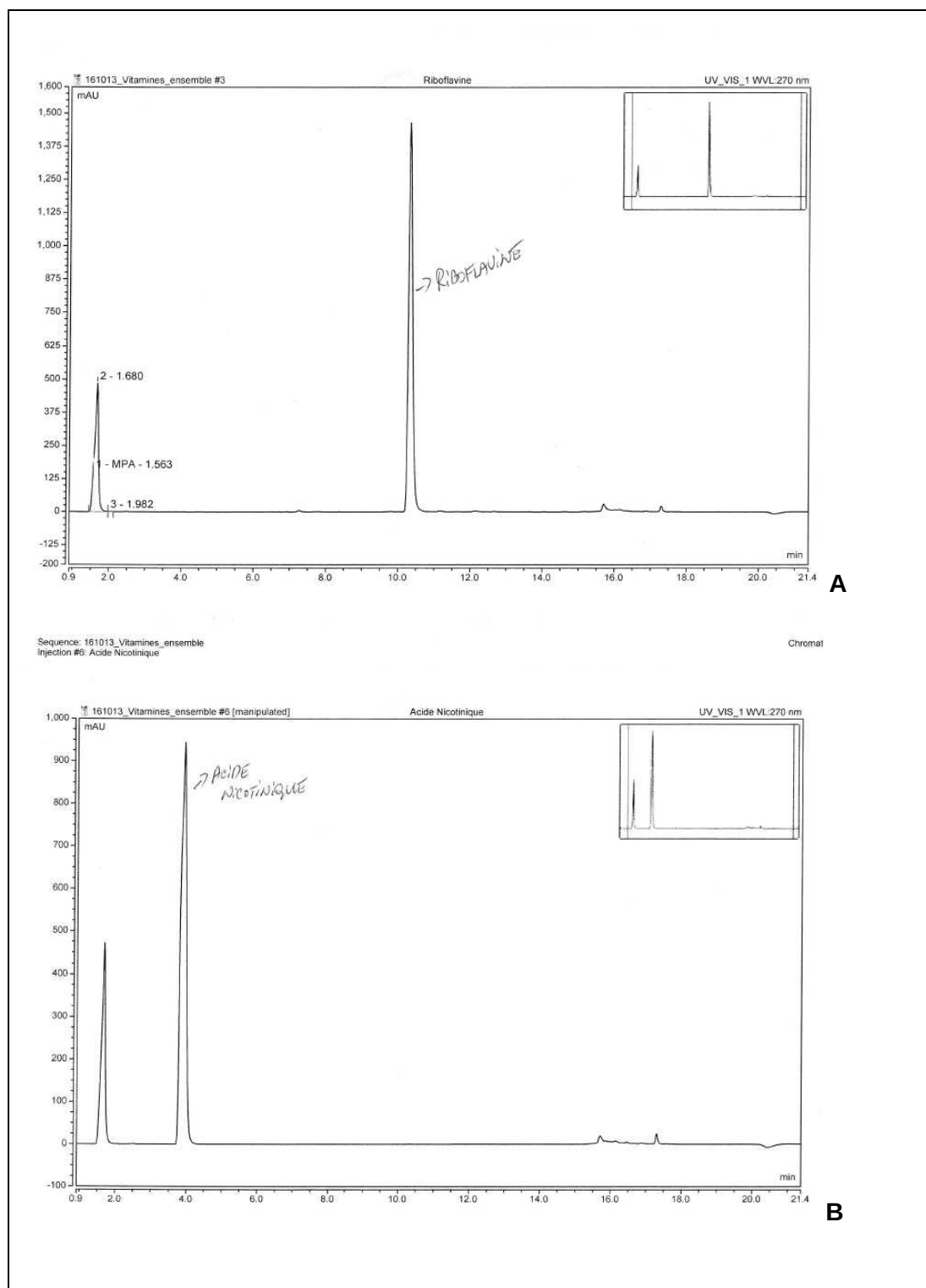


Figure 2 Chromatogramme des vitamines hydrosolubles

A : Riboflavine ou vitamine B2 ; B : Acide nicotinique ou vitamine B3

Source : Données préliminaires du demandeur

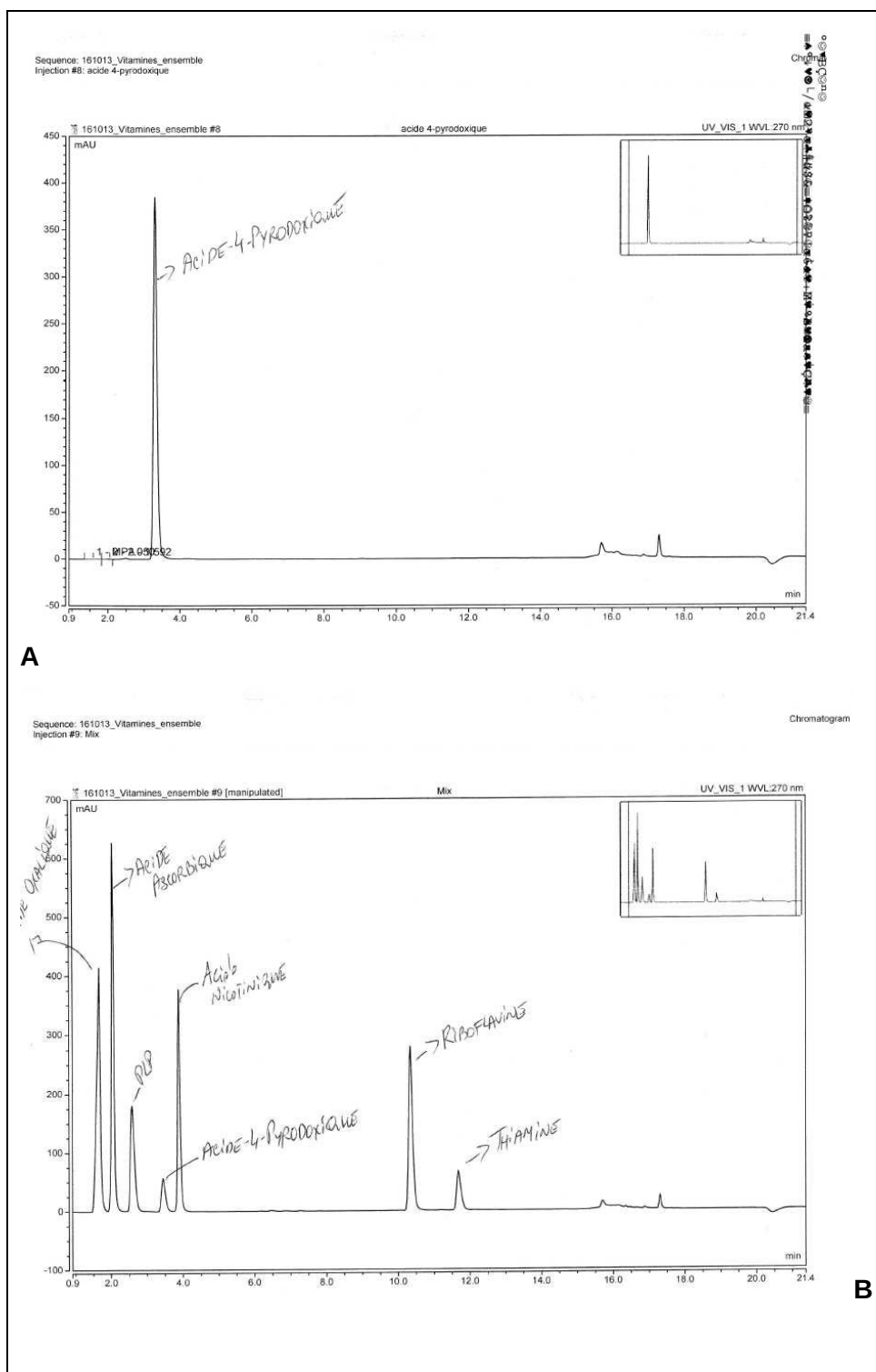


Figure 3 Chromatogramme des vitamines hydrosolubles et de l'acide oxalique

A : Acide 4-pyridoxique ou vitamine B6 ; B : Chromatogramme représentant les détections des substances suivantes : l'acide oxalique, de l'acide ascorbique (vitamine C), du phosphate de Pyridoxal (Vitamine B6-PLP), l'acide 4-pyridoxique (Vitamine B6-4PA), la riboflavine, et la thiamine.

Source : Données préliminaires du demandeur

ANNEXE B : Évaluation de la linéarité

Tableau 1 Évaluation de la linéarité dans la détection des vitamines hydrosolubles par HPLC

SUBSTANCE DÉTECTÉE	NOMBRE DE MESURES [*] (n)	COEFFICIENT DE CORRÉLATION (R ²)
Vitamine C	4	0,9963
Vitamine B1	4	0,9976
Vitamine B2	4	0,9965
Vitamine B6-PLP	4	0,9934
Vitamine B6-4PA	4	0,9988
Theobromine [†]	4	0,9957

Source : Données préliminaires du demandeur

Abréviations : 4PA : Acide 4-pyridoxique ; PLP : Phosphate de pyridoxal

* : La linéarité est étudiée sur un intervalle de mesure couvert par une série de six concentrations allant de 20 % à 120 % de la concentration initiale de dosage

† : La théobromine tient lieu de contrôle interne

RÉFÉRENCES

- Aguilar M-I. HPLC of Peptides and Proteins. New York : Springer New York; Methods in Molecular Biology 2004(251).
- Becker DA, Balcer LJ, Galetta SL. The Neurological Complications of Nutritional Deficiency following Bariatric Surgery. *J Obes* 2012;2012:608534.
- Cheng D, Kong H, Pang W, Yang H, Lu H, Huang C, Jiang Y. B vitamin supplementation improves cognitive function in the middle aged and elderly with hyperhomocysteinemia. *Nutr Neurosci* 2016;19(10):461-6.
- Clase CM, Ki V, Holden RM. Water-soluble vitamins in people with low glomerular filtration rate or on dialysis: a review. *Semin Dial* 2013;26(5):546-67.
- Dreyfus PM et Victor M. Effects of thiamine deficiency on the central nervous system. *Am J Clin Nutr* 1961;9:414-25.
- Fernandes LMP, Bezerra FR, Monteiro MC, Silva ML, de Oliveira FR, Lima RR, et al. Thiamine deficiency, oxidative metabolic pathways and ethanol-induced neurotoxicity: how poor nutrition contributes to the alcoholic syndrome, as Marchiafava-Bignami disease. *Eur J Clin Nutr* 2017;71(5):580-6.
- Galvin R, Brathen G, Ivashynka A, Hillbom M, Tanasescu R, Leone MA. EFNS guidelines for diagnosis, therapy and prevention of Wernicke encephalopathy. *Eur J Neurol* 2010;17(12):1408-18.
- Giorgi MG, Howland K, Martin C, Bonner AB. A novel HPLC method for the concurrent analysis and quantitation of seven water-soluble vitamins in biological fluids (plasma and urine): a validation study and application. *ScientificWorldJournal* 2012;2012:359721.
- Golriz F, Donnelly LF, Devaraj S, Krishnamurthy R. Modern American scurvy - experience with vitamin C deficiency at a large children's hospital. *Pediatr Radiol* 2017;47(2):214-20.
- Groen RH et Hoff HC. Wernicke's disease. A catamnestic study of 50 patients. *Eur Neurol* 1977;15(2):109-15.
- Jung YC, Chanraud S, Sullivan EV. Neuroimaging of Wernicke's encephalopathy and Korsakoff's syndrome. *Neuropsychol Rev* 2012;22(2):170-80.
- Longo D, Fauci AS., Kasper, DL., Hauser, SL., Jameson, JL., Loscalzo J., Chapter 74. Vitamin and trace mineral deficiency and excess *Principles of internal medicine*, 18th edition 2012.
- Malmauret L, Leblanc J, Cuvelier I, Verger P. Dietary intakes and vitamin status of a sample of homeless people in Paris. *Eur J Clin Nutr* 2002;56(4):313-20.
- MML. Mayo Clinic, Mayo medical laboratories. Information tirée du site <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/> consulté le 7 juillet 2017 2017;
- OMS. Biochimie des troubles mentaux. Genève : 1969.
- OMS F. Nutrition. Organisation mondiale de la santé, Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture; directives sur l'enrichissement des

aliments en
micronutriments 2011;<http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241594012/fr/:379>.

- Porter K, Hoey L, Hughes CF, Ward M, McNulty H. Causes, Consequences and Public Health Implications of Low B-Vitamin Status in Ageing. *Nutrients* 2016;8(11)
- Sechi G, Sechi E, Fois C, Kumar N. Advances in clinical determinants and neurological manifestations of B vitamin deficiency in adults. *Nutr Rev* 2016;74(5):281-300.
- Sola E, Morillas C, Garzon S, Ferrer JM, Martin J, Hernandez-Mijares A. Rapid onset of Wernicke's encephalopathy following gastric restrictive surgery. *Obes Surg* 2003;13(4):661-2.
- STATCAN. Les niveaux de vitamine C chez les Canadiens adultes selon les résultats de l'enquête canadienne sur les mesures de la santé, 2012-2013. Statistique Canada : Kellie Langlois, Marcia Cooper et Cynthia K. Colapinto; 2016;27(5):3 à 11.
- Talwar DK, Azharuddin MK, Williamson C, Teoh YP, McMillan DC, St JORD. Biological variation of vitamins in blood of healthy individuals. *Clin Chem* 2005;51(11):2145-50.
- ter Borg S, Verlaan S, Hemsworth J, Mijnders DM, Schols JM, Luiking YC, de Groot LC. Micronutrient intakes and potential inadequacies of community-dwelling older adults: a systematic review. *Br J Nutr* 2015;113(8):1195-206.
- Toth C et Voll C. Wernicke's encephalopathy following gastroplasty for morbid obesity. *Can J Neurol Sci* 2001;28(1):89-92.

MUCOPOLYSACCHARIDES (GLYCOSAMINOGLYCANES), FRACTIONNEMENT ET QUANTIFICATION PAR LC-MS/MS (RÉFÉRENCE - 2017.02.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CIUSSS de l'Estrie-CHUS

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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

Monsieur Guy Fink et madame 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, les expertes consultées sont :

- **D^{re} Geneviève Bernard**, neurologue pédiatrique, Hôpital de Montréal pour enfants du Centre universitaire de santé McGill;
- **D^{re} Alina Levtova**, médecin généticienne, CHUM.

2 RÉSUMÉ

Contexte. Au Québec, le diagnostic préliminaire des mucopolysaccharidoses (MPS) consiste à doser les glycosaminoglycanes (ou GAG) totaux par la méthode spectrophotométrique au DMB (code 50562 au *Répertoire*) suivie, au besoin, d'un deuxième test d'identification (analyse envoyée hors Québec). Or, la LC-MS/MS offre la possibilité de remplacer ces deux étapes d'analyse par une seule étape qui serait plus performante. Elle permettrait de quantifier individuellement les GAG pour l'investigation diagnostique des MPS et, de cette façon, de cibler les investigations subséquentes (enzymatique ou génétique) pour la confirmation du diagnostic spécifique.

Valeur diagnostique. La LC-MS/MS peut détecter l'élévation des GAG urinaires chez les patients atteints de MPS. L'UPLC-MS/MS (une variante de la LC-MS/MS), comparativement à la DMB-spectrophotométrie, présente une sensibilité clinique plus élevée (100 % contre 90 %) et offre une mesure plus précise (CV de 22 % contre 46 %). La présence plus nombreuse de faux négatifs avec la DMB-spectrophotométrie pourrait indiquer une sensibilité plus faible que la valeur présentée. Par contre, la spécificité clinique est moins élevée (92,3 % contre 97,4 %). L'UPLC-MS/MS, tout comme la LC-MS/MS, permet de quantifier les GAG spécifiques (CS, DS, HS) pour le diagnostic préliminaire d'un sous-type de MPS.

Validité analytique. La LC-MS/MS (et sa variante UPLC-MS/MS) présente une limite de détection variant entre 0,1 µg/ml et 2 µg/ml et une limite inférieure de quantification variant entre 0,4 µg/ml et 6 µg/ml. Le taux de recouvrement est d'au moins 94 %. Le coefficient de variation se situe entre 1 % et 18 % pour la précision alors que le biais varie entre -12,9 % et 18,4 % pour l'exactitude.

Impacts budgétaires. L'introduction au *Répertoire* de la présente analyse pourrait générer une réduction de coûts d'environ 117 000 \$ pour le total des trois premières années, selon un scénario dans lequel 90 % des tests sont effectués par cette méthode. Advenant que l'analyse soit celle utilisée en première ligne pour l'ensemble des besoins du Québec (100 % des tests effectués par cette méthode), une réduction de coûts plus importante, soit d'environ 129 000 \$, pourrait être réalisée.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt. Aucun guide de pratique clinique n'a été répertorié relativement à cette analyse. Des recommandations d'un comité d'experts suggèrent de réaliser conjointement les analyses quantitatives et qualitatives des GAG urinaires afin d'éviter des résultats de faux négatifs. En outre, la LC-MS/MS est mentionnée comme étant une méthode prometteuse qui fournit des informations à la fois quantitatives et qualitatives d'un GAG spécifique. L'analyse des GAG urinaires devrait être utilisée comme test préliminaire et nécessiter la confirmation du diagnostic spécifique d'une MPS.

3. ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

Cette analyse serait réalisée dans l'investigation diagnostique des mucopolysaccharidoses (MPS) suivantes : MPS I (maladie de Hurler ou de Scheie), MPS II (maladie de Hunter), MPS III (Sanfilippo) types A, B, C et D, MPS IV (Morquio) type A, MPS VI (Maroteaux-Lamy) et MPS VII (Sly). La MPS IV type B n'est pas identifiée par cette analyse. Un dosage enzymatique est toutefois disponible en cas de suspicion.

L'analyse permettrait d'établir un diagnostic préliminaire des MPS chez les patients à risque et de cibler les investigations subséquentes (dosages enzymatiques ou analyses moléculaires) pour la confirmation du diagnostic spécifique. Elle serait utilisée comme test de première ligne.

Cette analyse n'a pas pour objet de permettre le monitoring d'un traitement puisqu'il n'existe pas de recommandations officielles en ce sens. De plus, la littérature scientifique présente d'autres biomarqueurs suggérés à cette fin, quoique davantage de recherches soient nécessaires pour déterminer les biomarqueurs les plus appropriés selon les cas [Clarke *et al.*, 2012; Coutinho *et al.*, 2012; Lehman *et al.*, 2011].

3.2 Description de la méthode

La LC-MS/MS est une analyse quantitative avec une méthode de dilution à l'isotope stable. L'analyse permet le fractionnement, l'identification et la quantification individuelle des mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes ou GAG) présents dans un spécimen urinaire, soit le chondroïtine sulfate (CS), le dermatane sulfate (DS) et l'héparane sulfate (HS).

La technique comporte trois étapes :

- 1) la préparation de l'échantillon;
- 2) la chromatographie en phase liquide (LC);
- 3) l'analyse par spectrométrie de masse (MS).

La préparation des échantillons consiste à dériver chimiquement les GAG contenus dans les spécimens urinaires en disaccharides avec une solution d'acide chlorhydrique dans le méthanol pour former les disaccharides méthylés (méthanolyse).

La LC est une méthode qui permet de séparer les molécules d'une substance selon ses propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, hydrophobicité ou autre). Dans

le cas présent, il s'agit d'une chromatographie à interaction hydrophile, HILIC³⁵, dont la phase stationnaire hydrophile est de type amide.

La MS 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, par exemple : ionisation électro-spray (ESI), ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) ou autre; 2) un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction du rapport masse sur charge (m/z). Les analyseurs peuvent être couplés de façon séquentielle. Il s'agit de la spectrométrie de masse à plusieurs dimensions (en tandem dans le cas présent, donc MS/MS). Un premier analyseur sélectionne les ions selon un certain m/z (purification). L'ion purifié est ensuite fragmenté dans une chambre de collision. Un deuxième analyseur mesure le m/z des fragments selon différents modes d'acquisition (les modes SRM³⁶ et MRM³⁷ permettent la quantification des fragments) [Grebe et Singh, 2011]. Le traitement des résultats d'analyse est effectué avec le logiciel MassHunter (Agilent Technologies^{MC})³⁸.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

La collecte d'un spécimen urinaire d'au moins 1 ml est effectuée dans un établissement du réseau. L'échantillon sera expédié congelé au laboratoire d'analyse par le centre demandeur.

La fréquence du test suggérée par le demandeur sera habituellement d'une fois par semaine, avec des résultats disponibles en 5 jours ouvrables.

3.4 Société ou concepteur

il s'agit d'une analyse « maison ».

3.5 Homologation

Analyse maison non homologuée par Santé Canada ou la FDA.

3.6 Valeur pondérée : 19,16

³⁵ HILIC : de l'anglais, *hydrophilic interaction liquid chromatography*

³⁶ SRM : de l'anglais *selected reaction monitoring*

³⁷ MRM : de l'anglais *multiple reaction monitoring*

³⁸ Manuel de procédure de laboratoire de génétique biochimique, PRG-8200-MPSMS-01-A, CHUS, fourni par le demandeur, le 14 juillet 2017.

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients (en particulier les enfants) avec suspicion d'une mucopolysaccharidose à la suite de manifestations cliniques ou ayant un risque accru d'en être atteints.

4.2 Description de la maladie visée

Les mucopolysaccharidoses (MPS) sont un ensemble de maladies héréditaires rares du métabolisme causées par la déficience d'une ou de plusieurs enzymes lysosomales nécessaires à la dégradation des glycosaminoglycanes (GAG), ce qui résulte en une accumulation des GAG dans l'urine, le sang et les tissus [Zhang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2013].

Les manifestations cliniques de MPS sont diverses et variables. Elles incluent un retard ou une régression du développement, des troubles de comportement, une hépatosplénomégalie, des dysmorphies faciales, des dysplasies squelettiques, des cardiomyopathies et des problèmes d'audition. De plus amples détails sont présentés dans l'annexe A. Ces caractéristiques peuvent survenir de la naissance à tard dans l'enfance ou même à l'âge adulte, dépendamment de la sévérité du type de MPS [Chuang *et al.*, 2014].

L'incidence des MPS est estimée à 1 sur 25 000 naissances vivantes [Tomatsu *et al.*, 2014; Tomatsu *et al.*, 2010]. Au Québec, il y a approximativement 100 patients atteints d'une mucopolysaccharidose (toutes maladies combinées), soit environ 2 à 4 cas diagnostiqués annuellement (informations fournies par le demandeur).

Les traitements thérapeutiques les plus couramment offerts incluent la thérapie de substitution enzymatique (perfusions intraveineuses hebdomadaires à vie), la greffe de cellules souches hématopoïétiques et la greffe de moelle osseuse [GMM, 2016; Zhang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2013; Orphanet]. Ces traitements ont partiellement réussi à alléger les symptômes des patients atteints de MPS [Zhang *et al.*, 2015]. Toutefois, aucune des options thérapeutiques actuellement disponibles ne permet une résolution complète de la morbidité; la gestion des MPS requiert une prise en charge à vie [Coutinho *et al.*, 2012]. Le pronostic est variable d'une maladie à l'autre et d'un patient à l'autre. Il dépend notamment de la gravité et de la progression de la maladie, de la qualité de la prise en charge et de l'âge du patient lors du traitement (annexe A).

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

En 2016-2017, le laboratoire du demandeur a réalisé 640 analyses de GAG totaux (code 50562) en tant que centre désigné suprarégional. La majorité de ces analyses (environ 90 %) est faite, sur le plan provincial, à ce laboratoire. Ainsi, le volume annuel d'analyses prévu est approximativement entre 60 et 80 tests pour le RUIS du CIUSSS-CHUS. Le volume annuel d'analyses prévu pour le Québec est estimé entre 600 et 800 tests par année (informations fournies par le demandeur).

4.4 Situation actuelle

Au Québec, le diagnostic préliminaire des MPS consiste à doser les GAG totaux par la méthode spectrophotométrique au DMB (code 50562) suivie, au besoin, d'un deuxième test d'identification utilisant une séparation des GAG au moyen de la chromatographie sur couche mince (envoi hors Québec). Puis, selon les résultats obtenus, des analyses enzymatiques ou génétiques sont effectuées pour établir un diagnostic spécifique et définitif. Un traitement adapté au diagnostic est alors donné au patient.

Dans la méthode spectrophotométrique au DMB, le bleu de diméthylméthylène est un colorant cationique qui se lie aux GAG sulfatés. Il en résulte un changement d'absorbance qui est détecté par le spectrophotomètre. Cette méthode est décrite comme étant un outil reproductible et économique, mais elle ne permet pas de séparer les GAG [Kubaski *et al.*, 2017].

La chromatographie sur couche mince sépare les GAG selon leur taille et les niveaux de sulfatation. Cette méthode rencontre toutefois certaines faiblesses : le chevauchement des facteurs de rétention des différents GAG peut mener à une erreur d'identification des MPS, et la sensibilité ainsi que la spécificité de la méthode sont insuffisantes pour identifier tous les types de MPS [Kubaski *et al.*, 2017].

4.5 Données médico-administratives

Dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*), il existe une analyse permettant de doser les GAG totaux (code 50562), mais elle ne fractionne pas les mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes) pour avoir un dosage individuel de ces derniers. Le tableau 1 présente les données du MSSS relativement au volume d'activités et aux coûts des analyses.

Tableau 1 Nombre d'analyses en lien avec le dosage des GAG totaux pour les années 2014-2015 et 2015-2016

Mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes), quantitatif, code 50562	VALEUR PONDÉRÉE	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT ANNUEL (\$)
2014 – 2015	73	488	35 624
2015 – 2016	71	616	43 736

Source : données du ministère de la Santé et des Services sociaux

Lorsque nécessaire, l'analyse est envoyée hors du Québec pour l'identification des GAG à l'aide d'une méthode qualitative. En 2014-2015, 6 demandes d'envois hors du Québec ont été effectuées : une demande a été envoyée à la Mayo Clinic (États-Unis) pour un dosage des GAG urinaires par LC-MS/MS et cinq demandes, au Hospital for Sick Children (SickKids, Toronto) pour une analyse par chromatographie liquide sur couche mince (quatre demandes) ou un dépistage de

MPS sans autre précision sur la méthode (une demande). Le tableau 2 présente les données du MSSS relativement au volume d'activités et aux coûts des analyses envoyées hors Québec.

Tableau 2 Envois hors Québec des analyses pour l'identification ou la quantification individuelle des GAG pour les années 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016

Mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes), identification	COÛT UNITAIRE MOYEN (\$)	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT ANNUEL (\$)
2013 – 2014	26	2	52
2014 – 2015	109	6	656
2015 – 2016	97	1	97

Source : données du ministère de la Santé et des Services sociaux

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Offrir cette analyse comme test de première ligne au lieu du test

Mucopolysaccharides totaux (code 50562) permettrait :

- La possibilité de remplacer les deux étapes d'analyse de l'approche traditionnelle (spectrophotométrie suivie d'une chromatographie) par une seule étape qui serait plus performante pour identifier les patients atteints de mucopolysaccharidoses de divers types;
 - D'éviter l'envoi de l'analyse à l'extérieur du Québec pour une chromatographie à couche mince (méthode qualitative);
 - D'offrir un test possédant une plus grande sensibilité (méthode quantitative);
 - D'optimiser le temps d'analyse pour établir un diagnostic plus rapidement et donc, offrir aux patients un traitement adapté au type de MPS avant l'apparition de manifestations cliniques graves ou limiter les séquelles de la maladie.
- La possibilité d'offrir la présente analyse comme test de deuxième ligne afin de confirmer ou clarifier un résultat anormal ou limite obtenu par la spectrophotométrie au DMB (code 50562).

4.7 Assurance qualité

L'utilisation de contrôles internes « maison » est prévue. Ceux-ci sont fabriqués à partir d'échantillons d'urine de patients normaux auxquels sont ajoutés des mucopolysaccharides (CS, DS, HS) à des concentrations normales et anormales. Des contrôles positifs constitués d'urines de cas confirmés pour les maladies ciblées par le test sont également disponibles.

Le demandeur participe à des programmes de contrôle de la qualité externe :

- CAP³⁹ Biochemical Genetics BGL-A : inclut un volet « mucopolysaccharides » avec des aspects qualitatifs (interprétation et diagnostic) et quantitatifs (incluant la quantification des mucopolysaccharides individuels);
- ERNDIM⁴⁰ Urine Mucopolysaccharides Scheme : participation depuis 2016 en tant que « participant académique »⁴¹. Inscription prévue en tant que « participant régulier » pour l'année 2018. Ce programme est qualitatif (compétence diagnostique).

Dans le cadre du programme ERNDIM, le laboratoire du demandeur reçoit chaque année deux distributions de 3 échantillons (au printemps et en automne), pour un total de 6 échantillons par année.

5. DONNÉES PUBLIÉES

Six études ont rapporté la valeur diagnostique ou la validité analytique d'analyses des GAG urinaires par la LC-MS/MS ou l'une de ses variantes. Seulement trois d'entre elles ont comparé ces méthodes avec la DMB-spectro⁴². Les caractéristiques des études retenues sont présentées au tableau 3. Les détails techniques de la LC-MS/MS (ou une variante) utilisée dans ces études sont présentés à l'annexe B.

³⁹ CAP : College of American Pathologists

⁴⁰ ERNDIM : European Research Network for Evaluation and Improvement of Screening, Diagnosis and Treatment of Inherited Disorders of Metabolism

⁴¹ La catégorie « participant académique » est conçue spécifiquement pour soutenir les laboratoires qui sont en train de développer un test, mais qui ne l'offrent pas encore officiellement sur une base clinique, contrairement à la catégorie « participant régulier ». Les deux catégories de participants reçoivent les mêmes échantillons à analyser de la même façon (« à l'aveugle » ou en simple insu).

⁴² Dans un souci de concision, la méthode spectrophotométrique au bleu de diméthylméthylène sera nommée DMB-spectro dans le reste du document.

Tableau 3 SOMMAIRE DES ÉTUDES RETENUES

ÉTUDE	V D	V A	MÉTHODE ÉTUDIÉE C. COMPARATIVE	SUJETS TÉMOINS (ÂGE)	CAS CLINIQUES (ÂGE)	TYPE MPS
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2016	x	x	UPLC-MS/MS <i>contre</i> DMB-spectro	79 (1 m - 58 ans)	58 (9 m - 42 ans)	I, II, III, IVA, VI
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2011		x	LC-MS/MS	55 (41 jrs - 18 ans)	28 (1 - 42 ans)	I, II, VI
Chuang <i>et al.</i> , 2014		x	LC-MS/MS	39	37	I, II, III, VI
Langereis <i>et al.</i> , 2015	x	x	UPLC-MS/MS <i>contre</i> DMB-spectro	61	100 (0,1 - 66,9 ans) et 39 (1 jr - 62,5 ans)	I, II, III, IVA, IVB, VI, VII
Tomatsu <i>et al.</i> , 2010	x		LC-MS/MS	31 (0,15 - 42 ans)	49 (0,2 - 39,3 ans)	I, II, IIIA, IV, VI, VII
Zhang <i>et al.</i> , 2015	x	x	UPLC-MS/MS <i>contre</i> DMB-spectro	48 (< 1 an) et 121 (1 - 70 ans)	26	I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IVA, VI

Abréviations : c. : contre; DMB-spectro : méthode spectrophotométrique au DMB; jrs : jours; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem; m : mois; MPS : mucopolysaccharidose; UPLC-MS/MS : chromatographie liquide à ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse en tandem; VA : validité analytique; VD : valeur diagnostique.

5.1 Valeur diagnostique

Quatre études traitant de la valeur diagnostique de l'analyse des GAG urinaires par la LC-MS/MS (ou une variante) ont été retenues [Auray-Blais *et al.*, 2016; Langereis *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015; Tomatsu *et al.*, 2010].

Détection de l'élévation des GAG urinaires chez les patients atteints de MPS

L'étude réalisée par Tomatsu et ses collaborateurs [2010] a pour objectif, entre autres, d'utiliser la LC-MS/MS pour déterminer les niveaux de DS et HS chez les patients atteints de MPS. Des échantillons d'urine de 49 patients et de 31 sujets témoins (sains) appariés pour l'âge ont été analysés. Chez 92,3% (36/39) des patients atteints de MPS I, II, III ou VII, il y avait une élévation significative d'HS urinaire, comparativement aux témoins ($p < 0,0001$). Cette augmentation était également significative chez 2/5 patients atteints de MPS IVA et chez 2/3 patients atteints de MPS VI. Chez tous les patients ayant une MPS I ($n = 17$), une MPS II ($n = 19$) et une MPS VI ($n = 3$), il y avait une élévation significative de DS urinaire comparativement aux témoins. Cette augmentation était également significative chez 2/3 patients atteints de MPS III, 2/5 patients atteints de MPS IVA et 1/2

patients ayant une MPS VII. Par ailleurs, la concentration de GAG urinaires totaux était significativement plus élevée chez les patients atteints d'une MPS comparativement à celle des témoins appariés pour l'âge. Bref, la LC-MS/MS a permis de distinguer la plupart des patients atteints de MPS des sujets témoins en se basant sur une élévation significative des DS, HS et des GAG urinaires totaux.

Diagnostic préliminaire, comparaison entre la LC-MS/MS et la DMB-spectro

Dans l'étude d'Auray-Blais et ses collaborateurs [2016], l'objectif principal était de développer et de valider la méthode UPLC-MS/MS afin d'analyser un spectre plus large de profils de GAG, en ciblant en particulier les disaccharides de CS, DS et HS. La méthode a ensuite été comparée à la DMB-spectro. Des échantillons urinaires de 58 patients atteints de MPS variés et de 79 sujets témoins (sains) ont été utilisés. Comparativement à l'UPLC-MS/MS, la DMB-spectro n'a pas pu détecter une MPS chez 30 % (7/23) des patients (faux négatifs) et a présenté des résultats près de la limite des valeurs de référence chez 13 % (3/23) des autres patients. Aussi, les résultats faux positifs ou limites étaient causés principalement par l'interférence des substances comme le collagène, les glycoprotéines, et les protéines (albumine ou autres protéines du sérum) qui peuvent modifier les propriétés physicochimiques des GAG.

L'étude de Zhang et ses collaborateurs [2015] a comparé l'UPLC-MS/MS (une variante de la LC-MS/MS) à la DMB-spectro à partir d'échantillons de 26 cas cliniques et de 121 sujets témoins. Les valeurs des GAG totaux analysés avec la méthode DMB-spectro étaient sous ou proches des limites d'intervalle de référence et pouvaient mener à une erreur de diagnostic (faux négatifs). C'était notamment le cas de 6 patients pour lesquels le diagnostic de MPS n'aurait pas pu être établi alors qu'il y avait une nette élévation des GAG individuels spécifiques aux sous-types de MPS, détectée par la méthode UPLC-MS/MS. De plus, celle-ci a permis de discriminer les patients atteints de MPS III, MPS IVA et MPS VI de ceux avec MPS I et MPS II, et des contrôles. Par exemple, chez 7 patients atteints de MPS IVA, une nette élévation de CS, mais non de DS ni d'HS, était compatible avec le diagnostic de ce sous-type. Ainsi, la LC-MS/MS a permis de détecter et de quantifier les GAG spécifiques (CS, DS, HS) pour le diagnostic préliminaire d'un sous-type de MPS. Cependant, les patients atteints de MPS IVB ne peuvent pas être repérés par cette méthode.

Afin de tester les fluctuations d'excrétion de l'HS à court terme chez un patient atteint de MPS III, des échantillons urinaires ont été collectés durant 9 jours [Zhang *et al.*, 2015]. Les résultats, obtenus par UPLC-MS/MS, ont montré que la concentration de l'HS varie avec un coefficient de variation (CV) de 22 % et une valeur excédant au moins 50 fois la limite supérieure des valeurs d'un témoin servant de contrôle de référence (apparié pour l'âge). À l'opposé, la DMB-spectro présentait un CV de 46 % pour les GAG totaux avec une valeur moyenne d'à peine deux fois la limite supérieure du témoin. Le fait de mesurer les GAG totaux au lieu d'un seul GAG (dans ce cas-ci, l'HS) augmente l'imprécision de la mesure puisque

les autres GAG peuvent aussi fluctuer durant la même période. La méthode DMB-spectro présente donc une moins grande sensibilité.

L'étude de Langereis et ses collaborateurs [2015] corrobore celle de Zhang et ses collaborateurs [2015] : l'UPLC-MS/MS présente une sensibilité clinique plus élevée que la DMB-spectro (100 % contre 90 %) et permet d'observer le profil d'élévation des GAG pour identifier les sous-types de MPS. Les auteurs ont conclu qu'il n'est donc plus nécessaire de recourir à une analyse supplémentaire (comme l'électrophorèse). Par contre, la spécificité clinique (92,3 % contre 97,4 %) est moins élevée (tableau 4).

Tableau 4 Performance clinique de la UPLC-MS/MS

ÉTUDE	ÉCHANTILLONS	MÉTHODE	SENSIBILITÉ CLINIQUE (%)	SPÉCIFICITÉ CLINIQUE (%)
Langereis <i>et al.</i> , 2015	61 sujets témoins 100 et 39 cas cliniques	UPLC-MS/MS	100 (n = 100)	92,3 (36/39)
		DMB-spectro	90 (90/100)	97,4 (38/39)

Abréviations : DMB-spectro : spectrophotométrie au DMB; UPLC-MS/MS : chromatographie liquide à ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse en tandem

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

Cinq études présentant des données de validation analytique de la LC-MS/MS (ou une variante) ont été retenues [Auray-Blais *et al.*, 2016; Langereis *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015; Chuang *et al.*, 2014; Auray-Blais *et al.*, 2011].

Sensibilité et spécificité analytique

Les valeurs de la limite de détection et de la limite inférieure de quantification de la LC-MS/MS (ou une variante) varient respectivement entre 0,1 µg/ml et 2 µg/ml et entre 0,4 µg/ml et 6 µg/ml. La linéarité est supérieure à 0,99. Le taux de recouvrement et l'effet de matrice sont respectivement d'au moins 94 % et de 2,6 % à 16,3 % (erreur standard relative) (tableau 5).

Précision et exactitude

La LC-MS/MS (ou une variante) présente un coefficient de variation (CV) qui se situe entre 1 % et 18 % pour la précision et un biais qui varie entre -12,8 % et 18,4 % pour l'exactitude (tableau 6).

Tableau 5 Sensibilité et spécificité des analyses des GAG urinaires par la LC-MS/MS (ou une variante)

ÉTUDE (MÉTHODE)	LINÉARITÉ		LOD (µg/ml)	LLOQ (µg/ml)	RECOUVREMENT (% CV)	EFFET DE MATRICE
	CONCENTRATION DE GAG (µg/ml)	COEFFICIENT DE CORRÉLATION (R ²)				
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2016 (UPLC-MS/MS)	CS : 0 – 400	> 0,995	0,1	0,5		RSD : 12,5
	DS : 0 – 400	> 0,995	0,8	2,5		RSD : 2,6
	HS : 0 – 400	> 0,995	0,2	0,7		RSD : 16,3
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2011 (LC-MS/MS)	DS : 25 – 1000	0,9996	2	6		
	HS : 25 – 1000	0,9993	2	6		
Chuang <i>et al.</i> , 2014 (LC-MS/MS)	DS : 12,5 – 200	0,9914		<0,6	94,3*	
	HS : 3 125 – 50	0,9935		0,65	95,1*	
Zhang <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS)	CS, DS, HS : 8 – 400	> 0,99	0,2	0,4		

Abréviations : CS : chondroïtine sulfate; CV : coefficient de variation; DS : dermatane sulfate; GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LLOQ : limite inférieure de la quantification (*lower limit of quantification*); LOD : limite de la détection (*limit of detection*); mg/dl : milligramme par décilitre; RSD : écart-type relatif (*relative standard deviation*); µg/ml : microgramme par millilitre

*À une concentration de 20 µg/ml

Tableau 6 Précision et exactitude des analyses des GAG urinaires par la LC-MS/MS (ou une variante)

ÉTUDE (MÉTHODE)	CONCENTRATION DE GAG (µg/ml)	PRÉCISION				EXACTITUDE			
		N	INTRA-JOUR CV (%)	N	INTER-JOUR CV (%)	N	INTRA-JOUR BIAIS (%)	N	INTER-JOUR BIAIS (%)
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2016 (UPLC-MS/MS)	CS : 3,8	4	RSD : 4,4	5	RSD : 4,4	4	7,5 – 18,4	5	-2,3 – 8,9
	CS : 18,7	4	RSD : 3,4	5	RSD : 7,6	4	-6,2 – 1,7	5	-12,8 – 7,1
	CS : 40,5	4	RSD : 2,7	5	RSD : 2,9	4	3,1 – 9,9	5	-4,5 – 3,1
	DS : 30	4	RSD : 1,7	5	RSD : 2,1	4	0,8 – 5,1	5	2,5 – 8,3
	DS : 140	4	RSD : 4,2	5	RSD : 3,6	4	-3,3 – 6,6	5	-6,3 – 2,9
	DS : 300	4	RSD : 1,9	5	RSD : 4,0	4	1,7 – 2,2	5	-4,0 – 6,7
	HS : 30	4	RSD : 1,9	5	RSD : 4,1	4	0,1 – 5,0	5	-0,6 – 9,9
	HS : 140	4	RSD : 7,6	5	RSD : 3,0	4	-12,0 – 4,7	5	2,9 – 11,1
	HS : 300	4	RSD : 2,5	5	RSD : 6,5	4	0,0 – 6,2	5	-12,6 – 3,2
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2011 (LC-MS/MS)	DS : 75	3	4,8	5	8,2	3	10,5	5	-1,0
	DS : 275	3	3,0	5	7,0	3	9,4	5	-1,7
	DS : 700	3	3,7	5	6,0	3	3,9	5	0,1
	HS : 75	3	5,2	5	13,1	3	3,3	5	0,3
	HS : 275	3	6,9	5	12,3	3	2,3	5	-1,6
	HS : 700	3	5,2	5	10,2	3	-11,3	5	-7,7
Chuang <i>et al.</i> , 2014 (LC-MS/MS)	DS : 10 HS : 2,5	18x3	9,7	18x2x 3 jrs	11,8				
	DS : 50 HS : 20	18x3	6,4	18x2x 3 jrs	7,6				
	DS : 150 HS : 40	18x3	5,9	18x2x 3 jrs	9,3				

ÉTUDE (MÉTHODE)	CONCENTRATION DE GAG (µg/ml)	PRÉCISION				EXACTITUDE			
		N	INTRA-JOUR CV (%)	N	INTER-JOUR CV (%)	N	INTRA-JOUR BIAIS (%)	N	INTER-JOUR BIAIS (%)
Langereis <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS)	DS, HS: 10	10	9 – 18*	10x10 jrs	4 – 18				
Zhang <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS) <i>Données à partir de contrôle de qualité</i>	CS : 5	5	3	10	1				
	CS : 200	5	3	10	4				
	DS : 10	5	4	10	8				
	DS : 36	5	1	10	5				
	DS : 320	5	4	10	5				
	HS : 10	5	8	10	11				
	HS : 45	5	7	10	11				
	HS : 320	5	7	10	6				
Zhang <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS) <i>Données à partir de calibrateurs</i>	CS Cal : 8			8	7			8	8
	CS Cal : 20			8	5			8	5
	CS Cal : 40			8	4			8	2
	CS Cal : 80			8	5			8	3
	CS Cal : 200			8	2			8	1
	CS Cal : 400			8	1			8	2
	DS Cal : 8			8	8			8	15
	DS Cal : 20			8	6			8	6
	DS Cal : 40			8	3			8	8
	DS Cal : 80			8	4			8	6
	DS Cal : 200			8	2			8	2

ÉTUDE (MÉTHODE)	CONCENTRATION DE GAG (µg/ml)	PRÉCISION				EXACTITUDE			
		N	INTRA-JOUR CV (%)	N	INTER-JOUR CV (%)	N	INTRA-JOUR BIAIS (%)	N	INTER-JOUR BIAIS (%)
	DS Cal : 400			8	1			8	3
	HS Cal : 8			8	10			8	7
	HS Cal : 20			8	8			8	3
	HS Cal : 40			8	8			8	7
	HS Cal : 80			8	4			8	4
	HS Cal : 200			8	3			8	2
	HS Cal : 400			8	2			8	1

Abréviations : Cal : calibrateur; CS : chondroïtine sulfate; CV : coefficient de variation; DS : dermatane sulfate; GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; jrs : jours; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; N : nombre d'échantillons; RSD : écart-type relatif (*relative standard deviation*); µg/ml : microgramme par millilitre.

*Précision en intra-essai

†En milligramme par gramme de créatinine (mg/g créatinine)

5.5 Données fournies par le demandeur

Les données de validation de la méthode proposée par le demandeur sont présentées dans le tableau 7. Les contrôles internes ont été préparés à partir d'un mélange d'échantillons d'urines de patients sains fortifié avec du CS, DS et HS.

Tableau 7 Données de validation technique de l'analyse des GAG urinaires chondroïtine, dermatane et héparane sulfate par LC-MS/MS

GAG URINAIRES	LINÉARITÉ*	PRÉCISION (% CV)		EXACTITUDE (%)		RECOUVREMENT (%)
	R ²	Intra-Jour	Inter-Jour	Intra-Jour	Inter-Jour	10 jours à 23 °C (stabilité)
CS	0,997 88	4,7	7,0	100,8	104,1	103,2
DS	0,997 52	2,8	7,2	93,7	102,6	106,5
HS	0,998 51	5,2	11,8	102,0	102,8	73,4

Abréviations : CS : chondroïtine sulfate; cv : coefficient de variation; DS : dermatane sulfate;

GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; µg/ml : microgramme par millilitre

*Plage : 1 à 1000 µg/ml

La linéarité a été établie avec 6 points de courbe de calibration (pour chacun des GAG) aux concentrations suivantes : 1, 3, 15, 100, 500, 1000 µg/ml. Afin de déterminer la précision et l'exactitude, les données intra-jour ont été obtenues à partir de 6 contrôles de différentes concentrations en triplicata (total de n = 18) alors que celles inter-jour, avec 5 contrôles de différentes concentrations en triplicata durant 3 jours (total de n = 45). Le recouvrement a été établi avec 5 contrôles de différentes concentrations en triplicata (total de n = 15).

Des valeurs de références (CS, DS, HS) pour diverses strates d'âge ont été établies. Le demandeur continue d'accumuler des données (de plus de 200 échantillons) afin de peaufiner les gammes de références.

La validation diagnostique a été réalisée sur trois aspects :

- l'analyse des urines de cas confirmés;
- les résultats des patients atteints incluant : des échantillons de nouveaux patients fournis par des médecins généticiens (sur une base de recherche); le dosage par LC-MS/MS de tous les échantillons reçus pour analyse par la méthode DMB-spectro (incluant des cas de MPS suivis avec ou sans traitement);
- la participation aux programmes de contrôles de qualité externes.

Dans toutes ces situations, le demandeur a été capable de bien reconnaître les profils caractéristiques des augmentations de GAG chez les patients atteints de MPS I, II, III et VI. La sensibilité diagnostique reste à être évaluée pour la MPS IVA

et la MPS VII puisqu'aucun échantillon de patients atteints de ces maladies n'a été reçu récemment.

La participation aux programmes de contrôle de qualité externes en 2016 et en 2017 a permis d'identifier des échantillons envoyés par l'ERNDIM.

En 2016, pour 6 échantillons reçus et analysés, le laboratoire du demandeur a obtenu une note parfaite, soit 20/20. En 2017, pour 3 échantillons reçus et analysés, le laboratoire a obtenu une note de 11/12. Un point a été perdu pour un des cas représentant un défi d'identification parce que le résultat obtenu par la méthode DMB-spectro était normal. Cependant, le laboratoire a identifié le cas comme étant une MPS III par la méthode LC-MS/MS qui a permis de constater une augmentation isolée d'HS.

En 2016-2017, il y a eu 640 analyses réalisées pour doser les GAG totaux. Bien qu'il n'y ait pas de documentation systématique sur le nombre d'échantillons reçus dans le cadre d'un suivi thérapeutique, l'estimation globale est d'environ 10 % du total, et donc, environ 90 % des analyses sont faites pour des patients sans diagnostic connu⁴³.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes, GAG) par LC-MS/MS. 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 8. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée cible les patients avec suspicion d'une mucopolysaccharidose à la suite de manifestations cliniques ou ayant un risque accru d'en être atteints;
- L'analyse serait réalisée en remplacement du test permettant de doser les GAG totaux. Ce test figure actuellement au *Répertoire* (code 50562);
- En plus du demandeur, un autre établissement du réseau est aussi désigné pour effectuer l'analyse des GAG totaux. Il est toutefois estimé que le demandeur effectue 90 % de ces tests et qu'advenant l'ajout de l'analyse proposée, le second centre continuerait à effectuer l'analyse des GAG totaux;

⁴³ Communication avec le demandeur le 10 octobre 2017.

- En 2016-2017, le demandeur a effectué 640 analyses des GAG totaux;
- L'analyse proposée a fait l'objet d'un envoi hors Québec au cours de l'année 2015-2016 pour un coût de 97 \$. Le rapatriement des éventuels envois hors Québec est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*;
- Ainsi, il est anticipé que 700, 750 et 800 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement;
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 19,16;
- Les coûts liés à une modification de la prise en charge des patients à la suite de cette analyse n'ont pas été considérés par manque de données probantes.

Tableau 8 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : <u>sans</u> l'ajout de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS au <i>Répertoire</i>				
Analyses GAG totaux et analyses hors Québec	700	750	800	2 250
Coûts	49 726 \$	53 276 \$	56 826 \$	159 828 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS au <i>Répertoire</i>				
Analyses LC-MS/MS	700	750	800	2 250
Coûts	13 412 \$	14 370 \$	15 328 \$	43 110 \$
Impact net	-36 314 \$	-38 906 \$	-41 498 \$	- 116 718 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			- 125 894 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			- 108 424 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS pourrait générer une réduction de coûts d'environ 117 000 \$ pour le total des trois premières années, selon un scénario dans lequel 90 % des tests sont effectués par cette méthode et 10 % par la méthode traditionnelle, soit l'analyse des GAG totaux par la DMB-spectro.

Advenant que l'analyse du demandeur soit celle utilisée en première ligne pour l'ensemble des besoins du Québec (100 % des tests effectués par cette méthode), une réduction de coûts plus importante, soit d'environ 129 000 \$, pourrait être réalisée.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le CHUS est actuellement l'un des deux centres désignés pour le dosage des GAG totaux (code 50562) grâce à leur expérience et leur expertise dans les domaines des maladies métaboliques héréditaires et de la spectrométrie de masse. La présente demande permet d'avoir un dosage individuel des GAG.

Un diagnostic précoce permet d'offrir aux patients un traitement adapté au type de MPS avant l'apparition de manifestations cliniques graves ou de limiter les séquelles de la maladie. Pour les MPS non traitables à ce jour (mais qui le seront à moyen terme), une prise en charge précoce des patients pour une maladie dégénérative permet de réduire les complications et par conséquent, nécessite moins d'investigations et d'hospitalisations.

Bien que la méthode LC-MS/MS permette de diminuer le taux de faux négatifs de façon importante, celui-ci n'est pas nul. Un résultat normal n'exclut pas une mucopolysaccharidose de façon absolue chez un patient avec un tableau clinique fortement évocateur ou chez qui la forme atténuée est recherchée. En cas de suspicion clinique, le dosage enzymatique doit être considéré puisqu'il demeure l'étalon-or du diagnostic.

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

Aucun guide de pratique clinique n'a été répertorié relativement à cette analyse.

Un comité d'experts provenant de différents pays (États-Unis, Brésil, Australie, Royaume-Uni, Taiwan (Chine), Allemagne, Argentine, Pays-Bas) a émis des recommandations relatives au diagnostic de la MPS IVA et de la MPS VI [Wood *et al.*, 2013; Wood *et al.*, 2012]. Ils suggèrent de réaliser l'analyse quantitative des GAG urinaires conjointement avec une analyse qualitative afin d'identifier les GAG impliqués dans les sous-types de MPS et d'orienter ainsi les analyses enzymatiques appropriées pour la confirmation du diagnostic. Ces recommandations ont été formulées afin d'éviter des résultats de faux négatifs dans le contexte technologique où le test quantitatif est réalisé par une méthode spectrophotométrique combinée à un colorant bleu cationique (DMB, bleu alcian, bleu toluidine) et le test qualitatif, par une électrophorèse ou une chromatographie liquide sur couche mince.

Le Hunter Syndrome European Expert Council (HSEEC), un groupe de cliniciens européens, a émis des recommandations relatives au diagnostic et à la gestion de la MPS II [Scarpa *et al.*, 2011]. Leurs recommandations rejoignent celles du groupe précédent. Toutefois, aucune technique n'a été mentionnée.

En outre, la LC-MS/MS est mentionnée comme étant une méthode prometteuse qui permet de fournir des informations à la fois quantitatives et qualitatives sur les irrégularités d'un GAG spécifique. L'analyse des GAG urinaires devrait être utilisée comme test préliminaire et nécessiter la confirmation du diagnostic spécifique d'une MPS par une analyse enzymatique ou moléculaire [Wood *et al.*, 2012].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes), fractionnement et quantification par LC-MS/MS

La recommandation de l'INESSS

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

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ Changement technologique pour une technique moins dispendieuse et plus performante.

ANNEXE A : CARACTÉRISTIQUES DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES VISÉES PAR LA PRÉSENTE ANALYSE

Tableau A-1 PRÉVALENCE, MANIFESTATIONS CLINIQUES ET PRONOSTIC DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS I Maladie de Hurler ou de Scheie α-L-iduronidase	Transmission autosomique récessive 1/100 000 Tout âge	3 formes de gravité très variable : syndrome de Hurler (forme la plus grave), syndrome de Hurler-Scheie (phénotype intermédiaire) et syndrome de Scheie (forme la plus légère) - Syndrome de Hurler : déformations squelettiques, dysostose multiple, retard moteur et déficit intellectuel. La maladie apparaît entre 6 et 8 mois après la naissance. D'autres manifestations incluent : opacité cornéenne, hépatosplénomégalie, maladie cardiaque, petite taille, hernie, dysmorphie faciale (faciès grossier) et hirsutisme - Syndrome de Hurler-Scheie : intelligence normale ou presque normale, mais avec divers degrés de détérioration physique, symptômes survenant vers l'adolescence - Syndrome de Scheie : taille presque normale, intelligence normale, raideurs articulaires, opacité cornéenne, syndrome du canal carpien, légers changements squelettiques, valvulopathie aortique, pachyméningite cervicale	- Syndrome de Hurler : espérance de vie réduite avec décès survenant avant l'adolescence (complications cardiovasculaires et respiratoires) - Syndrome de Scheie : espérance de vie normale ou légèrement affectée

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS II Maladie de Hunter Iduronate 2-sulfatase	Transmission récessive liée à l'X 1/166 000 en Europe Enfance (à partir de 18 mois); très peu de cas chez les femmes	▪ Premiers symptômes apparaissant entre l'âge de 18 mois et 4 ans ▪ Éventail de symptômes incluant : macrocéphalie, faciès grossier, petite taille, atteintes cardio-respiratoires, anomalies squelettiques, dysostose, infections fréquentes des voies respiratoires, hernie ombilicale et inguinale, diarrhée résistante aux traitements, hépatosplénomégalie et lésions cutanées ressemblant à la peau d'orange (épaules, dos et cuisses) ▪ Forme grave (MP IIA) avec régression psychomotrice précoce ▪ Forme atténuée (MP IIB) sans atteinte cognitive	▪ Pronostic très variable ▪ Chez les patients atteints de la forme grave (60 % à 80 % des cas), l'espérance de vie est réduite de manière significative (décès avant l'âge de 15 ans), la maladie étant fatale avant l'âge de 25 ans (complications cardio-respiratoires) ▪ Avec la forme atténuée, les patients peuvent survivre jusqu'à l'âge adulte (parfois jusqu'à plus de 60 ans)
MPS III, sous-type A, B, C et D Maladie de Sanfilippo ▪ Héparan-N-sulfatase (MPS IIIA) ▪ α-N-acétylglucosaminidase (MPS IIIB) ▪ Acétyl-CoA: α-glucosamide N-acétyltransférase (MPS IIIC) ▪ N-acétylglucosamine-6-sulfatase (MPS IIID)	Transmission autosomique récessive 1/53 000 (Pays-Bas), 1/67 000 (Australie) 1/147 000 (France) ▪ MPS IIIA fréquente au Royaume-Uni, Pays-Bas, Australie et France ▪ MPS IIIB fréquente en Grèce et Portugal ▪ MPS IIIC et MPS IIID sont plus rares Enfance (à partir de 2 ans)	▪ Premiers symptômes apparaissant entre 2 et 6 ans : troubles du comportement (hyperactivité, agressivité) et dégradation intellectuelle, troubles du sommeil avec des signes dysmorphiques modérés ▪ Dégénération grave du système nerveux central associée à des maladies somatiques de formes légères ▪ Dégénération neurologique grave apparaissant entre 6 et 10 ans avec perte des acquisitions psychomotrices et de la communication avec l'entourage ▪ Épilepsie souvent après l'âge de 10 ans ▪ Forme atténuée possible dans quelques cas	▪ Pronostic généralement sombre : décès survenant entre la vingtaine et la trentaine dans la plupart des cas de sous-type A ▪ Une survie prolongée (30 à 40 ans) a été rapportée dans les cas sous-types B et D

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS IV, sous-type A Maladie de Morquio Galactosamine -6-sulfatase (MPS IVA)	Transmission autosomique récessive 1/250 000 pour MPS IVA avec incidences très variables selon les pays Enfance	▪ Formes graves (premiers signes avant 1 an), formes intermédiaires (entre 1 et 5 ans) et formes à progression lente (premiers signes tardifs, parfois après 20 ans) ▪ Dysplasie spondylo-épimétaphysaire durant la deuxième année de vie après l'acquisition de la marche ▪ Déformations squelettiques (platyspondylie, cyphose, scoliose, pectus carinatum, genu valgum, déformation des os longs) s'accroissant avec la croissance de l'enfant ▪ L'hyperlaxité ligamentaire s'accompagne de fréquentes luxations (hanches, genoux) ▪ Douleurs, difficultés pour la marche et les gestes quotidiens ▪ Atteinte squelettique : arrêt de croissance vers l'âge de 8 ans (petite taille) ▪ Complications neurologiques possibles secondaires aux anomalies squelettiques ▪ Manifestations pulmonaires et respiratoires ▪ Complications ophtalmologiques (opacités cornéennes), auditives (perte d'audition) et cardiaques (valvulopathies) modérées et tardives ▪ Intelligence normale	▪ Le pronostic dépend de la gravité et de la qualité de la prise en charge qui peuvent permettre une survie jusqu'à plus de 50 ans ▪ Avec les formes rapidement progressives, décès entre 20 et 30 ans

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS VI Maladie de Maroteaux-Lamy N-acétylgalactosamine-4-sulfatase (arylsulfatase B ou ASB)	Transmission autosomique récessive Prévalence à la naissance entre 1/43 000 et 1/1 505 000 naissances vivantes Enfance (dès la naissance)	▪ Atteinte systémique progressive ▪ Large éventail de symptômes allant des formes lentement aux formes rapidement progressives ▪ Dysplasie squelettique caractéristique : petite taille, dysostose multiple et arthropathie dégénérative ▪ Formes rapidement progressives (peuvent apparaître dès la naissance) : excrétion urinaire élevée des GAG, dysostose multiple grave, petite taille; le décès survient avant la vingtaine ou la trentaine ▪ Forme lentement progressive (avec début tardif) : une excrétion urinaire peu élevée des GAG, une dysostose multiple légère; le décès survient dans la quarantaine ou la cinquantaine. ▪ D'autres manifestations cliniques : valvulopathie, syndrome pulmonaire mixte, obstructif et restrictif, hépatosplénomégalie, sinusite, otite moyenne, surdité, apnée du sommeil, opacification cornéenne, syndrome du canal carpien et hernie inguinale ou ombilicale, raideur articulaire et dysmorphisme facial ▪ Intelligence normale ▪ Déficit intellectuel généralement absent, mais des manifestations neurologiques sont possibles : compression médullaire par instabilité rachidienne, pachyméningite cervicale ou sténose canalaire, hydrocéphalie communicante, atrophie optique et cécité	▪ Le pronostic est variable et dépend de l'âge d'apparition de la maladie, de sa rapidité de progression, de l'âge à l'instauration de la thérapie de substitution enzymatique et de la qualité de la prise en charge

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS VII Maladie de Sly β-D-glucuronidase	Transmission autosomique récessive <1 / 1 000 000 Enfance (dès la naissance ou avant)	▪ Symptômes extrêmement hétérogènes ▪ Formes anténatales : anasarque fœto-placentaire non immune ▪ Formes néonatales sévères : dysmorphie, hernies, hépatosplénomégalie, pieds bots, dysostose, hypotonie importante, troubles neurologiques évoluant vers un retard statural et un déficit intellectuel profond (en cas de survie), anomalies squelettiques, faciès grossier ▪ Formes modérées découvertes à l'adolescence voire à l'âge adulte : cyphose thoracique	▪ Pronostic sombre pour les formes à présentation anténatale qui aboutissent le plus souvent à une mort fœtale <i>in utero</i> ▪ Les formes néonatales et infantiles ont une espérance de vie très limitée tandis que les formes atténuées ont une survie plus prolongée

Sources : [Baujat et Valayannopoulos, 2014; Hendriksz *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Coutinho *et al.*, 2012; Orphanet]

Abréviations : GAG : glycosaminoglycanes; MPS : mucopolysaccharidose

Tableau A-2 MÉTHODE DIAGNOSTIQUE, BIOMARQUEURS, PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENTS DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES

MALADIE	MÉTHODE DIAGNOSTIQUE	BIOMARQUEURS				PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENT
		CS	DS	HS	KS*	
MPS I	- Augmentation des excréctions urinaires de DS ou d'HS - Mise en évidence d'une déficience enzymatique (plasma, leucocytes, fibroblastes, cellules trophoblastiques ou amniocytes)		x	x		- Grefe de cellules souches hématopoïétiques chez certains patients (syndrome de Hurler ou forme grave avant l'âge de 2 ans) - Thérapie de substitution enzymatique (laronidase, i.e. α-L-iduronidase recombinante humaine) - Traitement symptomatique (prise en charge multidisciplinaire).
MPS II	- Diagnostic basé sur le tableau clinique et la détection de taux élevés de DS et de HS dans l'urine - Confirmation du diagnostic avec la mise en évidence d'une déficience enzymatique (sérum, leucocytes, fibroblastes ou échantillons de tache de sang séché) - Activité enzymatique d'une autre sulfatase doit aussi être mesurée		x	x		- Thérapie de substitution enzymatique (idursulfase, i.e. iduronate sulfatase recombinante humaine). - Une dérivation crânienne est nécessaire pour soulager les cas d'hydrocéphalie. - Une réparation herniaire, une amygdalectomie et une adénoïdectomie (pour libérer les voies respiratoires supérieures) peuvent être requises, et dans certains cas une ventilation en pression positive ou une trachéotomie. - Le remplacement d'une valve cardiaque ou de la hanche, et la libération du canal carpien peuvent être requis avec le temps. - Un soin palliatif étendu est nécessaire.
MPS III, sous-type A, B, C et D	- Excrétion urinaire accrue de HS - Afin de préciser le type : mise en évidence du déficit de l'une des enzymes responsables (leucocytes ou fibroblastes cultivés) - Pour les sous-types IIIA et IIID, la mesure d'une autre sulfatase est indispensable pour exclure un déficit multiple en sulfatases (mucosulfatidose ou maladie d'Austin)			x		- Dégradation neurologique avec complications multiples : traitement symptomatique (prise en charge multidisciplinaire). - L'allogreffe de moelle osseuse est déconseillée, car elle ne ralentit pas la détérioration mentale même chez les patients greffés à la période présymptomatique.
MPS IV, sous-type A	- Excrétion urinaire de KS (inconstante) - Mise en évidence du déficit enzymatique (leucocytes ou les	x			x	- Thérapie de substitution enzymatique (élosulfase alfa) - Traitement uniquement symptomatique, essentiellement orthopédique (appareillage, chirurgie, notamment

MALADIE	MÉTHODE DIAGNOSTIQUE	BIOMARQUEURS				PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENT
		CS	DS	HS	KS*	
	fibroblastes cultivés)					consolidation du cou par fusion vertébrale) et kinésithérapique. - En développement (essais cliniques) : enzyme recombinante humaine (GALNS) a pour but de favoriser la clairance du kératane sulfate du lysosome et d'améliorer les principaux symptômes - Greffe de moelle osseuse allogénique peu efficace pour les problèmes osseux
MPS VI	- Tableau clinique et la mesure de l'activité ASB inférieure à 10 % de la normale (fibroblastes cultivés ou leucocytes isolés) - Mise en évidence d'activité normale d'une autre enzyme sulfatase (pour exclure une mucosulfatidose, un déficit multiple en sulfatase ou maladie d'Austin) - L'excrétion urinaire élevée en DS en l'absence de HS		x			- Thérapie de substitution enzymatique (galsulfase, i.e. arylsulfatase B recombinante humaine) - Greffe de cellules souches hématopoïétiques
MPS VII	- Excrétion urinaire accrue de GAG (parfois non retrouvée dans les formes tardives) : CS seulement ou CS+DS+HS - Mise en évidence du déficit en β-D-glucuronidase (leucocytes ou fibroblastes cultivés)	x	x	x		- Traitement symptomatique adapté (prise en charge multidisciplinaire) - Traitement orthopédique dans les formes tardives - En développement : thérapie de substitution enzymatique

Sources : [Giugliani *et al.*, 2016; GMM, 2016; Langereis *et al.*, 2015; Wood *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Coutinho *et al.*, 2012; Wood *et al.*, 2012; Lehman *et al.*, 2011; Orphanet]

Abréviations : ASB : arylsulfatase B; CS : chondroïtine sulfate; DS : dermatane sulfate; GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; KS : kératane sulfate, MPS : mucopolysaccharidose

*Le biomarqueur KS ne fait pas l'objet de la présente analyse.

ANNEXE B : CARACTÉRISTIQUES DES ÉTUDES RETENUES

Tableau B CARACTÉRISTIQUES TECHNIQUES DE LA LC-MS/MS (OU UNE VARIANTE) UTILISÉE POUR L'ANALYSE DES GAG URINAIRES

ÉTUDE (MÉTHODE)	MÉTHODE					ANALYSE	
	CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE		SPECTROMÉTRIE DE MASSE			STANDARD INTERNE	GAG DÉTECTÉ
	VOLUME INJECTÉ	COLONNE / SYSTÈME	SYSTÈME	PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	IONISATION ET DÉTECTION		
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2016 (UPLC-MS/MS)	2 µl	Acquity UPLC BEH Amide / Acquity I-Class UPLC system (Waters)	Xevo TQ-S (Waters)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode SRM	Standards internes deut. de CS, DS et HS	CS, DS, HS
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2011 (LC-MS/MS)	20 µl	Atlantis T3 / Alliance 2795XE system (Waters)	Quattro micro tandem quadrupole (Waters)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode MRM	Dermatane sulfate-d ₆ Héparane sulfate-d ₆	DS, HS
Chuang <i>et al.</i> , 2014 (LC-MS/MS)	5 µl	Atlantis dC18 (Waters) / Agilent 1260 Infinity HPLC (Agilent Technologies)	4000 QTRAP triple- quadrupole MS sytem (AB Sciex)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode MRM	Standards internes deut. de CS, DS et HS	CS, DS, HS
Langereis <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS)	-	Thermo Hypercarb HPLC / Acquity UPLC system (Waters)	Quattro Premier XE mass spectrometer (Waters)	Digestion enzymatique	ESI (ion positif) en mode MRM	Standards internes DS et HS	DS, HS
Tomatsu <i>et al.</i> , 2010 (LC-MS/MS)	-	Hypercarb (Thermo Electron)	API-400 mass spectrometer with turbo ionspray (Applied Biosystems)	Digestion enzymatique	MRM (ion négatif)	Standards internes	DS, HS
Zhang <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS)	5 µl	Acquity UPLC BEH Amide / Acquity UPLC system (Waters)	Xevo-TQ MS tandem quadrupole mass spectrometer (Waters)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode SRM	Standards internes deut. de CS, DS et HS	CS, DS, HS

Abréviations : CS : chondroïtine sulfate; DS : dermatane sulfate; deut. : deutériométhanolysés; ESI : *electrospray ionisation*; GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; MRM : *multiple reaction monitoring*; UPLC-MS : chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem; SRM : *selected reaction monitoring*

RÉFÉRENCES

- Auray-Blais C, Bherer P, Gagnon R, Young SP, Zhang HH, An Y, et al. Efficient analysis of urinary glycosaminoglycans by LC-MS/MS in mucopolysaccharidoses type I, II and VI. *Mol Genet Metab* 2011;102(1):49-56.
- Auray-Blais C, Lavoie P, Tomatsu S, Valayannopoulos V, Mitchell JJ, Raiman J, et al. UPLC-MS/MS detection of disaccharides derived from glycosaminoglycans as biomarkers of mucopolysaccharidoses. *Anal Chim Acta* 2016;936:139-48.
- Baujat G et Valayannopoulos V. [Natural history of Morquio A disease]. *Arch Pediatr* 2014;21 Suppl 1:S32-8.
- Chuang CK, Lin HY, Wang TJ, Tsai CC, Liu HL, Lin SP. A modified liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for predominant disaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with mucopolysaccharidoses. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:135.
- Clarke LA, Winchester B, Giugliani R, Tytki-Szymanska A, Amartino H. Biomarkers for the mucopolysaccharidoses: discovery and clinical utility. *Mol Genet Metab* 2012;106(4):395-402.
- Coutinho MF, Lacerda L, Alves S. Glycosaminoglycan storage disorders: a review. *Biochem Res Int* 2012;2012:471325.
- Giugliani R, Federhen A, Vairo F, Vanzella C, Pasqualim G, da Silva LM, et al. Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses. *Expert Opin Emerg Drugs* 2016;21(1):9-26.
- GMM. Mucopolysaccharidoses. Filières de Santé Maladies Rares - Groupement Maladies Héréditaires du Métabolisme, Haute Autorité de Santé; 2016. Disponible à : https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2659924/fr/mucopolysaccharidoses-mps.
- Grebe SK et Singh RJ. LC-MS/MS in the Clinical Laboratory - Where to From Here? *Clin Biochem Rev* 2011;32(1):5-31.
- Hendriksz CJ, Harmatz P, Beck M, Jones S, Wood T, Lachman R, et al. Review of clinical presentation and diagnosis of mucopolysaccharidosis IVA. *Mol Genet Metab* 2013;110(1-2):54-64.
- Kubaski F, Osago H, Mason RW, Yamaguchi S, Kobayashi H, Tsuchiya M, et al. Glycosaminoglycans detection methods: Applications of mass spectrometry. *Molecular Genetics and Metabolism* 2017;120(1-2):67-77.
- Langereis EJ, Wagemans T, Kulik W, Lefeber DJ, van Lenthe H, Oussoren E, et al. A Multiplex Assay for the Diagnosis of Mucopolysaccharidoses and Mucopolipidoses. *PLoS One* 2015;10(9):e0138622.
- Lehman TJ, Miller N, Norquist B, Underhill L, Keutzer J. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50 Suppl 5:v41-8.

- Orphanet. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR (consulté le 28 juin 2017).
- Scarpa M, Almassy Z, Beck M, Bodamer O, Bruce IA, De Meirleir L, et al. Mucopolysaccharidosis type II: European recommendations for the diagnosis and multidisciplinary management of a rare disease. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:72.
- Tomatsu S, Kubaski F, Sawamoto K, Mason RW, Yasuda E, Shimada T, et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses: application of tandem mass spectrometry. *Nihon Masu Sukuriningu Gakkai Shi* 2014;24:19-37.
- Tomatsu S, Montano AM, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Gutierrez ML, et al. Validation of disaccharide compositions derived from dermatan sulfate and heparan sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses II and III by tandem mass spectrometry. *Mol Genet Metab* 2010;99(2):124-31.
- Wood T, Bodamer OA, Burin MG, D'Almeida V, Fietz M, Giugliani R, et al. Expert recommendations for the laboratory diagnosis of MPS VI. *Mol Genet Metab* 2012;106(1):73-82.
- Wood TC, Harvey K, Beck M, Burin MG, Chien YH, Church HJ, et al. Diagnosing mucopolysaccharidosis IVA. *J Inherit Metab Dis* 2013;36(2):293-307.
- Zhang H, Wood T, Young SP, Millington DS. A straightforward, quantitative ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for heparan sulfate, dermatan sulfate and chondroitin sulfate in urine: an improved clinical screening test for the mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab* 2015;114(2):123-8.
- Zhang H, Young SP, Millington DS. Quantification of glycosaminoglycans in urine by isotope-dilution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Curr Protoc Hum Genet* 2013;Chapter 17:Unit 17 2.

ANALYSE COMBINÉE DES GÈNES *KRAS-NRAS-BRAF* PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION POUR LE TRAITEMENT DU CANCER COLORECTAL MÉTASTATIQUE (RÉFÉRENCE - 2017.02.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU de Sherbrooke

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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

Monsieur Guy Fink et madame 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, les experts consultés sont :

- **D^r Trung-Nghia Nguyen**, hématologue, Hôpital Charles-Lemoyne;
- **D^r Patrice Desmeules**, anatomo-pathologiste, IUCPQ;
- **D^r Danh Tran-Thanh**, anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM;
- **D^r Sébastien Labonté**, anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUQ;
- **D^{re} Danuta Balicki**, hématologue, Clinique Medic Elle.

2 RÉSUMÉ

La décision de recourir à une thérapie anticancéreuse ciblée sur la base de données moléculaires somatiques des patients requiert des méthodes robustes et sensibles pour analyser différents gènes dans une réaction unique et multiplexe. L'utilisation du séquençage de nouvelle génération (SNG) permet entre autres d'identifier simultanément des mutations au sein de plusieurs gènes d'un même échantillon tumoral. L'analyse proposée vise à détecter des mutations somatiques dans les gènes *KRAS*, *NRAS* (codons 12, 13, 59, 61, 117, 146) et *BRAF* (codon 600) des patients susceptibles de recevoir un traitement ayant pour cible moléculaire l'*EGFR*. En outre, la capacité de la mutation *BRAF* V600E à prédire une réponse aux anti-*EGFR* demeure controversée tandis que sa valeur pronostique a été abordée dans plusieurs études.

L'association entre les mutations des gènes *RAS* et la réponse à un anti-*EGFR* (cétuximab et panitumumab) est établie et a été précédemment évaluée par l'équipe de biologie médicale de l'INESSS. Toutefois, une implication additionnelle de la position tumorale d'un cancer colorectal métastatique (CCRm) dans la réponse aux anti-*EGFR* n'a pas été évoquée. Une étude a rapporté la survie globale de 6,8 mois chez l'ensemble des patients atteints de CCRm qui passait à 10,1 mois chez ceux dont le gène *KRAS* était non muté et chez qui la tumeur primaire était localisée dans le côlon gauche. Lorsque la tumeur était située dans le côlon droit, ces valeurs correspondaient respectivement à 4,8 mois et 6,2 mois, bien que cette différence ne soit pas significative. En revanche, la survie sans progression était significativement plus élevée chez les patients au gène *KRAS* non muté avec leur tumeur primaire dans le côlon gauche : 5,4 mois au lieu de 3,6 mois pour l'ensemble des patients.

Par ailleurs, la méta-analyse retenue n'a associé aucune valeur pronostique ni prédictive au statut mutationnel du gène *BRAF* chez les patients atteints de CCRm et porteurs de gènes *RAS* non mutés. Par contre, une étude primaire a rapporté chez les patients atteints d'un cancer colorectal avancé avec un statut mutationnel *BRAF* V600E confirmé, 2,6 fois plus de risques de succomber à cette maladie qu'en l'absence de cette mutation. Plusieurs études menées sur l'utilisation du SNG pour détecter les mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* ont révélé, comparativement aux méthodes conventionnelles, une plus grande sensibilité de cette technique permettant la détection de faibles fréquences mutationnelles (5 % ou moins). Des mutations du gène *KRAS* initialement rapportées comme non existantes chez 15,9 % des patients atteints de CCRm ont pu être détectées à l'aide du SNG et ensuite confirmées par les méthodes conventionnelles. Toutefois, cette étude a également relevé la nécessité d'un personnel qualifié et d'une expertise fiable pour analyser et interpréter les résultats complexes du SNG.

L'introduction de cette analyse engendrerait des coûts supplémentaires d'environ 27 000 \$ par année. En revanche, elle serait associée à une réduction de dépenses annuelles en traitement anti-*EGFR* d'environ 100 000 \$ au CHU de Sherbrooke et de 2,5 M\$ d'une centaine de patients atteints de CCRm au Québec.

L'ASCO, l'ESMO, le NCCN et l'INESSS (Unité d'évaluation en oncologie) reconnaissent l'utilité clinique de l'analyse des 12 codons des gènes *KRAS*, *NRAS* et du codon 600 du gène *BRAF*. Toutefois, elles recommandent de tester la mutation *BRAF* V600E uniquement pour la stratification des patients atteints de cancer colorectal, tandis que les codons 12, 13, 59, 61, 117, 146 des gènes *KRAS* et *NRAS* devront être évalués afin de sélectionner les patients atteints de CCRm qui recevront des anti-EGFR.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Il s'agit d'une analyse combinée pour détecter des mutations somatiques des gènes *KRAS*, *NRAS*, et *BRAF* par séquençage de nouvelle génération (SNG) afin d'orienter le traitement du cancer colorectal métastatique.

L'analyse a pour but de détecter les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique chez qui un traitement avec anti-EGFR⁴⁴ serait inefficace en raison de la présence de mutations dans les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 des gènes *KRAS* et *NRAS*. Elle servira également à évaluer la mutation *BRAF* V600E en tant que marqueur pronostique.

3.2 Description de la méthode

Le demandeur utilise la trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 (TST-15) et la plateforme MiSeq^{MC} de la compagnie Illumina pour effectuer le SNG. Cette trousse est conçue pour réaliser une PCR multiplexée à partir d'ADN prélevé d'échantillons de tissus fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine. La trousse TST-15 permet une couverture par amplicons de régions spécifiques de 15 gènes associés au cancer, et incluant les trois gènes visés par cette analyse : *AKT1*, *BRAF*, *EGFR*, *ERBB2*, *FOXL2*, *GNA11*, *GNAQ*, *KIT*, *KRAS*, *MET*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *RET*, *TP53*. La détection de mutations dont la fréquence allélique est supérieure à 5 % avec une couverture minimum de 500 X peut être effectuée par la trousse TST-15 en produisant deux bibliothèques indexées par échantillon d'ADN dans une PCR multiplexée [Illumina, 2016].

⁴⁴ Type de thérapie administrée pour le traitement du cancer colorectal métastatique et qui cible le récepteur du facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) chez les patients non porteurs de mutations activatrices de ce récepteur. Information prélevée du site <https://www.pharmactuel.com/index.php/pharmactuel/article/viewFile/937/598> consulté le 25 octobre 2017.

Le SNG est une méthode qui tire largement parti des approches de séquençage en parallèle. La technologie de SNG repose essentiellement sur quatre étapes :

- Construction des librairies et préparation de la matrice (amplification)
- Séquençage
- Analyse des données

Procédure du séquençage de nouvelle génération sur la plateforme Illumina

L'ADN génomique est amplifié à l'aide d'une réaction par polymérase en utilisant une série d'amorces consensus, sens et antisens. Cette étape est suivie d'une ligation enzymatique en position terminale 5' des amorces d'adaptateurs avec index (i7 et i5) responsables de l'hybridation sur le « *flow cell* » et permettant un séquençage à index double et à paires de bases appariées. Chaque index agit comme un code barres unique qui permet aux amplicons d'échantillons individuels d'être regroupés en pool après l'amplification par PCR afin de générer une seule librairie lors du séquençage. Les produits de PCR formés sur un support solide et déjà hybridés à des oligonucléotides sont amplifiés par *bridge* PCR de manière à former des *clusters*. Pour le séquençage, quatre types de bases de terminateurs réversibles (bases RT) sont ajoutées et le brin d'ADN séquencé est allongé par l'insertion d'un nucléotide à la fois [Bentley *et al.*, 2008]. Les nucléotides fluorescents sont ajoutés au brin séquencé, alors que la fluorescence émise par chaque *cluster* résulte d'une excitation au laser. Un bloqueur en position terminale 3' est ajouté après chaque cycle du processus de séquençage et tout nucléotide non incorporé est retiré avant l'ajout de quatre nouvelles bases RT. Les données du séquençage des librairies sont recueillies par détection optique d'une caméra CCD⁴⁵ qui capture l'image de la fluorescence émise [Bentley *et al.*, 2008]. L'analyse des mutants est ensuite effectuée grâce à un logiciel bio-informatique adapté, suivie de l'interprétation des résultats (figure 1).

⁴⁵ Caméra CCD (de l'anglais *Charge Coupled Device*) est un type de caméra détenant un récepteur à transfert de charge qui convertit un signal lumineux en un signal électrique.

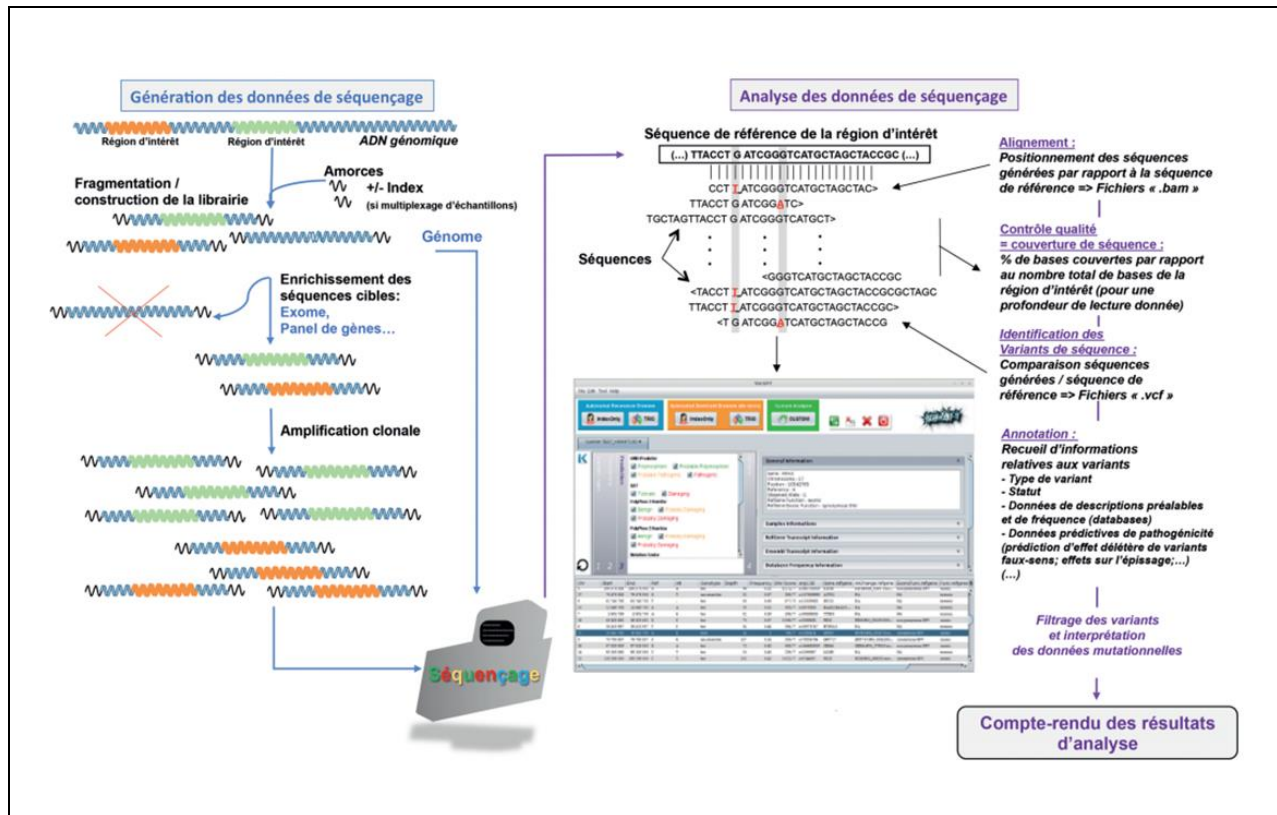


Figure 1 Les principales étapes de génération et d'analyse des données de séquençage de nouvelle génération

Les principales étapes de génération et d'analyse de données de SNG sont schématisées dans le cadre des techniques actuelles. Source : [Krahn, 2016]

Abréviations : bam : Les fichiers « . bam » sont des fichiers compressés .sam (*Sequence Alignment/Map format*) qui représentent un format standard suivant lequel tout type de séquences peut être aligné. vcf : Il s'agit d'un format *variant calling* qui est le format standard pour répertorier un grand nombre de séquences avec modification d'un nucléotide unique (SNP).

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les spécimens préparés par le laboratoire de pathologie sont acheminés au laboratoire de génétique moléculaire du CHUS constitué des locaux pré-PCR et « post-PCR ». Une fois les échantillons reçus au local pré-PCR, le travail préanalytique, l'extraction de l'ADN et la préparation des librairies de séquençage sont effectués. Le séquençage de nouvelle génération est réalisé dans le local post-PCR du laboratoire.

Temps de réponse souhaité

Le temps de réponse est de quatre semaines. Toutefois, le demandeur prévoit de l'ajuster afin d'effectuer un traitement anti-*EGFR* de troisième intention. En revanche, suite à l'approbation récente du panitumumab en première intention de

traitement du cancer colorectal métastatique⁴⁶, le demandeur envisage un ajustement du temps de réponse à dix jours ouvrables⁴⁷. Il est à noter que, selon les experts consultés, les recommandations suggèrent un temps de réponse de dix jours ouvrables⁴⁸.

3.4 Société ou concepteur

La trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 (TST-15) est commercialisée par la compagnie Illumina.

3.5 Homologation

La trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 n'est pas homologuée par Santé Canada ni par la FDA.

Valeur pondérée : 389,95

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients atteints d'un cancer colorectal métastatique considérés pour une thérapie avec les anti-*EGFR*.

4.2 Description de la maladie visée

Incidence du cancer colorectal

Selon les statistiques canadiennes sur le cancer, le cancer colorectal est le deuxième en importance, représentant 13 % de tous les cancers [SCC, 2017]. En 2017 au Canada, 14,5 % des nouveaux cas de cancers chez les hommes et 11,5 % chez les femmes seront colorectaux [SCC, 2017]. En fonction de l'âge, on observe une croissance de la distribution du cancer colorectal qui passe de 4 % chez les personnes âgées de 15 à 29 ans, à 11 % chez ceux de 50 ans à 69 ans et à 17 % chez les plus de 85 ans [SCC, 2017]. Une projection de 2017 au Québec révèle que 3 800 hommes et 3 000 femmes recevront un diagnostic de cancer colorectal et que respectivement 1 350 et 1 200 en mourront. Le cancer colorectal représente 12 % de tous les décès attribuables au cancer [SCC, 2017].

Mutations des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*

Les mutations des gènes *KRAS* et *NRAS* sont respectivement rencontrées dans approximativement 30 % à 50 % et 2 % à 7 % des tumeurs colorectales, tandis que celles de *BRAF* sont présentes dans moins de 10 % de ces tumeurs [BCBS, 2016];

⁴⁶ Extrait de l'avis au ministre sur Vectibix. Évaluation publiée le 19 juillet 2017 disponible à l'adresse suivante : www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Inscription_medicaments/Avis_au_ministre/Juillet_2017/Vectibix_publication_2017_07.pdf

⁴⁷ Communication personnelle avec le demandeur le 6 octobre 2017.

⁴⁸ Communications personnelles avec les experts entre le 1^{er} et le 3 octobre 2017.

Dienstmann et Tabernero, 2016]. La mutation *BRAF* V600E semble être un marqueur de mauvais pronostic, alors que la présence de mutations de *KRAS* et *NRAS* situées dans les exons 2 (codons 12 et 13), 3 (codons 59 et 61) et 4 (codons 117 et 146) prédisent un échec au traitement avec un anti-*EGFR* [BCBS, 2016; INESSS et GEOQ, 2016]. Il est à noter que les mutations des gènes *RAS* ou *BRAF* sont mutuellement exclusives, à l'exception de cas rares où elles coexistent [Hsu *et al.*, 2016; De Roock *et al.*, 2010; Hawkes et Cunningham, 2010].

Prise en charge et traitement

Une fois un diagnostic de cancer colorectal établi, sa prise en charge dépend du stade d'évolution de la maladie. De même, l'éventualité de récurrence du cancer colorectal demeure étroitement liée au stade de la maladie lors du traitement [NIH, 2017; SCC, 2017]. La formation de métastases présage fréquemment un mauvais pronostic associé à une condition néoplasique incurable. De ce fait, les patients reçoivent un traitement capable de ralentir la croissance de la tumeur et de leur assurer une bonne qualité de vie le plus longtemps possible [NIH, 2017]. Le cancer colorectal est associé à la surexpression cellulaire du récepteur du facteur de croissance épidermique (*EGFR* : *Epidermal Growth Factor Receptor*), faisant de lui la cible de traitements basés sur des anticorps monoclonaux. De ce fait, les traitements anti-*EGFR*, à l'instar de l'ERBITUX^{MC} (cétuximab) et du VECTIBIX^{MC} (panitumumab) ont nettement démontré un bénéfice de survie chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique (CCRm) [INESSS et GEOQ, 2016]. Le kétuximab est admis au Canada pour un traitement de première intention accompagné de chimiothérapie dans le traitement du cancer colorectal métastatique [Bristol-Myers, 2017; INESSS et GEOQ, 2016]. De plus, le statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* est reconnu comme outil de sélection des patients atteints de CCRm grâce à leur potentiel prédictif de la réponse à un traitement anti-*EGFR* [Benson Al *et al.*, 2017; BCBS, 2016; INESSS et GEOQ, 2016].

La localisation de la tumeur primaire chez les patients atteints de CCRm

Les résultats de travaux publiés, ainsi que le guide clinique du National Comprehensive Cancer Network pour le cancer du côlon, ont tous relevé l'impact pronostique et prédictif de la localisation de la tumeur primaire dans la réponse à un traitement anti-*EGFR* [Benson Al *et al.*, 2017; Moretto *et al.*, 2016; Brule *et al.*, 2015]. Il en ressort que la tumeur localisée dans le côlon gauche présage une meilleure réponse à un traitement avec anti-*EGFR* chez les patients atteints du cancer colorectal métastatique dont les gènes *RAS* sont de type sauvage [Messersmith, 2017; Moretto *et al.*, 2016; Venook, 2016; Brule *et al.*, 2015]. En revanche, la localisation de la tumeur primaire dans le côlon droit prédit une mauvaise réponse au traitement, et ce, même en l'absence de mutations dans les gènes *RAS* [Benson Al *et al.*, 2017; Moretto *et al.*, 2016; Venook, 2016]. En effet, la disparité entre ces deux localisations de la tumeur primaire pourrait résider dans la différence entre leurs profils moléculaires [Venook, 2016].

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Le demandeur prévoit environ 70 analyses par année pour la population desservie par le CHU de Sherbrooke. Pour le Québec, le chiffre projeté est d'environ 1 200 analyses par année en fonction du nombre de demandes d'analyse des mutations du gène *KRAS* enregistrées en 2016.

4.4 Situation actuelle

Le *Répertoire* contient un code individuel pour chacune des analyses (voir tableau 1 section 4.5). Actuellement, pour la population traitée pour un CCRm au CHUS, toutes les analyses *KRAS/NRAS/BRAF* sont réalisées localement. Le demandeur a mentionné que les analyses *KRAS* ne sont plus envoyées au CHUM. Au moment de commencer la mise en service de l'analyse proposée, le test *NRAS* n'était pas encore disponible à l'Hôpital général juif⁴⁹.

La thérapie utilisant les anti-*EGFR* est un traitement standard présentement utilisé au Québec pour le traitement du cancer colorectal métastatique chez les patients qui ont des gènes *NRAS* et *KRAS* de type sauvage.

Selon la liste des médicaments des établissements publiée le 18 août 2017, les anti-*EGFR* (panitumumab et cétuximab) en monothérapie sont recommandés pendant une durée maximale de trois mois, en traitement de troisième intention du CCRm exprimant l'*EGFR* chez les personnes :

- Présentant un gène *KRAS* non muté;
- Présentant un statut de performance selon l'ECOG⁵⁰ de 0 à 2;
- Réfractaires aux chimiothérapies à base d'irinotécan et d'oxaliplatine et qui ont reçu un traitement par fluoropyrimidine [RAMQ, 2017].

De plus, en association avec une combinaison d'agents de chimiothérapie, le panitumumab est recommandé pendant une durée maximale de trois mois, en traitement de première intention du cancer colorectal métastatique chez les personnes :

- dont la tumeur présente un gène *RAS* non muté;
- présentant une contre-indication ou une intolérance sérieuse au bévacizumab;
- et présentant un statut de performance selon l'ECOG à 0 ou 1 [RAMQ, 2017].

⁴⁹ Communication électronique personnelle avec D^r Sébastien Lévesque, médecin généticien et directeur médical du laboratoire de génétique moléculaire du CHUS (6 novembre 2017).

⁵⁰ Eastern Cooperative Oncology Group : Le score ECOG est une échelle de performance permettant de chiffrer l'état de santé général d'un patient. Elle varie des grades 0 à 5.

4.5 Données médico-administratives

Au Québec, aucun test du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après *Répertoire*) ne permet une analyse simultanée des codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 des gènes *KRAS* et *NRAS*, incluant la mutation *BRAF* V600E. Cette analyse ne fait pas l'objet d'envoi hors Québec. Un récapitulatif des données médico-administratives de tests portant sur les gènes à analyser est présenté dans le tableau 1.

Tableau 1 Volumétrie des analyses figurant au *Répertoire* et impliquant l'un des gènes à l'analyse.

NUMÉRO D'ANALYSE	MUTATIONS DÉTECTÉES [†]	NOMBRE D'ANALYSES EN 2016	VALEUR PONDÉRÉE	COÛT TOTAL (\$)
65 002	<i>BRAF</i> V600E	841	63,00	52 983
65 070	<i>KRAS</i> , codons 12 et 13	1 598	95,00	150 212
65149*	<i>NRAS</i> , codons 12, 13, 61 et 146	n.d.	201,50	n.d

Source : Données du ministère de la Santé et des Services sociaux

Abréviations : n.d. : non déterminé

* : Cette analyse a été inscrite au *Répertoire* sur recommandations de l'INESSS en juin 2016.

† : Toutes les analyses actuellement inscrites au *Répertoire* sont effectuées par TAAN : Tests d'amplification des acides nucléiques.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permet de :

- combiner des analyses complémentaires dont l'accès au matériel génétique est limité;
- récupérer 20 % des patients mutés qui ne sont pas détectés par les analyses existantes;
- détecter un plus grand nombre de mutations, notamment en incluant les codons 59 et 117, et économiser près de 100 000 \$ par an en traitements inefficaces au CHUS;
- réduire le temps technique requis pour la réalisation de trois analyses en une seule permet de faire une économie d'environ 105 \$.

4.7 Assurance qualité

Selon le demandeur,

- Les coupes de tissus sont révisées par les pathologistes du CHUS afin d'identifier la zone tumorale et déterminer son pourcentage de cellules. L'analyse est effectuée seulement si le pourcentage de cellules tumorales est supérieur à 30 % dans la zone identifiée.
- Chacune des analyses comporte un témoin positif à la limite de sensibilité de l'essai (5 %) ainsi qu'un témoin négatif. Plus de 80 % des séquences doivent avoir une valeur de qualité supérieure à Q30⁵¹ avec une couverture supérieure à 500 X.
- Un génotypage par PCR en temps réel est effectué en parallèle pour éliminer tout risque de contamination. Tout le travail technique et d'interprétation est réalisé par le personnel qualifié du CHUS et est sujet aux politiques de qualité des laboratoires du CHUS.

Depuis 2016, le demandeur participe au test de compétence du College of American Pathologists (CAP) pour le séquençage de nouvelle génération sur tumeur solide (SNGST), et ce, entre autres pour l'analyse de mutations dans *KRAS/NRAS/BRAF*. Au moment de l'évaluation de l'analyse proposée, deux tests (SNGST-A 2016 et SNGST-B 2016) portant le numéro d'identification 7204813-01 (CAP) ont été effectués.

5 DONNÉES PUBLIÉES

Une recherche structurée de la littérature a permis d'identifier des études primaires qui évaluent les performances pronostiques, thérapeutiques et analytiques de la caractérisation du statut mutationnel des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, majoritairement par séquençage de nouvelle génération (SNG) et chez les patients susceptibles d'être traités avec des anti-*EGFR*. La méta-analyse présentée pour évaluer la valeur thérapeutique de l'analyse portait sur des études randomisées et contrôlées utilisant le SNG ou une autre méthode pour détecter les mutations recherchées [Rowland, 2015].

⁵¹ Un score Q est une mesure de qualité évaluant la probabilité d'erreur lors du séquençage. Q10 : une erreur pour 10 bases (90 % d'exactitude); Q20 indique une erreur pour 100 bases (99 % d'exactitude); Q30 indique une erreur pour 1 000 bases (99,9 % d'exactitude); Q40 : une erreur pour 10 000 bases (99,99 % d'exactitude); Q50 : une erreur pour 100 000 bases (99 999 % d'exactitude). Information prélevée à l'adresse https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf

5.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue pour évaluer le potentiel diagnostique de cette analyse puisque le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

5.2 Valeur pronostique

Le centre demandeur prévoit utiliser la détection de la mutation *BRAF* V600E comme un outil pronostique inclus dans l'analyse proposée.

Deux études ont été repérées pour évaluer la valeur pronostique de la mutation *BRAF* V600E dans un contexte où les mutations des gènes *KRAS* et *NRAS* ont été également recherchées chez les patients atteints d'un cancer colorectal avancé [Gong *et al.*, 2017; Summers *et al.*, 2017].

5.2.1 Évaluation de la valeur pronostique de mutations des gènes *KRAS*, *BRAF* et *NRAS* chez des patients atteints de cancer colorectal avancé

L'étude rétrospective de Summers et ses collaborateurs [2017] a été effectuée chez 2 157 patients atteints de cancer colorectal avancé et qui n'avaient préalablement jamais reçu un traitement de chimiothérapie à visée palliative. Les échantillons analysés provenaient des études COIN-B et COIN, respectivement de phases 2 et 3 [Wasan *et al.*, 2014; Maughan *et al.*, 2011].

Au total, 2 mutations distinctes ont été repérées dans *BRAF*, soit les mutations V600E et D594G, chez 9 % des patients (199/2 097).

Les auteurs ont constaté que seulement 1 % des tumeurs colorectales *BRAF* V600E (2/178) arboraient également une mutation *RAS* comparativement à 47 % pour les tumeurs sans mutation *BRAF* (894/1 908) ($p < 1,1 \times 10^{-13}$ après correction pour l'ensemble des tests).

Considérant uniquement les cas dont la tumeur était de statut *RAS* non muté et dans un contexte « microsatellites stables ⁵²», les auteurs ont calculé la valeur pronostique des mutations *BRAF*, et ce, en terme de survie globale (tableau 2). Comparativement aux patients avec une tumeur non mutée pour ces trois gènes, la seule présence de la mutation *BRAF* V600E a été associée à une réduction de la survie globale équivalente à 320 jours se traduisant par une augmentation significative de 2,6 fois le risque de décès par cancer colorectal (RRI : 2,60 [IC 95 % : 2,06 à 3,28]; $p = 1 \times 10^{-15}$). Cette différence n'a pas été démontrée pour l'autre mutation *BRAF*.

L'analyse du statut mutationnel de *BRAF* a dévoilé que la mutation *BRAF* V600E était plus souvent rencontrée lorsque la tumeur primaire était située au niveau du

⁵² Les tumeurs déficientes en système MMR (mismatch repair) se caractérisent par une fréquence élevée d'erreurs de réplication concentrées sur de courtes séquences répétitives nommées microsatellites [Aaltonen *et al.*, 1994]

côlon droit (47 %). Toutefois, 12 % de ces tumeurs portaient le gène *BRAF* non muté ($p < 2,2 \times 10^{-16}$).

Les auteurs soulignent entre autres que les mutations *BRAF* V600E et *RAS* (*KRAS* et *NRAS*) sont mutuellement exclusives et associées à un mauvais pronostic. Ils mentionnent également que cette mutation, tout comme la localisation de la tumeur primaire, devrait être considérée lors de la prise en charge de patients atteints d'un cancer colorectal avancé [Summers *et al.*, 2017].

Tableau 2 Évaluation pronostique des différentes mutations regroupées par codons et par gènes

GÈNE	MUTATIONS	NOMBRE DE MUTATIONS	RRI (IC 95 %)	VALEUR P [†] (CORRECTION DE BONFERRONI)
<i>KRAS</i>	Codon 12	486	1,44 (1,28 à 1,61)	$6,4 \times 10^{-10}$ ($1,9 \times 10^{-08}$)
	Codon 13	123	1,53 (1,26 à 1,86)	$1,5 \times 10^{-05}$ ($4,5 \times 10^{-04}$)
	Codon 61	27	1,23 (0,84 à 1,81)	0,28
	Total	632 [*]	1,45 (1,30 à 1,61)	$1,9 \times 10^{-11}$ ($5,7 \times 10^{-10}$)
<i>NRAS</i>	Codons 12 et 13	8	1,29 (0,64 à 2,58)	0,48
	Codon 61	45	1,47 (1,09 à 1,99)	0,01
	Total	53	1,44 (1,09 à 1,90)	0,01
<i>BRAF</i>	Codon 600 (<i>BRAF</i> V600E)	87	2,60 (2,06 à 3,28)	$1,0 \times 10^{-15}$ ($3,0 \times 10^{-14}$)
	Codon 594 (<i>BRAF</i> D594G)	12	1,30 (0,73 à 2,31)	0,37
	Total	99	2,31 (1,85 à 2,87)	$7,8 \times 10^{-14}$ ($2,3 \times 10^{-12}$)

Source : tableau adapté de l'article [Summers *et al.*, 2017]

Abréviations : IC : intervalle de confiance ; RRI : rapport de risques instantanés

Notes tableau :

* : Quatre mutations qui demeuraient significatives après la correction de Bonferroni pour une analyse multivariée n'ont pas été incluses dans l'évaluation totale des mutations du gène *KRAS*.

† : Les variantes du gène *KRAS* étaient comparées au type sauvage chez les patients porteurs de *BRAF* et *NRAS* non mutés. Les variantes du gène *BRAF* étaient comparées au type sauvage chez les patients dont les gènes *RAS* étaient non mutés et à microsatellites stables.

La caractérisation de mutations pouvant servir de nouvelles cibles thérapeutiques ou d'outils pronostiques constituait l'objectif de l'étude rétrospective menée par Gong et ses collaborateurs [2017]. L'étude décrit leur expérience institutionnelle relativement à l'utilisation du SNG dans la caractérisation moléculaire de la tumeur de 138 patients atteints de cancer colorectal avancé ou métastatique.

En tout, 5 patients (3,6 %) étaient en stade 2 de la maladie, 16 (11,6 %) en stade 3 et 117 (84,8 %) en stade 4 au moment du diagnostic. Une mutation du gène *KRAS*

a été rapportée chez 68 patients (49,3 %), tandis que 9 patients (6,5 %) portaient une mutation du gène *BRAF* et 3 (2,2 %) celle du gène *NRAS*. D'autres mutations dans des gènes non ciblés par la présente demande ont également été mises en évidence [Gong *et al.*, 2017].

Globalement, une mutation *RAS* (*KRAS* et *NRAS*) était présente chez 51,4 % des patients et une mutation *RAF* chez 7,2% des patients. Chez ceux présentant une forme métastatique de la maladie, une prépondérance de mutations dans l'exon 2 (codons 12 et 13) a été rapportée. Des mutations ont également été rapportées dans les codons 61, 117 et 146 des exons 3 et 4 du gène *KRAS*, et deux dans le codon 61 du gène *NRAS*. La nouvelle mutation *KRAS* R68S1 a été associée à un phénotype particulièrement agressif de la maladie, qui persistait malgré le cétuximab administré au patient depuis deux mois. La mutation *BRAF* V600E représentait la majorité (40 %) des mutations observées dans les gènes *RAF*.

Selon les auteurs, des études prospectives incluant un plus grand nombre de sujets seront requises pour établir les associations entre certaines altérations moléculaires des gènes *RAS* et *RAF*, et le pronostic ou la résistance aux anti-*EGFR*. Ils soulignent également la capacité du SNG à dévoiler de nouvelles mutations autres que les conventionnelles [Gong *et al.*, 2017].

5.3 Valeur thérapeutique

L'apport thérapeutique des analyses des gènes *NRAS* et *KRAS* a été démontré dans un avis d'évaluation précédemment émis par l'équipe de biologie médicale de l'INESSS [INESSS-bm, 2016]. L'analyse proposée dans le présent avis suggère en plus du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS*, l'implication de la variante *BRAF* V600E dans la prédiction de la réponse au traitement d'anti-*EGFR* chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique, bien que celle-ci demeure controversée.

Cependant, il est à noter que dans un article commentant la littérature sur la valeur thérapeutique de la mutation *BRAF* V600E chez les patients recevant un traitement d'anti-*EGFR*, les auteurs arguent la présence d'évidence suffisante à travers les résultats d'études publiées à ce sujet. De ce fait, ils attribuent à la mutation *BRAF* V600E une valeur prédictive négative de la réponse aux anti-*EGFR* [van Brummelen *et al.*, 2017]. En outre, il a été souligné par le centre demandeur que la présence de la mutation *BRAF* V600E pourrait, selon les médecins consultés, aider à orienter les patients vers un traitement plus adéquat à l'agressivité de ce sous-type de cancer⁵³. En tout, quatre articles ont été retenus pour évaluer la portée thérapeutique de l'analyse proposée [Ciardiello *et al.*, 2016; Brule *et al.*, 2015; Rowland, 2015; Ciardiello *et al.*, 2014].

⁵³ Communication personnelle du demandeur le 21 août 2017

5.3.1 Évaluation de la capacité du gène *BRAF* à prédire une réponse à un traitement d'anti-EGFR chez les patients dont les gènes *KRAS*, et *NRAS* sont non mutés

Une méta-analyse de Rowland et ses collaborateurs [2015] a été menée dans l'objectif d'évaluer l'effet de la mutation *BRAF* V600E sur la réponse au traitement de 3 168 patients atteints de cancer colorectal métastatique avec un statut *RAS*⁵⁴ non muté et recevant un anti-EGFR (cétuximab ou panitumumab). Seules les études randomisées et contrôlées contenant des données de survie globale (n = 7) et de survie sans progression (n = 8) ont été retenues. Le rapport des risques instantanés (RRI) a été utilisé comme paramètre permettant de comparer l'effet d'un traitement avec anti-EGFR à celui d'un autre qui n'en contenait pas [Rowland, 2015].

Survie globale

Chez les patients porteurs de gènes *RAS* WT et *BRAF* muté, un rapport de risques instantanés (RRI) de 0,97 a été rapporté (IC 95 % : 0,67 à 1,41 ; $I^2 = 53$ %) et passait à 0,81 (IC 95 % : 0,70 à 0,95 ; $I^2 = 64$ %) chez ceux qui avaient les deux gènes non mutés. Toutefois, cette différence avait été jugée non significative (p = 0,43) [Rowland, 2015].

Survie sans progression

Chez les patients porteurs de gènes *RAS* WT et *BRAF* muté, un RRI de 0,86 avait été rapporté (IC 95 % : 0,61 à 1,21 ; $I^2 = 39$ %) et passait à RRI = 0,62 (IC 95 % : 0,50 à 0,77 ; $I^2 = 82$ %) chez ceux qui avaient les deux gènes non mutés. Toutefois, cette différence avait été jugée non significative [Rowland, 2015].

Selon les auteurs, cette méta-analyse démontre l'absence d'évidence en ce qui concerne la valeur prédictive de réponse au traitement anti-EGFR des patients porteurs de gènes *RAS* non mutés et *BRAF* muté, et qui sont atteints de cancer colorectal métastatique [Rowland, 2015].

5.3.2 Corrélation entre le statut mutationnel des gènes *KRAS* *NRAS* et *BRAF* et l'efficacité d'un traitement de chimiothérapie combiné au cétuximab

L'étude rétrospective de Ciardiello et ses collaborateurs [2014] a été réalisée auprès de 182 patients recevant un traitement de première intention composé d'au moins une perfusion de FOLFIRI⁵⁵ combinée au cétuximab. Au total, 46 mutations de *KRAS* ont été détectées dans 45 échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP), avec une tumeur portant deux mutations *KRAS* [Ciardiello *et al.*, 2014].

⁵⁴ Dans certaines études, le statut mutationnel des gènes *RAS* est plutôt évoqué. Il englobe celui des gènes *KRAS* ou *NRAS*.

⁵⁵ Le FOLFIRI est une chimiothérapie qui combine le 5 - fluoro-uracile, l'irinotécan et l'acide folinique

L'utilisation du SNG a permis de reclasser 29 cas (15,9 %) de tumeurs initialement rapportées non mutées pour *KRAS* dans l'exon 2 (codons 12 et 13). Ces 29 mutations ont ensuite été confirmées par séquençage de Sanger et par PCR en temps réel. Par ailleurs, des mutations d'exons 3 et 4 du gène *KRAS* de 16 patients (8,8 %), et d'exons 2 et 3 du gène *NRAS* chez 13 autres (7,1 %) ont été détectées par SNG. Des 15 échantillons arborant les mutations du gène *BRAF*, 10 portaient la mutation *BRAF* V600E.

Le taux global de réponse au traitement était de 62 % dans la cohorte composée de patients avec les gènes *KRAS* et *NRAS* non mutés passait à 46,6 % chez ceux qui avaient une mutation dans l'un des deux gènes. De même, la médiane de survie sans progression était de 11,1 mois pour le groupe non muté contre 8,9 mois chez ceux qui portaient une mutation dans l'un de ces deux gènes.

Une analyse de la cohorte dont les gènes *BRAF*, *KRAS*, *NRAS* et *PIK3CA* étaient non mutés augmentait le taux global de réponse au traitement à 64,4 % qui diminuait ensuite à 47,4 % si l'un de ces 4 gènes était muté. De même, la valeur médiane de survie sans progression de 11,3 mois passait à 7,7 mois [Ciardiello *et al.*, 2014].

Selon les auteurs, le changement observé dans le taux global de réponse au traitement et la survie sans progression en évaluant les 4 gènes (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS* et *PIK3CA*) pourrait être lié à une valeur pronostique et non prédictive des gènes *BRAF* et *PIK3CA*.

Les auteurs concluent qu'aucune évidence ne permettrait d'attribuer la détérioration du taux de réponse global au statut mutationnel de *BRAF*. Ils soutiennent que ce gène ne pourrait être utilisé pour sélectionner les patients susceptibles de répondre favorablement aux anti-*EGFR*. Les auteurs soulignent également le fait qu'en utilisant le SNG, l'on puisse simultanément détecter des mutations dans plusieurs gènes à partir du même échantillon [Ciardiello *et al.*, 2014].

Une autre étude randomisée et contrôlée de phase 2 dont l'objectif principal était d'évaluer l'efficacité du FOLFOX⁵⁶ combiné au cétuximab en deuxième intention de traitement a été menée par Ciardiello et ses collaborateurs [2016]. Un échantillon tumoral, originalement démontré *RAS* non muté (*KRAS* et *NRAS* exons 2, 3, 4), a été utilisé afin de réaliser une analyse moléculaire par SNG chez 53 patients traités avec la combinaison et 64 avec le FOLFOX seul.

L'analyse moléculaire SNG, réalisée rétrospectivement sur 22 gènes, a révélé la présence d'au moins une mutation pour les gènes *KRAS/NRAS/BRAF* ou *PIK3CA* chez 43,6 % des cas (51/117, dont 19 dans le groupe expérimental et 32 dans le groupe contrôle). Les auteurs mentionnent que la détection de mutations, notamment dans l'exon 2 de *KRAS*, est attribuable à la sensibilité du SNG (2 % d'allèles mutés), comparativement aux techniques standards de génotypage. Parmi

⁵⁶ Le FOLFOX est une chimiothérapie combinant le 5 - fluoro-uracile modifié, l'acide folinique et l'oxaliplatine

les patients qui ne présentaient aucune mutation dans ces gènes (n = 66), 34 recevaient le FOLFOX combiné au cétuximab et 32 uniquement le FOLFOX. Les paramètres d'évaluation pour ces deux groupes étaient la survie sans progression, la survie globale et le taux de réponse au traitement (tableau 3) [Ciardiello *et al.*, 2016].

Dans la cohorte des patients avec tumeurs aux gènes non mutés, la survie sans progression augmentait de 44 % chez les cas avec un traitement incluant le cétuximab comparativement à ceux qui n'en recevaient pas (RRI = 0,56 ; IC 95 % 0,33 à 0,94) ; p = 0,025). En revanche, les patients aux tumeurs avec des gènes mutés et recevant le FOLFOX avaient une survie sans progression 1,7 fois plus élevée que ceux qui recevaient également du cétuximab (RRI = 1,7 ; IC 95 % 0,94 à 3,05 ; p = 0,07) [Ciardiello *et al.*, 2016].

Tableau 3 Performance de l'analyse pour la prédiction de la réponse au traitement

PARAMÈTRES D'ÉVALUATION	KRAS/NRAS, BRAF/PIK3CA NON MUTÉS (IC 95 %)		KRAS/NRAS, BRAF/PIK3CA MUTÉS (IC 95 %)	
	FOLFOX + CÉTUXIMAB (n = 34)	FOLFOX (n = 32)	FOLFOX + CÉTUXIMAB (n = 19)	FOLFOX (n = 32)
Survie sans progression (valeur médiane)	6,9 mois (5,5 à 8,2)	5,3 mois (3,7 à 6,9)	2,7 mois (1,1 à 4,3)	4,4 mois (3,3 à 5,5)
Survie globale (valeur médiane)	23,7 mois (19,4 à 28)	19,8 mois (14,9 à 24,7)	11,6 mois (11,2 à 12)	14 mois (11,9 à 16)
Taux de réponse au traitement	29,4 % (14,1 à 43,5 %)	9,4 % (0 à 41,3 %)	Non déterminé	Non déterminé

Source : tableau adapté de l'article [Brule *et al.*, 2015]

Abréviation : IC : intervalle de confiance

Bien que la différence entre les groupes FOLFOX cétuximab et FOLFOX n'ait pas été significative concernant la survie sans progression, la réponse au traitement et la survie globale, une tendance générale en faveur de la chimiothérapie combinée au cétuximab a été rapportée pour chacun des paramètres d'évaluation.

Selon les auteurs, plusieurs études ont rapporté l'apparition de mutations dans les gènes *RAS* comme étant un indicateur de résistance aux anti-*EGFR* chez les patients dont les gènes étaient au préalable non mutés. De plus, ils ont suggéré le maintien du cétuximab combiné à une chimiothérapie adéquate comme étant une avenue thérapeutique prometteuse pour le traitement des patients atteints de cancer colorectal métastatique et susceptibles de recevoir des anti-*EGFR*, après la première progression de la maladie. Les auteurs ont également relevé l'importance

d'une analyse permettant d'identifier plus de gènes dont le statut mutationnel a une valeur prédictive de réponse à un traitement anti-EGFR [Ciardiello *et al.*, 2016].

5.3.3 Le statut mutationnel des gènes *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* et la localisation de la tumeur primaire chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique

L'étude rétrospective de Brulé et ses collaborateurs [2015] a été effectuée à partir des données issues d'une étude prospective randomisée et contrôlée de phase 3 auprès de patients atteints d'un cancer colorectal réfractaire à un traitement de chimiothérapie [Jonker *et al.*, 2007]. Des 572 patients de l'étude prospective, 399 avaient été retenus et classés en fonction du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *BRAF*, de la position de la tumeur primaire dans le côlon, entre autres critères. Le but était d'examiner si la position de la tumeur primaire avait un effet sur la réponse à un traitement de cétuximab dans le cas du cancer colorectal métastatique [Brulé *et al.*, 2015].

Des 150 patients présentant une tumeur primaire localisée dans le côlon droit (patients — CD), 78 ont reçu du cétuximab et 72 les meilleurs soins de soutien (MSS). De ceux qui avaient la tumeur primaire située dans le côlon gauche (patients-CG), 122 avaient été traités avec du cétuximab tandis que 127 avaient reçu les MSS.

Par ailleurs, le gène *KRAS* était significativement plus fréquemment muté ($p = 0,02$) chez les patients-CD (40 %) que chez les CG (26,5 %), comparativement au gène *BRAF* qui était non muté chez 74,7 % des patients-CD contre 67,9 % pour les CG ($p = 0,005$).

En outre, lorsque le cétuximab était administré aux patients-CD, aucune amélioration significative n'a été observée au niveau de la survie globale [RRI = 1 (IC 95 % : 0,70 à 1,43; $p = 1,00$)] ou de la survie sans progression [RRI = 0,93 (IC 95 % : 0,66 à 1,29; $p = 0,64$)]. En revanche, lorsque le même traitement était administré aux patients-CG avec le gène *KRAS* non muté, la valeur médiane de la survie globale s'allongeait de 4,8 à 10,1 mois, et de 1,8 à 5,4 mois pour la survie sans progression (tableau 4).

Tableau 4 Position de la tumeur comme facteur prédictif de la réponse au cétuximab chez tous les patients et ceux au gène *KRAS* non muté

PARAMÈTRES	POSITION DE LA TUMEUR	SURVIE MÉDIANE (MOIS)		RRI (IC 95 %)	EFFET PRÉDICTIF (VALEUR p)
		CÉTUXIMAB	MSS		
Tous patients confondus					
Survie globale	CD	4,8	4,5	1,00 (0,70 à 1,43) p = 1	0,08
	CG	6,8	4,2	0,60 (0,46 à 0,80) p = 0,0003	
Survie sans progression	CD	1,8	1,8	0,93 (0,66 à 1,29) p = 0,64	0,004
	CG	3,6	1,8	0,53 (0,41 à 0,69) p < 0,0001	
Patients au gène <i>KRAS</i> non muté					
Survie globale	CD	6,2	3,5	0,66 (0,36 à 1,21) p = 0,18	0,25
	CG	10,1	4,8	0,49 (0,31 à 0,77) p = 0,002	
Survie sans progression	CD	1,9	1,9	0,73 (0,42 à 1,27) p = 0,26	0,002
	CG	5,4	1,8	0,28 (0,18 à 0,45) p < 0,0001	

Source : tableau adapté de l'article [Brule *et al.*, 2015]

Abréviations : CD : tumeur située dans le côlon droit ; CG : tumeur située dans le côlon gauche ; MSS : meilleurs soins de soutien ; RRI : rapport de risques instantanés.

Selon les auteurs, la position de la tumeur chez les patients avec un *KRAS* non muté demeure un prédicteur non significatif des bénéfices du cétuximab sur la survie globale (p = 0,25), mais significative pour la survie sans progression des patients (p = 0,002) [Brule *et al.*, 2015].

5.4 Validité analytique

La validité analytique a été évaluée à l'aide de quatre articles portant sur le séquençage de nouvelle génération (SNG) dans un contexte où les patients sont atteints de cancer colorectal ou de CCRm [Illumina, 2016; Malapelle *et al.*, 2015; Sakai *et al.*, 2015; Tack *et al.*, 2015]. Il est à noter que la plateforme de SNG utilisée dans les études comparatives de Sakai *et al.*, 2015 et Malapelle *et al.*, 2015 est celle de la compagnie Life Technologies (Ion Torrent^{MC} Personal Genome Machine^{MC}).

5.4.1 Performance analytique de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 selon la notice d'utilisation

La trousse commerciale a été validée par le fabricant, en analysant différents types d'échantillons tumoraux, dont ceux de cancers colorectaux. L'ADN purifié à partir d'échantillons tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP), a été évalué à l'aide de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15, et séquencé par le système MiniSeq. Une couverture supérieure à 500 X était requise pour la détection des fréquences mutationnelles de 5 % (tableau 5). La qualité de l'échantillon était déterminée en évaluant le potentiel d'amplification de l'ADN purifié des échantillons FFEP et en le comparant à un échantillon témoin d'ADN dans une PCR quantitative (qPCR). La valeur ΔC_q générée par qPCR sur l'ensemble des échantillons était l'indicateur de qualité pour chacun d'eux (tableau 5). La qualité de l'échantillon était dite élevée pour une valeur ΔC_q de 0 à 2, moyenne de 2 à 4 et faible de 4 à 6 [Illumina, 2016].

Tableau 5 Performance de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 pour analyser des échantillons tumoraux

IDENTIFICATION ÉCHANTILLON	QUALITÉ DES ÉCHANTILLONS	POURCENTAGE DE BASES (≥ 500 X)	COUVERTURE* MOYENNE DES AMPLICONS
FFEP_Colon 1	Moyenne	99,7 %	24 219 X
FFEP_Colon 2	Faible	99,9 %	20 763 X
FFEP_Colon 3	Faible	99,2 %	35 270 X
FFEP_Colon 4	Élevée	100,0 %	18 357 X
FFEP_Colon 5	Élevée	100,0 %	15 769 X

Source : Notice de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15

Abréviation : FFEP : échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine

* Une valeur supérieure ou égale à 500 X assure une couverture d'au moins 93,5 % des bases de la séquence d'ADN à analyser. Une valeur élevée de la couverture procure une sensibilité plus importante et une meilleure exactitude de l'analyse pour détecter les mutations à faible fréquence.

L'ADN purifié à partir d'échantillons pré-analysés de lignée cellulaire a été évalué par la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 et séquencé à l'aide du système MiniSeq. Une concordance de 100 % avec les résultats de la pré-analyse a été rapportée dans l'analyse à l'étude (tableau 6). Les résultats obtenus à partir de la lignée cellulaire testée (HD-C749) étaient identiques pour sept essais indépendants de séquençage [Illumina, 2016].

Tableau 6 Performance de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 pour analyser une lignée de cellules fixée au formaldéhyde

GÈNE	MUTATION	FRÉQUENCE RAPPORTÉE	FRÉQUENCE DÉTECTÉE	COUVERTURE*
<i>BRAF</i>	V600E	10,5 %	12,3 %	55 457 X
<i>KRAS</i>	G13D	15,0 %	15,3 %	6 745 X
<i>KRAS</i>	G12D	6,0 %	7,2 %	6 742 X
<i>NRAS</i>	Q61K	12,5 %	11,2 %	13 154 X

Source : Notice de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15

* Une valeur supérieure ou égale à 500 X assure une couverture d'au moins 93,5 % des bases de la séquence d'ADN à analyser. Une valeur élevée de la couverture procure une sensibilité plus importante et une meilleure exactitude de l'analyse pour détecter les mutations à faible fréquence.

L'ADN purifié à partir d'échantillons FFEP et évalué à l'aide de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 était ensuite séquencé par le système MiniSeq, et analysé en utilisant le logiciel VariantStudio^{MC} permettant de détecter les différentes variantes de mutations présentes dans les différents gènes⁵⁷ (tableau 7).

Tableau 7 Performance de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 pour la détection de variantes mutationnelles dans les échantillons tumoraux

ÉCHANTILLON	MUTATION RAPPORTÉE	MUTATION DÉTECTÉE	POURCENTAGE DE MUTATIONS DÉTECTÉES (%)	COUVERTURE*
FFEP_Colon 1	<i>KRAS</i> G12S	<i>KRAS</i> G12S	22,3 %	21 134 X
FFEP_Colon 2	<i>KRAS</i> G12D	<i>KRAS</i> G12D	11,5 %	4 322 X
FFEP_Colon 3	<i>BRAF</i> V600E	<i>BRAF</i> V600E	25,5 %	140 040 X
FFEP_Colon 4	<i>KRAS</i> G12V	<i>KRAS</i> G12V	33,4 %	5 256 X
FFEP_Colon 5	<i>KRAS</i> G13D	<i>KRAS</i> G13D	33,0 %	4 156 X

Source : Notice de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15

Abréviation : FFEP : échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine

* Une valeur supérieure ou égale à 500 X assure une couverture d'au moins 93,5 % des bases de la séquence d'ADN à analyser. Une valeur élevée de la couverture procure une sensibilité plus importante et une meilleure exactitude de l'analyse pour détecter les mutations à faible fréquence.

⁵⁷ Information recueillie à l'adresse <https://www.illumina.com/informatics/biological-interpretation/variant-analysis.html> consultée le 10 novembre 2017.

5.4.2 Comparaison entre la détection de *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* par SNG et autres méthodes

Sakai et ses collaborateurs [2015] ont effectué une étude rétrospective de validation afin d'évaluer la performance analytique du SNG pour détecter les mutations des gènes *RAS* et *BRAF* à partir d'échantillons de plasma ou de tissus tumoraux FFEP des patients atteints de cancer colorectal. L'habileté à détecter des mutations de faible fréquence à l'aide du SNG était opposée à celle du séquençage Sanger, de la PCR en temps réel ou d'une PCR digitale. Toutefois, la concordance des méthodes a été établie en comparant les résultats générés par le SNG, la PCR en temps réel et la PCR digitale [Sakai *et al.*, 2015]. Il est à noter que la plateforme de SNG utilisée dans cette étude est celle de la compagnie Life Technologies (Ion Torrent^{MC} Personal Genome Machine^{MC}).

La limite de détection a été déterminée à l'aide de 20 échantillons, tandis que 100 autres ont servi à détecter les mutations localisées dans 13 codons des gènes *KRAS*, *NRAS*, et *BRAF*, notamment : les codons 12 et 13 de l'exon 2, 59 et 61 de l'exon 3, 117 et 146 de l'exon 4 dans *KRAS* et *NRAS*, sans omettre le codon 600 dans l'exon 15 de *BRAF*. L'ADN prélevé de 10 participants sains a servi de contrôle dans le nombre de lectures et les erreurs de séquençage pour le SNG [Sakai *et al.*, 2015].

En tout, les mutations *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* étaient respectivement détectées dans 47 %, 7 % et 5 % des 100 échantillons analysés. Des 47 mutations détectées dans *KRAS* 43 étaient localisées dans les codons 12 et 13 (91,4 %).

La limite de détection du SNG a été établie en utilisant des dilutions en série de 4 lignées cellulaires comportant les mutations *KRAS* G12S (A549), *KRAS* G13D (HCT116), *NRAS* Q61K (H1299), et *BRAF* V600E (HT-29) (tableau 6). Tandis que le seuil de détection pour la PCR digitale, évalué en nombre moyen de copies de mutants présents dans l'échantillon de tissu tumoral FFEP, a été déterminé pour 7 mutations à partir de 9 échantillons FFEP négatifs (tableau 8).

Tableau 8 Limites de détection et nombre seuil des copies de variantes mutées analysées par SNG

MUTATION	LIMITE DE DÉTECTION (FRÉQUENCE DE MUTATION DANS LES CELLULES : SNG)	NOMBRE SEUIL DE COPIES (TISSUS TUMORAUX FFEP : PCR DIGITALE)
<i>KRAS</i> G12S	2,40 %	16,48 copies
<i>KRAS</i> G13D	3,92 %	18,75 copies
<i>NRAS</i> Q61K	0,58 %	n.d.
<i>BRAF</i> V600E	1,85 %	n.d.
<i>KRAS</i> G12A	n.d.	3,00 copies
<i>KRAS</i> G12C	n.d.	3,10 copies
<i>KRAS</i> G12D	n.d.	15,27 copies
<i>KRAS</i> G12R	n.d.	3,00 copies
<i>KRAS</i> G12V	n.d.	4,32 copies

Source : tableau adapté de l'article [Sakai *et al.*, 2015]

Abréviations : FFEP : échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine; n.d : non déterminé; SNG : Séquençage de nouvelle génération.

La concordance entre les méthodes SNG, PCR en temps réel et la PCR digitale a été établie en utilisant les résultats de détections de mutations des codons 12 et 13 de *KRAS*. Ainsi, une concordance de 92 % et de 90 % a été rapportée respectivement en opposant le SNG à la PCR en temps réel (valeur $\kappa = 0,833$) et à la PCR digitale (valeur $\kappa = 0,794$). De plus, en comparant le SNG à la PCR digitale des taux de 11,5 % de faux positifs et de 7,7 % de faux négatifs ont été rapportés [Sakai *et al.*, 2015].

Selon les auteurs, l'implantation du SNG pour la détection des mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, démontre une bonne performance préclinique et clinique. Les auteurs recommandent l'ajustement des concentrations des oligonucléotides pour chaque réaction multiplexe. De même, la sensibilité⁵⁸ du SNG estimée de 0,58 % à 3,92 % représente un argument suffisant à son implantation en milieu clinique [Sakai *et al.*, 2015].

Par ailleurs, l'étude prospective de Malapelle et ses collaborateurs [2015], portant sur 114 échantillons de routine analysés simultanément par le SNG et le séquençage de Sanger, a permis de comparer leur performance analytique dans la détection des mutations des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, ainsi que leurs coûts et

⁵⁸ Ici, la sensibilité de l'analyse se rapporte à sa capacité à détecter les mutations de faible fréquence.

temps de réponse. Les échantillons étaient constitués de tissus tumoraux FFEP destinés à la détection des mutations de l'exon 2 (codons 12 et 13), de l'exon 3 (codons 59 et 61) et de l'exon 4 (codons 117 et 146) des gènes *KRAS* et *NRAS* tout comme de l'exon 15 du gène *BRAF* [Malapelle *et al.*, 2015].

Au total, les deux méthodes de séquençage ont permis de détecter 38 mutations du gène *KRAS*, 8 du gène *NRAS*, et 10 du gène *BRAF*. Toutefois, 2 mutations du gène *BRAF* (G466E et G469A), une mutation du gène *KRAS* (Q22K) et une autre du gène *NRAS* (G13R) n'étaient uniquement détectables que par SNG (tableau 9). Il est à noter que les mutations *KRAS* Q22K et *NRAS* G13R avaient des fréquences faibles de 5,5 % et 5,2 % respectivement, sachant que la limite de détection du SNG déterminée à l'aide d'une dilution sérieée des souches cellulaires était de 5 % [Malapelle *et al.*, 2015].

Tableau 9 Nombre total de mutations somatiques détectées par SNG ou par séquençage de Sanger

MÉTHODE DE SÉQUENÇAGE	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>BRAF</i>
SNG	39	9	12
Séquençage de Sanger	38	8	10

Le temps de réponse moyen pour le SNG était évalué à 13 jours ouvrables (intervalle : 7 à 14 jours), tandis que celui de la méthode Sanger prenait 10,4 jours ouvrables.

Selon les auteurs, la robustesse du SNG est comparable à celle de la méthode de Sanger dans les analyses de routine pour sélectionner les patients atteints de cancer colorectal métastatique et susceptibles de recevoir des anti-*EGFR*. Les auteurs projettent une amélioration du temps de réponse avec l'implantation d'une station robotisée et intégrée pour l'utilisation du SNG, en soulignant l'importance d'un personnel qualifié pour l'interprétation des résultats générés par cette méthode [Malapelle *et al.*, 2015].

5.4.3 Évaluation comparative des laboratoires pour le statut mutationnel des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG et autres méthodes d'analyse

Une évaluation de la performance de 131 laboratoires dans la détection des mutations du gène *BRAF* et des exons 2, 3, et 4 des gènes *RAS* a été effectuée par Tack et ses collaborateurs [2015]. Pour ce faire, 10 échantillons de tissus tumoraux FFEP et synthétiques ont été envoyés à chaque laboratoire afin d'y être analysés. Les laboratoires étaient évalués conformément aux lignes directrices internationales de l'organisation EQA (*External Quality Assessment*). La quantité de cellules néoplasiques était limitée à 30 % par échantillon et la sensibilité de l'analyse fixée à 5 % pour chaque allèle [Tack *et al.*, 2015].

En tout, 1 310 échantillons ont été analysés avec un total de 3,6 % portant une erreur de génotypage. Les irrégularités étaient plus fréquentes au sein des échantillons contenant des mutations (5 %) que ceux de type sauvage (1,5 %) avec une valeur *p* équivalant à 0,001. Une erreur technique était rapportée dans 2,7% des échantillons testés. Un total de 96 laboratoires (73,3 %) n'ont présenté aucune erreur de génotypage, tandis que 26 (19,9 %) ont rapporté une erreur et 9 (6,9 %) en ont rapporté plus. Le temps de réponse alloué de 14 jours a été respecté par 52,7 % des laboratoires avec un délai de traitement variant de 7 jours à 31 jours.

Le pourcentage de laboratoire utilisant exclusivement la méthode SNG pour tester *KRAS* était de 9,2 % (*n* = 12) comparativement aux 11 laboratoires qui l'ont utilisée pour l'analyse de *NRAS*. De plus, aucun résultat faux positif ou faux négatif n'a été rapporté en utilisant le SNG pour la détection des mutations de *KRAS* et *NRAS*, contrairement aux autres méthodes employées.

Selon les auteurs, cette étude soulève des interrogations sur la fiabilité des résultats générés par les laboratoires, et démontre que plusieurs laboratoires n'ont pas assez d'expertise pour effectuer une introduction rapide de nouvelles analyses moléculaires. Ils recommandent une formation approfondie des laboratoires d'analyses moléculaires, en validation, implantation et interprétation des tests moléculaires, appuyée d'un contrôle externe d'évaluation de la qualité. De ce fait, les auteurs encouragent les médecins prescrivant un traitement anti-*EGFR* aux patients atteints d'un cancer colorectal à sélectionner des laboratoires fiables.

5.5 Données fournies par le demandeur

Les données de validation de la méthode fournies par le demandeur sont réparties en trois sections :

- validation de la détection de mutations du gène *KRAS* dans les échantillons au statut mutationnel connu;
- validation d'échantillons témoins commerciaux;
- validation de la robustesse de l'analyse.

En premier, l'ADN tumoral de patients avec un statut mutationnel connu de *KRAS* (codons 12 et 13) a été extrait à partir d'échantillons déjà analysés et séquencés à l'aide de la trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 (TST-15). Les résultats de la détection de mutations dans *KRAS* étaient ensuite comparés aux données cliniques déjà disponibles pour des patients du CHUS. Parmi les 28 échantillons d'ADN séquencés en 5 cycles, le gène *KRAS* était muté pour 12 échantillons et de type sauvage pour 16 (tableau 10).

Tableau 10 Validation de statuts *KRAS* connus à partir d'échantillons déjà analysés

ÉCHANTILLON	STATUT <i>KRAS</i>	CONFIRMATION	POURCENTAGE DE LA MUTATION (%)	CYCLE DE SÉQUENÇAGE
1	Gly12Ala	oui	11,3	1
2	Gly12Ala	oui*	5,9	1
4	Gly12Val	oui	20	1
5	Gly13Asp	oui	18,7	1
3	Gly12Val	oui	6,9	2
6	Gly12Val	oui	38	2
7	Type sauvage	oui	s.o.	2
8	Type sauvage	oui	s.o.	2
9	Type sauvage	oui	s.o.	2
10	Type sauvage	oui	s.o.	2
12	Type sauvage	oui	s.o.	2
16	Type sauvage	oui	s.o.	2
13	Type sauvage	oui	s.o.	3
14	Type sauvage	oui	s.o.	3
15	Type sauvage	oui	s.o.	3
18	Type sauvage	oui	s.o.	3
19	Type sauvage	oui	s.o.	3

ÉCHANTILLON	STATUT <i>KRAS</i>	CONFIRMATION	POURCENTAGE DE LA MUTATION (%)	CYCLE DE SÉQUENÇAGE
17	Type sauvage	oui	s.o.	4
20	Gly12Asp	oui	23,3	4
21	Gly12Asp	oui	16	4
22	Type sauvage	oui	s.o.	4
23	Type sauvage	oui	s.o.	4
24	Gly12Asp	oui	39,4	4
27	Gly12Val	oui	27	4
28	Gly12Asp	oui	16	4
11	Type sauvage	oui	s.o.	5
25	Type sauvage	oui	s.o.	5
26	Gly12Asp	oui	15	5

Source : Données fournies par le demandeur

Abréviations : s.o. : sans objet.

Notes tableau : * : En plus de la mutation Gly12Ala, la mutation Gly13Asp (7 %) a également été détectée, et ce, même après une reprise de l'analyse. Ces deux mutations sont présentes en trans et suggèrent la présence de deux populations cellulaires.

Ensuite, une validation a été effectuée à partir de coupes de 10 microns de cellules obtenues de la compagnie Horizon Discovery. Celles-ci étaient constituées de cellules portant des mutations dans *KRAS* ou *NRAS* fixées au formol et enrobées de paraffine afin de reproduire les conditions des échantillons de pathologie. Après l'extraction d'ADN, des dilutions ont été effectuées afin d'obtenir une charge d'environ 5 % de mutation pour tester des échantillons près de la limite de détection anticipée. Les échantillons d'ADN ont été isolés pour le séquençage à l'aide de la trousse TST-15 (tableau 11).

Tableau 11 Validation d'échantillons contrôles commerciaux

GÈNE	TYPE DE MUTATION	DÉTECTION	POURCENTAGE DE MUTATION DÉTECTÉE
<i>KRAS</i>	c.38G>A (p.Gly13Asp)	Oui	4,9
<i>KRAS</i>	c.183A>C (p. Gln61His)	Oui	3,4
<i>KRAS</i>	c.436G>A (p.Ala146Thr)	Oui	4,2
<i>NRAS</i>	c.35G>A (p.Gly12Asp)	Oui	4,2
<i>NRAS</i>	c. 38G>A (p. Gly13Asp)	Oui	7,1
<i>NRAS</i>	c.175G>A (p. Ala59Thr)	Oui	6,3
<i>NRAS</i>	c.183A>T (p.Gln61His)	Oui	4,9
<i>NRAS</i>	c.436G>A (p. Ala146Thr)	Oui	4,3

Source : Données fournies par le demandeur

La détection de mutation dans le gène *BRAF* a révélé 8 cas négatifs (absence de la mutation V600E) et un cas positif (présence de la mutation V600E) qui ont été analysés avec 100% de concordance.

Pour ce qui est de la couverture, elle est supérieure à 500 X pour 100 % des bases des séquences ciblées sur les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*.

La robustesse de l'analyse a été évaluée en faisant examiner un échantillon d'ADN dans cinq cycles indépendants de séquençage, par trois membres du laboratoire. Un coefficient de variation de 5,1 % a été obtenu pour la détection de la mutation Gly12Asp dans le gène *KRAS* (tableau 12). Aucune autre mutation n'a été détectée, indiquant ainsi l'absence d'éléments contaminants dans la procédure employée par le demandeur.

Tableau 12 Évaluation de la robustesse, en détectant la mutation Gly12Asp du gène *KRAS* par SNG

CYCLE	POURCENTAGE DE MUTATION DÉTECTÉ	BASES (KRAS/NRAS/BRAF) AVEC COUVERTURE* (%)	COUVERTURE* MOYENNE (X)	BASE > Q30 (%)
1	25,5	100	14 061	87,3
2	24,2	100	11 810	87
3	25,7	100	9 700	86,2
4	24,1	100	11 384	87,1
5	24,1	100	11 500	88,4
6	27,3	100	14 582	86,6
Moyenne	25,2	100	12 172,8	87,1
CV (%)	5,1	0	15	0,9

Source : Données fournies par le demandeur

Abréviation : CV : coefficient de variation

Notes tableau : *En séquençage nouvelle génération, la couverture (en anglais *depth of coverage*) est généralement définie comme le nombre de lectures d'un nucléotide donné (nombre de fois où ce nucléotide est lu). Dans ce cas-ci, 500 X signifie qu'un nucléotide a été lu 500 X, ce qui est le minimum considéré acceptable.

6. IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par séquençage de nouvelle génération (SNG) pour le traitement du cancer colorectal métastatique (CCRm). Deux scénarios sont présentés. Le premier considère l'usage de l'analyse pour les patients pris en charge par le CHU de Sherbrooke alors que le second considère le déploiement de l'analyse à l'ensemble des patients du Québec. 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 aux tableaux 13 et 14. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée ciblerait les patients atteints d'un CCRm considérés pour une thérapie avec les anti-*EGFR*.
- La fréquence de mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* est respectivement de 49,6 %, 4,3 % et 5,1 % [Meric-Bernstam *et al.*, 2015].
- L'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec au cours de l'année 2015-16.

- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 389,95.
- Selon l'opinion d'experts, il est estimé que la majorité (75 %) des patients atteints de CCRm admissibles à une thérapie à base d'anti-EGFR reçoit du panitumumab plutôt que le cétuximab⁵⁹.
- Le coût d'un traitement (8 cycles de 2 semaines) avec le panitumumab est estimé à 20 400 \$, alors qu'il est d'environ 23 370 \$ avec le cétuximab.
- Aucune augmentation du taux d'incidence du CCRm n'est envisagée pour les trois prochaines années suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Les analyses de sensibilité présentées reflètent l'incertitude concernant la volumétrie anticipée.
- Selon l'ensemble des experts consultés, le statut mutationnel du gène *BRAF* en position V600 n'influence pas la prise en charge des patients atteints de CCRm.

Scénario 1

Usage de l'analyse uniquement pour les patients atteints de CCRm pris en charge par le CHU de Sherbrooke

Ce scénario considère que :

- Le centre demandeur effectue actuellement l'analyse du statut des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG chez les patients atteints de CCRm.
- Aucun remplacement d'analyse n'est alors anticipé.
- Les coûts de l'analyse ne sont pas défrayés par le MSSS, mais par l'établissement.
- Le demandeur anticipe que 70 analyses seraient réalisées au cours de chacune des trois prochaines années pour combler 100 % des besoins de l'établissement.

⁵⁹ Communications personnelles avec D^r Benoît Samson lors de l'évaluation du test *NRAS* publié en juin 2016 (13 mars 2016).

Tableau 13 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG pour le traitement du CCRm

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario 1 : Analyses réalisées au CHU de Sherbrooke				
Analyse SNG : <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i>	70	70	70	210
Coûts	27 297 \$	27 297 \$	27 297 \$	81 890 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			76 040 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			87 739 \$

Scénario 2

Déploiement de l'analyse à l'ensemble des patients atteints de CCRm au Québec

Ce scénario considère que :

- Les analyses *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* réalisées par TAAN dans le cadre d'une recherche de mutations pour le CCRm seraient remplacées par l'analyse proposée.
- En 2015-16, 1 598 analyses permettant la recherche de mutations dans le gène *KRAS* (code 65070) ont été réalisées par TAAN. La valeur pondérée de cette analyse est de 95.
- La volumétrie de l'analyse permettant la recherche de mutations dans le gène *NRAS* (code 65149) n'est pas encore disponible en raison de son ajout récent au *Répertoire*. Sa valeur pondérée est de 201,50. L'analyse du gène *NRAS* est réalisée parallèlement à celle du gène *KRAS* chez les patients atteints de CCRm.
- En 2015-16, 841 analyses permettant la recherche de mutations dans le gène *BRAF* (code 65002) ont été effectuées. De ce nombre, il est estimé que 10 % ont été faites chez des patients atteints de cancer colorectal. La valeur pondérée de cette analyse est de 63.
- Ainsi, il est estimé que 1 600 analyses par SNG seraient réalisées au cours de chacune des trois prochaines années au Québec.

Tableau 14 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG pour le traitement du CCRm

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : <u>sans</u> l'ajout de l'analyse combinée des gènes <i>KRAS</i>, <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i> par SNG pour le traitement du CCRm au <i>Répertoire</i>				
Analyse TAAN <i>KRAS</i>	1 600	1 600	1 600	4 800
Coûts	152 000 \$	152 000 \$	152 000 \$	456 000 \$
Analyse TAAN <i>NRAS</i>	1 600	1 600	1 600	4 800
Coûts	322 400 \$	322 400 \$	322 400 \$	967 200 \$
Analyse TAAN <i>BRAF</i>	84	84	84	252
Coûts	5 292 \$	5 292 \$	5 292 \$	15 876 \$
Coûts totaux	479 692 \$	479 692 \$	479 692 \$	1 439 076 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse combinée des gènes <i>KRAS</i>, <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i> par SNG pour le traitement du CCRm au <i>Répertoire</i>				
Analyse SNG : <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i>	1 600	1 600	1 600	4 800
Coûts	623 920 \$	623 920 \$	623 920 \$	1 871 760 \$
Impact net	144 228 \$	144 228 \$	144 228 \$	432 684 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			374 192 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			584 634 \$

Ainsi, pour les patients atteints de CCRm actuellement pris en charge par le CHU de Sherbrooke, l'ajout au *Répertoire* de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 27 000 \$ par année pour un total de près 82 000 \$ pour les trois premières années, et ce, selon la perspective du MSSS. Selon le scénario dans lequel l'analyse serait déployée à l'ensemble du Québec et où les analyses *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* réalisées par TAAN pour le cancer colorectal seraient remplacées complètement dès la première année, des coûts supplémentaires d'environ 144 000 \$ par année pour un total de 432 000 \$ pour les trois premières années sont à prévoir.

Par ailleurs, étant donné que le SNG possède une sensibilité analytique accrue relativement à la détection de mutations somatiques à faible concentration, son utilisation permettrait de reclasser 15,9 % de patients dont les tumeurs étaient initialement déclarées non mutées pour les gènes *RAS* [Ciardiello *et al.*, 2014]. Sur cette base, quelques patients parmi ceux pris en charge par le CHU de Sherbrooke ne recevraient plus d'anti-*EGFR*, permettant ainsi une réduction de coûts d'environ 100 000 \$. Si l'analyse était déployée pour l'ensemble des patients atteints de CCRm au Québec, il est estimé qu'environ une centaine de patients ne recevraient plus d'anti-*EGFR* permettant ainsi une réduction de coûts d'environ 2,5 M\$. Ces patients recevraient plutôt une chimiothérapie ou les meilleurs soins de soutien.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le séquençage de nouvelle génération est une technologie qui rend possible la caractérisation d'un grand nombre d'altérations génétiques en une analyse et favorise la découverte de nouveaux marqueurs pronostiques et prédictifs de la réponse à un traitement donné. Chez les patients atteints de CCRm en particulier, les échantillons ont tendance à être de petite taille en raison de la proportion de tissu normal dans les biopsies, restreignant ainsi les quantités d'ADN disponibles pour effectuer un test de génotypage. Par ailleurs, différentes études ont noté une reclassification de tumeurs mutées qui étaient initialement classées non mutées en utilisant des méthodes conventionnelles de génotypage.

L'utilisation de la trousse TST-15 sous-tend la disponibilité des résultats d'évaluation des douze autres gènes outre ceux des trois gènes ciblés par cette demande. Sachant qu'à l'avenir ces douze gènes pourraient être associés au CCRm ou à d'autres affections, il apparaît pertinent de s'interroger sur la divulgation des données générées auprès des médecins ou des compagnies d'assurance dans le cas échéant.

Une étude de contrôle de la qualité menée auprès de 131 laboratoires utilisant le SNG entre autres méthodes moléculaires a révélé qu'uniquement 37 d'entre eux étaient en mesure de tester les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 des gènes *NRAS* et *KRAS* [Tack *et al.*, 2015]. D'autre part, une autre étude a évalué le temps moyen de réponse à 10,4 jours ouvrables lorsque le séquençage Sanger était utilisé contre 13 jours pour le SNG. Toutefois, une réduction de coûts de 4,5 % ainsi que la possibilité de détecter de nouvelles mutations à faible fréquence ont été rapportées avec l'utilisation du SNG [Malapelle *et al.*, 2015].

Avec l'introduction croissante du séquençage de nouvelle génération dans la routine clinique, la formation d'un personnel de laboratoire notamment au niveau de la méthode et de l'interprétation des résultats constitue un enjeu important [Malapelle *et al.*, 2015; Tack *et al.*, 2015]. À cet effet, l'émergence du SNG dans le milieu clinique devra être soutenue par la création de postes de bio-informaticiens afin de garantir une interprétation et une utilisation optimales des données générées.

Il est à noter qu'un résultat faussement positif ou négatif pourrait engendrer des coûts supplémentaires ou alors exposer les patients à des toxicités graves causées par un traitement superflu [Tack *et al.*, 2015].

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

American Society for Clinical Pathology (ASCP), College of American Pathologists (CAP), Association for Molecular Pathology (AMP), et American Society of Clinical Oncology (ASCO)

Une collaboration de l'ASCP, le CAP, l'AMP et de l'ASCO a mené à une revue systématique de la littérature afin d'émettre des recommandations sur l'utilisation des anti-*EGFR* dans le traitement du cancer colorectal. Selon ces organisations, les preuves sont insuffisantes pour soutenir une recommandation à évaluer le statut mutationnel de *BRAF* V600 pour prédire la réponse aux anti-*EGFR*. Néanmoins, elles recommandent d'analyser la mutation *BRAF* V600 chez les patients atteints de cancer colorectal pour des fins de stratification du pronostic. En revanche, l'évaluation du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* portant sur les codons 12 et 13 de l'exon 2, 59 et 61 de l'exon 3 ainsi que 117 et 146 de l'exon 4 est recommandée chez les patients atteints de cancer colorectal et susceptibles d'être traités avec des anti-*EGFR*. Une note ajoutée à la recommandation détermine le temps de réponse idéal pour cette détection à 10 jours ouvrables [Sepulveda *et al.*, 2017].

L'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux et le Groupe d'étude en oncologie du Québec (INESSS – Unité d'évaluation en cancérologie et GÉOQ)

L'INESSS et le GÉOQ ont émis la recommandation d'analyser le statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* portant sur les codons 12 et 13 de l'exon 2, 59 et 61 de l'exon 3 ainsi que 117 et 146 de l'exon 4 chez les patients atteints de cancer colorectal et devant être traités avec des anti-*EGFR*. Ils soulignent la controverse associée à l'utilisation du gène *BRAF* comme marqueur prédictif de la réponse thérapeutique [INESSS et GÉOQ, 2016].

National Comprehensive Cancer Network (NCCN)

Le NCCN recommande le traitement des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des anti-*EGFR* (cétuximab ou panitumumab) en première intention, uniquement chez ceux dont les tumeurs sont localisées à gauche et porteurs des gènes *KRAS* et *NRAS* non mutés. De plus, un groupe d'experts du NCCN recommande fortement l'analyse du génotype des tissus tumoraux chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique. Le statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* permet d'orienter promptement le traitement en cas de CCRm, tandis que celui de *BRAF* est requis au diagnostic [Benson *et al.*, 2017]. Néanmoins, le National Comprehensive Cancer Network [2017] souligne une évidence grandissante bien que non suffisante de l'implication de la mutation *BRAF* V600E dans la réponse au panitumumab ou au cetuximab.

European Society for Medical Oncology (ESMO)

L'ESMO recommande d'analyser chez les patients atteints du cancer colorectal métastatique le statut mutationnel du gène *BRAF* conjointement à celui des gènes *RAS*, afin d'en évaluer l'utilité pronostique ou d'affecter les patients dans les études cliniques [Van Cutsem *et al.*, 2016].

Groupe d'experts de la Spanish Society of Pathology (SEAP) et la Spanish Society of Medical Oncology (SEOM)

En 2015, un groupe d'experts de la SEAP et de la SEOM recommande l'évaluation du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* chez tous les patients porteurs d'un cancer colorectal métastatique et susceptibles de recevoir des anti-*EGFR*. En revanche, l'analyse du gène *BRAF* s'avère non pertinente pour le choix thérapeutique et ne nécessite pas d'être effectuée de façon routinière.

Alberta Health Services (AHS)

En 2014, le Alberta Health Services a inclus les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* dans le panel de biomarqueurs à analyser, en se servant d'un essai multiplex. Aucune mention n'a été faite du codon 59 des gènes *KRAS* et *NRAS* [AHS, 2014]. De plus, la mutation du gène *BRAF* est associée à un pauvre pronostic et rend inefficace un traitement d'anti-*EGFR* de première intention combinée à la chimiothérapie [AHS, 2016].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse combinée des gènes *KRAS-NRAS-BRAF* par séquençage de nouvelle génération pour le traitement du cancer colorectal métastatique

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 des gènes *KRAS* et *NRAS* est reconnue. Toutefois, des questionnements concernant l'utilité d'ajouter le gène *BRAF* à cette analyse ont été soulevés.
- ✓ L'introduction de cette analyse ne devrait pas avoir pour conséquence le retrait des autres analyses des gènes *KRAS* et *NRAS*.
- ✓ Le demandeur devrait préciser comment seront gérés les résultats des autres gènes couverts par la trousse utilisée (puisque'il s'agit d'un panel de 15 gènes, il sera important de masquer les résultats des gènes non inclus à l'analyse).

ANNEXE A : Algorithme de traitement du cancer colorectal métastatique ou avancé, inopérable

Le demandeur a également référé à l'algorithme réalisé par l'Institut national d'excellence en Santé et en Services sociaux (INESSS) et le Groupe d'étude en oncologie du Québec (GEOQ) pour le traitement et le suivi du cancer colorectal métastatique (figure 2) [INESSS et GEOQ, 2016].

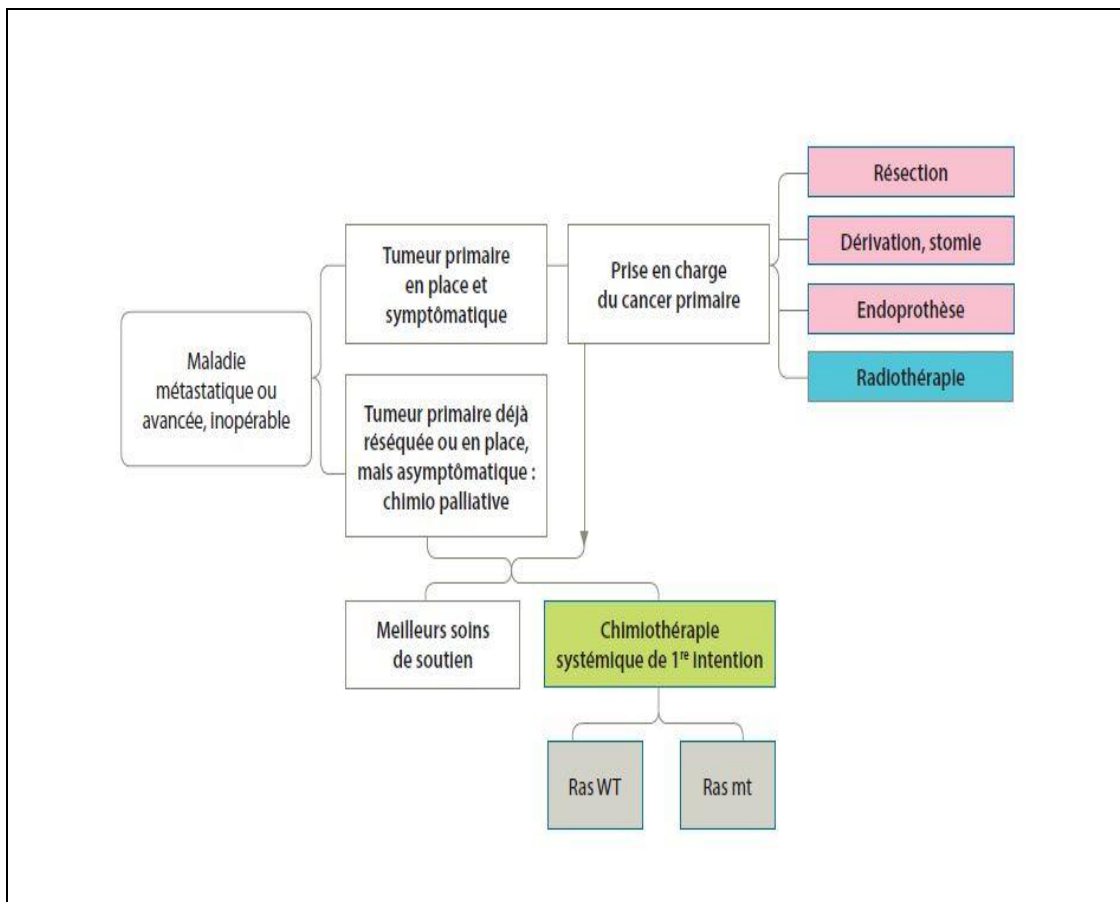


Figure 2 Algorithme de traitement d'un cancer colorectal métastatique ou avancé, inopérable

Source : Figure adaptée du document [INESSS et GEOQ, 2016]

Abréviations : WT : Type sauvage, traduit de l'anglais « wild type » ; mt : mutant

RÉFÉRENCES

- Aaltonen LA, Peltomaki P, Mecklin JP, Jarvinen H, Jass JR, Green JS, et al. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res* 1994;54(7):1645-8.
- AHS. Metastatic Colorectal Cancer. Alberta Health Services; 2016;Version 9:1-17.
- AHS. Laboratory bulletin. Edmonton : Alberta Health Services; 2014.
- BCBS oK. KRAS, NRAS and BRAF Mutation analysis in Metastatic Colorectal Cancer. BlueCross BlueShield of Kansas 2016;2016
- Benson AB, 3rd, Venook AP, Cederquist L, Chan E, Chen Y-J, Cooper HS, et al. Colon Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN* 2017;15(3):370-98.
- Benson AI B, Venook AP, Cederquist L, Chan E, Chen YJ, Cooper HS, et al. Colon cancer, version 1.2017: Clinical practice guidelines in oncology. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 2017;15 (3):370-98.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow H, P. Smith G, Milton J, Brown CG, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 2008;456(7218):53-9.
- Bristol-Myers SC. Communiqué de presse: Erbitux^{MC} en association avec la chimiothérapie... Bristol-Myers Squibb Canada, 2017.
- Brule SY, Jonker DJ, Karapetis CS, O'Callaghan CJ, Moore MJ, Wong R, et al. Location of colon cancer (right-sided versus left-sided) as a prognostic factor and a predictor of benefit from cetuximab in NCIC CO.17. *Eur J Cancer* 2015;51(11):1405-14.
- Ciardiello F, Normanno N, Maiello E, Martinelli E, Troiani T, Pisconti S, et al. Clinical activity of FOLFIRI plus cetuximab according to extended gene mutation status by next-generation sequencing: findings from the CAPRI-GOIM trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 2014;25(9):1756-61.
- Ciardiello F, Normanno N, Martinelli E, Troiani T, Pisconti S, Cardone C, et al. Cetuximab continuation after first progression in metastatic colorectal cancer (CAPRI-GOIM): a randomized phase II trial of FOLFOX plus cetuximab versus FOLFOX. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 2016;27(6):1055-61.
- De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic

- colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *The Lancet Oncology* 2010;11(8):753-62.
- Dienstmann R et Tabernero J. Spectrum of Gene Mutations in Colorectal Cancer: Implications for Treatment. *Cancer journal* (Sudbury, Mass) 2016;22(3):149-55.
- Gong J, Cho M, Sy M, Salgia R, Fakih M. Molecular profiling of metastatic colorectal tumors using next-generation sequencing: a single-institution experience. *Oncotarget* 2017;8(26):42198-213.
- Hawkes E et Cunningham D. Relationship between colorectal cancer biomarkers and response to epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies. *J Clin Oncol* 2010;28(28):e529-31; author reply e32-e33.
- Hsu H-C, Thiam TK, Lu Y-J, Yeh CY, Tsai W-S, You JF, et al. Mutations of KRAS/NRAS/BRAF predict cetuximab resistance in metastatic colorectal cancer patients. *Oncotarget* 2016;7(16):22257-70.
- Illumina. TruSight^{MC} Tumor 15, Reference guide, Notice-trusight-tumor-15. San Diego : Illumina; 2016.
- INESSS-bm. Évaluation des analyses de biologie médicale de l'INESSS: Recherche de mutations ciblées dans les exons 2, 3 et 4 du gène NRAS dans les tumeurs colorectales métastatiques : Référence — 2014.03.007R. Québec : INESS: institut d'excellence en santé et en services sociaux; Analyse tirée de l'avis transmis au ministre le 2 mai 2016.
- INESSS et GEOQ D. Algorithmes d'investigation de traitement et de suivi Cancer du côlon (mise à jour). *Cancer du côlon* 2016;2016:229 p..
- Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, Zalcberg JR, Tu D, Au HJ, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007;357(20):2040-8.
- Krahn M, Lévy, N., Bartoli, M. Le séquençage de nouvelle génération (Next-Generation Sequencing, ou NGS) appliqué au diagnostic de maladies monogéniques hétérogènes. *Les cahiers de myologie* 2016;2016(13):31-3.
- Malapelle U, Vigliar E, Sgariglia R, Bellevicine C, Colarossi L, Vitale D, et al. Ion Torrent next-generation sequencing for routine identification of clinically relevant mutations in colorectal cancer patients. *Journal of clinical pathology* 2015;68(1):64-8.
- Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* (London, England) 2011;377(9783):2103-14.

- Meric-Bernstam F, Brusco L, Shaw K, Horombe C, Kopetz S, Davies MA, et al. Feasibility of Large-Scale Genomic Testing to Facilitate Enrollment Onto Genomically Matched Clinical Trials. *J Clin Oncol* 2015;33(25):2753-62.
- Messersmith WA. Systemic Management of Colorectal Cancer. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* : JNCCN 2017;15(5S):699-702.
- Moretto R, Cremolini C, Rossini D, Pietrantonio F, Battaglin F, Mennitto A, et al. Location of Primary Tumor and Benefit From Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies in Patients With RAS and BRAF Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist* 2016;21(8):988-94.
- NIH I. Colorectal cancer Overview. Informed health Online Cologne, Germany: Institute for quality and efficiency in Health Care (IQWiG) 2017;
- RAMQ. Liste des médicaments — Établissements. Régie de l'assurance maladie du Québec; 2017.
- Rowland A, Dias, M.M., Wiese, M. D., Kichenadasse, G., McKinnon, R. A., Karapetis, C. S., and Sorich, M. J. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer. *British journal of cancer* 2015;2015(112):1888 - 94.
- Sakai K, Tsurutani J, Yamanaka T, Yoneshige A, Ito A, Togashi Y, et al. Extended RAS and BRAF Mutation Analysis Using Next-Generation Sequencing. *PloS one* 2015;10(5):e0121891.
- SCC. Statistiques canadiennes sur le cancer Sujet particulier: Le cancer du pancréas. Toronto : Société canadienne du Cancer; 2017.
- Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, et al. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *The Journal of molecular diagnostics* : JMD 2017;19(2):187-225.
- Summers MG, Smith CG, Maughan TS, Kaplan R, Escott-Price V, Cheadle JP. BRAF and NRAS Locus-Specific Variants Have Different Outcomes on Survival to Colorectal Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2017;23(11):2742-9.
- Tack V, Ligtenberg MJL, Tembuyser L, Normanno N, Vander Borgh S, Han van Krieken J, Dequeker EMC. External quality assessment unravels interlaboratory differences in quality of RAS testing for anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *The oncologist* 2015;20(3):257-62.
- van Brummelen EMJ, de Boer A, Beijnen JH, Schellens JHM. BRAF Mutations as Predictive Biomarker for Response to Anti-EGFR Monoclonal Antibodies. *The oncologist* 2017;22(7):864-72.

- Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 2016;27(8):1386-422.
- Venook AP. Impact of primary (1°) tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of CALGB/SWOG 80405 (Alliance). 2016.
- Wasan H, Meade AM, Adams R, Wilson R, Pugh C, Fisher D, et al. Intermittent chemotherapy plus either intermittent or continuous cetuximab for first-line treatment of patients with KRAS wild-type advanced colorectal cancer (COIN-B): a randomised phase 2 trial. *The Lancet Oncology* 2014;15(6):631-9.

CYSTATINE C – MESURE QUANTITATIVE PAR IMMUNOTURBIDIMÉTRIE (RÉFÉRENCE - 2017.02.003)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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 Simon Desmeules**, interniste et néphrologue, CHU de Québec - Hôtel-Dieu de Québec;
- **D^r Jean-Philippe Lafrance**, néphrologue, CIUSSS Est de l'île de Montréal - Hôpital Maisonneuve-Rosemont;
- **D^{re} Aïcha Merouani**, néphrologue, CHU Sainte-Justine;
- **D^{re} Louise Roy**, interniste et néphrologue, CHU de Montréal - Hôpital Saint-Luc.

2 RÉSUMÉ

La cystatine C serait utilisée comme marqueur complémentaire à la créatinine sérique pour l'évaluation de la fonction rénale et l'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG). L'utilisation de la cystatine C aurait comme avantage d'augmenter la précision de la créatinine puisqu'elle est moins influencée par l'âge, le sexe, la taille et la masse musculaire des patients.

L'analyse des données probantes montre que la précision de l'estimation du DFG basée uniquement sur la cystatine C ($DFGe_{cysc}$) est similaire ou légèrement supérieure au DFG estimé par la créatinine seule ($DFGe_{créat}$). Cependant, le DFG estimé en combinant la cystatine C et la créatinine ($DFGe_{créat-cysc}$) est plus précis. L'utilisation de la cystatine C pour estimer le DFG a pour conséquence de changer la classification de certains patients atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC).

La valeur prédictive de la cystatine C pour l'insuffisance rénale aiguë (IRA) varie d'acceptable à bonne, selon les méta-analyses et les sujets inclus. Chez les adultes, la cystatine C n'a pas d'avantage prédictif pour l'IRA comparativement aux biomarqueurs conventionnels. Chez les enfants, la définition de l'IRA basée sur la cystatine C est validée chez les enfants ayant subi une chirurgie cardiaque, mais pas chez les enfants admis aux soins intensifs.

Des études de pharmacocinétiques suggèrent que la cystatine C est un bon marqueur de la fonction rénale pour prédire la dose de médicaments excrétés par les reins chez les adultes. De plus, une étude comparative a démontré qu'un plus grand nombre de patients ont atteint la concentration minimale sérique de vancomycine lorsque l'ajustement de la dose était basé sur le $DFGe_{créat-cysc}$ comparativement à l'ajustement basé sur la clairance de la créatinine. Notons toutefois que les comparateurs utilisés dans ces études n'étaient pas optimaux.

Bien que le dosage de la cystatine C soit standardisé avec un matériel de référence international (ERM-DA471/IFCC), une grande variabilité interlaboratoire est observée par les programmes de contrôle de qualité externe. Les coefficients de variation (CV) intra-essai obtenus par le laboratoire demandeur étaient inférieurs à 1 % pour différentes concentrations et les CV inter-essais étaient tous inférieurs à 5 %. Les formules d'estimation du DFG proposées par le demandeur sont parmi les plus utilisées et les plus performantes.

En considérant que la volumétrie du dosage de la cystatine C correspondra à 10 % de celle du dosage de la créatinine sérique, l'ajout de l'analyse pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 40 000 \$ pour le total des trois premières années uniquement au CHU Sainte-Justine.

Les enjeux principaux de l'introduction du dosage de la cystatine C sont la reclassification de certains patients atteints d'insuffisance rénale vers une IRC moins grave nécessitant une prise en charge moins lourde et la nécessité de restreindre la

procédure à des populations très spécifiques afin d'éviter une escalade de coûts non nécessaires compte tenu de l'efficacité de la créatinine chez la majorité des patients.

Le groupe de travail du KDIGO et le NICE recommandent l'utilisation de la cystatine C pour confirmer un $\text{DFGe}_{\text{créat}}$ entre 45 ml/min/1,73 m² et 59 ml/min/1,73 m² en absence de marqueurs de dommage rénal. Le NKF-KDOQI juge qu'il reste encore beaucoup de questions concernant la façon d'incorporer le DFGe basées sur la cystatine C dans la pratique et la Société canadienne de néphrologie (SCN) s'est prononcée en défaveur de l'utilisation de la cystatine C dans la pratique de routine. Le KDIGO et la SCN recommandent l'utilisation de la cystatine C lorsque la précision de la dose d'un médicament est requise et/ou lorsque le $\text{DFGe}_{\text{créat}}$ n'est pas fiable, mais le NKF-KDOQI émet des réserves à ce sujet compte tenu de l'incertitude concernant les effets directs des médicaments sur la production de la cystatine C.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

La détermination quantitative de la cystatine C a comme objectif d'évaluer la fonction rénale et d'estimer le débit de filtration glomérulaire. À cette fin, la cystatine C serait un biomarqueur complémentaire à la créatinine.

3.2 Description de la méthode

Le demandeur propose d'utiliser la trousse Multigent Cystatin C^{MC} de la compagnie Sentinel CH. SpA. Cette trousse permet de mesurer la concentration de cystatine C dans le sérum ou le plasma à l'aide des analyseurs Architect c^{MC} Systems de la compagnie Abbott.

La méthode consiste en un dosage immunoturbidimétrique optimisé par l'emploi de particules (PETIA, de l'anglais *particle-enhanced turbidimetric immunoassay*). Le réactif est un anticorps polyclonal de lapin anti-cystatine C humaine adsorbé sur des particules de latex. L'agglutination de la cystatine C provenant d'un échantillon sérique aux particules anti-cystatine C engendre la formation d'immunocomplexes insolubles qui modifient l'absorbance du mélange réactionnel de façon proportionnelle à la quantité de cystatine C présente (figure 1). La quantification se fait en comparant l'absorbance de l'échantillon à celle d'un étalon de référence dont la concentration d'antigène est connue. Le dosage est standardisé à l'aide du matériel de référence international (ERM-DA471/IFCC) [Sentinel CH. SpA, 2012; Grubb *et al.*, 2010]⁶⁰.

⁶⁰ EMD Millipore, www.emdmillipore.com/CA/en/20140516_171833, (26 septembre 2017).

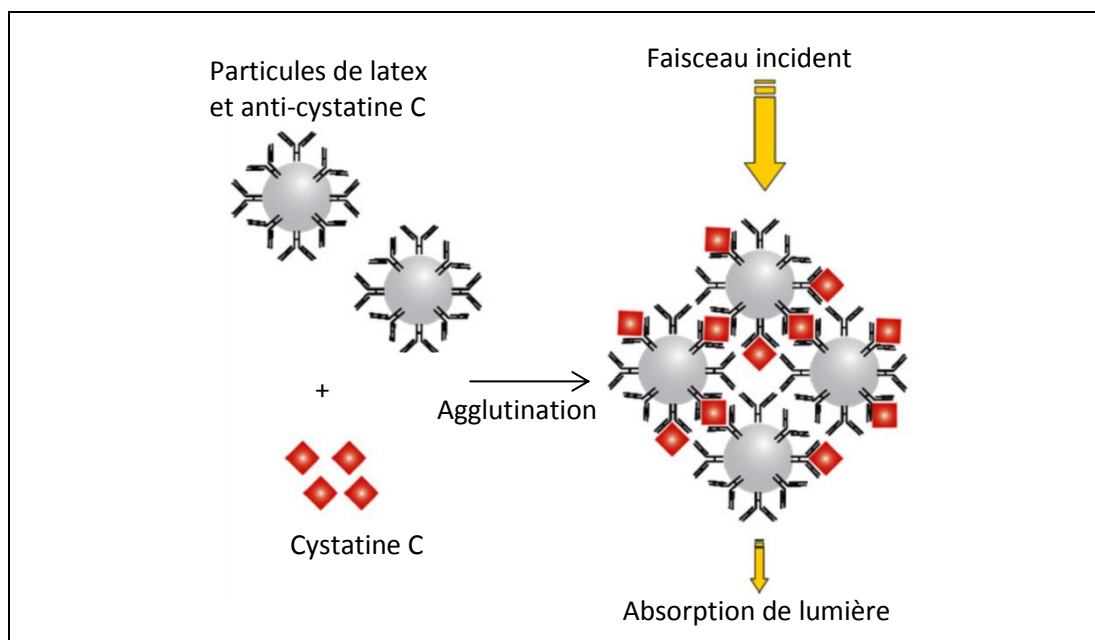


Figure 1 Immunoturbidimétrie optimisée par l'emploi de particules de latex

Source : modifiée à partir de www.emdmillipore.com/CA/en/20140516_171833

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront centrifugés, distribués en aliquotes et analysés sur un appareil de biochimie automatisé. Les échantillons provenant de l'extérieur devront être acheminés sur glace dans les sept jours. Le temps de réponse prévu est de 3 heures.

Estimation du débit de filtration glomérulaire

Plusieurs formules permettant d'estimer le débit de filtration glomérulaire (DFG estimé, DFG_e) sont rapportées dans la littérature. Le demandeur prévoit utiliser les formules issues des cohortes *Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) et *Chronic Kidney Disease in Children* (CKiD) (annexe A).

Le rapport émis par le demandeur contiendrait le DFG estimé suite à la mesure de la cystatine C (DFG_{e_{cysc}}) et le DFG estimé en combinant la mesure de la cystatine C à celle de la créatinine (DFG_{e_{créat-cysc}})⁶¹. Selon les experts, il serait aussi important de fournir le DFG estimé seulement à partir de la créatinine sérique (DFG_{e_{créat}}) pour des fins de comparaison avec le DFG_{e_{créat-cysc}} et dans l'optique de ne pas demander le dosage de la cystatine C à chaque évaluation de la fonction rénale (ainsi les trois valeurs de DFG_e devraient être mentionnées sur le rapport)⁶².

⁶¹ Anne-Sophie Bélanger, biochimiste clinique, CHU Sainte-Justine (1 septembre 2017).

⁶² D^r Simon Desmeules, interniste et néphrologue, CHUQ – Hôtel-Dieu de Québec (13 septembre et 16 novembre 2017).

3.4 Société ou concepteur

Sentinel CH. SpA

3.5 Homologation

La trousse Multigent Cystatin C^{MC} est homologuée au Canada (# 88560) depuis le 30 mars 2012⁶³ et elle n'est pas homologuée aux États-Unis.

3.6 Valeur pondérée : 3,78

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés sont ceux pour lesquels une évaluation de la fonction rénale est requise afin de diagnostiquer une insuffisance rénale ou d'ajuster le dosage d'un médicament dont la fenêtre thérapeutique est très étroite ou qui est néphrotoxique.

Le demandeur cible principalement la population pédiatrique. De plus, il a ajouté que le test serait utile pour 30 % de la population ayant une maladie rénale chronique (incluant les adultes).

4.2 Description de la maladie visée

L'insuffisance rénale est caractérisée par une incapacité plus ou moins importante du rein à filtrer le sang, ce qui interfère avec l'élimination des déchets et provoque entre autres un déséquilibre en sels minéraux et en eau. L'insuffisance rénale est plus commune chez les personnes âgées ainsi que chez les patients ayant une autre maladie chronique et elle est associée à un risque élevé de maladie cardiovasculaire et de mortalité. De plus, l'insuffisance rénale peut affecter la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des médicaments. Le DFG est le meilleur marqueur de la fonction rénale et il permet d'établir la gravité de la maladie [Levey et Inker, 2017]. Il existe deux types d'insuffisance rénale : l'insuffisance rénale aiguë (IRA) et l'insuffisance rénale chronique (IRC).

L'IRA se définit par un des paramètres suivants : une augmentation de la créatinine sérique d'au moins 0,3 mg/dl en 48 heures, une augmentation de la créatinine sérique équivalente à au moins 1,5 fois la valeur basale connue ou présumée dans les 7 jours précédents ou un volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pendant 6 heures [KDIGO, 2012]. Elle peut durer de quelques heures à quelques jours et elle est généralement réversible. L'IRA est secondaire à de nombreuses causes dont la néphropathie, l'obstruction du système urinaire et la baisse de la circulation sanguine filtrée par les reins. Elle survient le plus souvent après une chute brutale de la pression artérielle, lors d'une hémorragie, d'une septicémie ou d'une

⁶³ Santé Canada, instruments médicaux, <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/medicaments-produits-sante/instruments-medicaux/licences/liste-instruments-medicaux-homologues-vigueur.html> (26 septembre 2017).

complication opératoire. De façon générale, 10 % à 20 % des patients hospitalisés développent une IRA et l'incidence augmente jusqu'à 50 % chez les patients admis aux soins intensifs [Koza, 2016; Eckardt *et al.*, 2013].

L'IRC se définit par une anormalité de la structure ou de la fonction des reins présente depuis plus de trois mois et ayant des implications au niveau de la santé. Sa classification est basée sur sa cause, le DFG et le degré d'albuminurie [KDIGO, 2013]. Généralement, l'IRC est due à une néphropathie, un diabète ou une hypertension. La prévalence de l'IRC était de 12,5 % en 2007-2009 au Canada (3 000 000 d'adultes) [Arora *et al.*, 2013] et elle augmente constamment dû à l'accroissement de l'incidence des comorbidités qui lui sont associées [Cabarkapa, 2015].

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

En se basant sur les données du Children's Hospital of Eastern Ontario qui offre le dosage de la cystatine C depuis 2004, le demandeur estime qu'un test de cystatine C sera demandé pour dix tests de créatinine. Compte tenu qu'environ 69 000 tests de créatinine sériques sont faits par année au CHU Sainte-Justine⁶⁴, le nombre de tests anticipé pour la cystatine C est de 7 000 par année lorsque son utilisation clinique sera bien établie. Notons que cette estimation correspond seulement à ce qui serait fait au CHU Sainte-Justine. Le nombre de tests estimé pour l'ensemble du Québec n'est pas quantifiable avec les données disponibles.

4.4 Situation actuelle

Dosage de la cystatine C

Huit envois hors Québec ont été faits relativement au dosage de la cystatine C dans les trois dernières années (voir la section 4.5).

Débit de filtration glomérulaire

Présentement, le DFG est estimé à l'aide de la concentration sérique de la créatinine. Les médecins connaissent bien ce biomarqueur et utilisent leur jugement dans les conditions où la concentration de créatinine est moins fiable. Lorsqu'une plus grande précision est requise, le DFG est mesuré à l'aide de la clairance de la créatinine, de composés marqués avec un radio-isotope ou de l'iohexol.

Pour l'année 2015-2016, la volumétrie des procédures de mesure de la créatinine était de 10 004 923 (VP de 0,7 ou 1 selon le code). Cette volumétrie englobe tant les mesures de créatinine sérique que celles de créatinine urinaire et il n'est pas possible de les départir compte tenu des différences de fonctionnement d'un laboratoire à l'autre. La volumétrie de la mesure de la clairance des composés marqués aux radio-isotopes ou à l'iohexol n'est pas comptabilisée.

Limites du dosage de la créatinine

⁶⁴ Anne-Sophie Bélanger, biochimiste clinique, CHU Sainte-Justine (1 novembre 2017).

La créatinine est issue du métabolisme musculaire de la créatine. Elle est fréquemment plus élevée chez les hommes, les personnes de race noire et celles qui mangent beaucoup de viande tandis qu'elle est généralement plus basse chez les femmes, les personnes âgées, les patients paralysés, amputés et dénutris ainsi que les végétariens [Legris et Desforbes, 2017]. La fiabilité du dosage de créatinine pour estimer le DFG est donc limitée chez les sujets aux extrêmes de la masse musculaire, du poids et de l'âge, ainsi que chez les patients ayant des problèmes métaboliques⁶⁵.

Méthodes d'analyses de la cystatine C

Différentes méthodes existent pour quantifier la cystatine C; les plus utilisées sont la néphélométrie et la turbidimétrie. Ces dernières sont basées sur des essais similaires impliquant des anticorps anti-cystatine C humaine. Lorsque ces anticorps sont couplés à des particules de latex, on parle de PETIA et de PENIA (de l'anglais, *particle-enhanced nephelometric immunoassay*). Toutefois, alors que la turbidimétrie mesure l'absorbance du faisceau incident (figures 1 et 2), la néphélométrie mesure la lumière diffusée dans une direction donnée (figure 2). Jusqu'à présent, aucune méthode n'a été désignée comme méthode de référence pour la mesure de la cystatine C entre autres à cause de la grande variation interlaboratoire observée dans les programmes de contrôles de qualité externes [Bagnoux *et al.*, 2016; Eckfeldt *et al.*, 2015; Delanaye *et al.*, 2014].

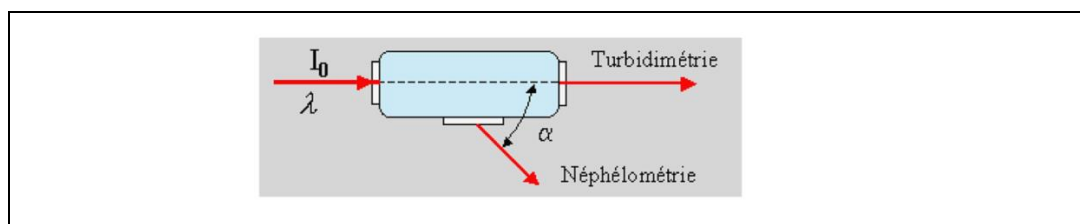


Figure 2 La turbidimétrie mesure l'absorbance du faisceau incident et la néphélométrie mesure la lumière diffusée à un angle précis

Source : ugac.ca/chimie_ens/Chimie_physique/Chapitres/chap_5.htm

4.5 Données médico-administratives

Le dosage de la cystatine C sérique n'est pas inclus au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*). L'analyse est rarement réalisée hors Québec compte tenu de la démarche à suivre et du délai d'obtention du résultat (plus d'un jour) (tableau 1)⁶⁶.

⁶⁵ D^r Simon Desmeules, interniste et néphrologue, CHUQ – Hôtel-Dieu de Québec (13 septembre et 16 novembre 2017).

⁶⁶ D^{re} Caroline Quach, pédiatre, microbiologiste médical et infectiologue, CHU Sainte-Justine (19 septembre 2017); D^r Michael Zappitelli, néphrologue, CUSM - Hôpital de Montréal pour enfants (5 octobre 2017).

Tableau 1 Envois hors Québec de l'analyse de la cystatine C sérique pour les années 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	ÉCHANTILLONS		TOTAL	LABORATOIRE
	n	COÛT (\$)		
2013-2014	5	25	125	<i>Hospital In-common Laboratory</i>
2014-2015	1	25	25	<i>Hospital In-common Laboratory</i>
2015-2016	1	30	30	<i>Hospital In-common Laboratory</i>
	1	0	0	<i>Hospital for Sick Children</i>

Source : données du MSSS

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Les avantages du dosage de la cystatine C allégués par le demandeur sont :

- la moins grande influence de l'âge, du sexe et de la taille de la personne sur la production de la cystatine C comparativement à celle de la créatinine;
- l'utilisation d'un analyseur de biochimie automatisé, ce qui confère des avantages au niveau du laboratoire, y compris un temps de réponse rapide, une haute capacité et un coût inférieur par rapport aux autres plateformes;
- la standardisation à l'aide d'un matériel de référence international (ERM-D471/IFCC).

4.7 Assurance qualité

Le laboratoire du demandeur prévoit utiliser deux des trois Liquichek^{MC} Immunology Control de Bio-Rad⁶⁷ comme référence. Ces contrôles sont préparés à partir de plasma humain défibriné auquel des protéines sériques, des stabilisants et des agents conservateurs ont été ajoutés. Ils contiennent plus de 30 protéines sériques et analytes incluant la cystatine C. Des valeurs cibles pour chacun des analytes sont fournies et testées pour la plupart des plateformes intégrées majeures d'immunodosage. Deux contrôles Liquichek^{MC} (deux concentrations différentes⁶⁸) seront mesurés à chaque quart de travail. L'utilisation de ces étalons de référence permettra d'effectuer des comparaisons interlaboratoires via l'Unity^{MC} Interlaboratory Program de Bio-Rad⁶⁹.

Puisque les concentrations des contrôles Liquichek^{MC} sont situées dans les valeurs basses de la courbe de linéarité (concentrations inférieures à 1 mg/l), le laboratoire

⁶⁷ Bio-Rad, www.bio-rad.com/fr-fr/product/liquichek-immunology-control (11 octobre 2017).

⁶⁸ La valeur cible de cystatine C dépend du lot du contrôle interne. Parmi les 3 lots utilisés dans la section des données fournies par le demandeur, la concentration cible du contrôle de niveau 1 variait de 0,38 mg/l à 0,56 mg/l et la concentration cible du contrôle de niveau 3 de 0,66 mg/l à 0,94 mg/l.

⁶⁹ Bio-Rad, www.bio-rad.com/fr-fr/product/unity-interlaboratory-program, (11 octobre 2011).

demandeur utilisera également le niveau 2 du contrôle d'Abbott afin d'évaluer la précision des valeurs hautes (concentration supérieure à 3 mg/l).

Le demandeur prévoit aussi participer au contrôle de qualité externe « Cystatin C – CYS » du College of American Pathologists⁷⁰. Ce contrôle comprend l'envoi de deux spécimens à évaluer deux fois par année, pour un total de quatre échantillons⁷¹.

5 DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique de l'estimation du DFG basée sur la cystatine C

Suite à la recherche documentaire, six revues systématiques avec méta-analyses [Yang *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Roos *et al.*, 2007; Dharnidharka *et al.*, 2002] et une revue systématique sans méta-analyse [Legris et Desforges, 2017] ont été retenues pour évaluer la valeur diagnostique de l'estimation du DFG basée sur la cystatine C. De plus, deux études de cohortes ont été retenues pour illustrer les effets potentiels de l'utilisation du $\text{DFGe}_{\text{cysc}}$ et du $\text{DFGe}_{\text{créat-cysc}}$ dans la pratique [Shardlow *et al.*, 2017; Delanaye *et al.*, 2013].

5.1.1 Revues systématiques avec méta-analyses portant sur la précision de l'estimation du DFG basée sur la cystatine C

Les six revues systématiques avec méta-analyses retenues avaient comme objectif d'évaluer la précision du $\text{DFGe}_{\text{cysc}}$ comparativement au DFG mesuré (DFGm)⁷² [Yang *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Roos *et al.*, 2007; Dharnidharka *et al.*, 2002]. Cinq d'entre elles ont aussi comparé la précision diagnostique du $\text{DFGe}_{\text{cysc}}$ à celle du $\text{DFGe}_{\text{créat}}$. Les patients inclus avaient des conditions variées sauf pour une méta-analyse dédiée aux patients diabétiques [Yang *et al.*, 2016] et une méta-analyse restreinte aux patients ayant reçu une transplantation rénale [Yuan *et al.*, 2014]. De plus, les méta-analyses de Wei et ses collaborateurs [2015] et Zhang et ses collaborateurs [2013] incluaient seulement des patients ayant une IRC. Le descriptif de chacune des méta-analyses est présenté à l'annexe B.

Les principaux résultats des méta-analyses sont présentés au tableau 2 (annexes C et D pour les résultats complets). Les auteurs des cinq méta-analyses ayant comparé la précision du $\text{DFGe}_{\text{cysc}}$ et du $\text{DFGe}_{\text{créat}}$ en utilisant le DFG mesuré comme référence ont tous fait le même constat : la sensibilité de la cystatine C est légèrement supérieure à celle de la créatinine alors que sa spécificité est similaire. Roos et ses collaborateurs [2007] ont souligné que la précision diagnostique pour

⁷⁰ Anne-Sophie Bélanger, biochimiste clinique, CHU Sainte-Justine (29 septembre 2017).

⁷¹ College of American Pathologists, Laboratory Improvement, www.cap.org/web/home/lab/catalogs-ordering-shipping?_afrLoop=389453987729673#!%40%40%3F_afrLoop%3D389453987729673%26_adf.ctrl-state%3D14ardsjgst_25, (10 octobre 2017).

⁷² Le DFGm était calculé à l'aide de la clairance de l'inuline, de l'iohexol, du 125I-iothalamate, du 99mTc-acide diéthylène triamine penta acétique (99mTc-DTPA), du 51Cr-acide éthylène diamine tétra acétique (51Cr-EDTA) ou de la clairance de la créatinine.

l'insuffisance rénale était en faveur de la cystatine C, mais que le chevauchement des rapports de cotes diagnostiques (RCD) ne permettait pas de dire quel biomarqueur était le meilleur. De leur côté, Wei et ses collaborateurs [2015] ont noté que la précision du $DFGe_{cysc}$ était plus élevée chez les diabétiques que chez les patients ayant des conditions variées et elle était moins bonne chez les patients ayant subi une transplantation rénale. Notons toutefois que les intervalles de confiance à 95 % (IC95 %) calculés sur les RCD du $DFGe_{cysc}$ pour chacune des trois populations se chevauchent (tableau 2).

Tableau 2 Principaux résultats des méta-analyses portant sur la précision de l'estimation du DFG basée sur la cystatine C et de celle basée sur la créatinine en utilisant le DFG mesuré comme référence

POPULATION	BIOMARQUEUR POUR LE DFG _e	DFG _m ml/min/1,73 m ²	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDES*	PATIENTS	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	I ² (%)
Enfants et adultes Conditions variées	Cystatine C	60 à 90	Roos, 2007	27	2 007	0,81 (0,76 à 0,85)	0,88 (0,84 à 0,91)	54,0 (30,18 à 96,64)	n.d.
		80 à 90	Zhang, 2013	17	3 567	0,803	0,821	32,54 (25,68 à 41,23)	48
		50 à 90	Wei, 2015 [†]	21	3 226	0,85 (0,81 à 0,89)	0,87 (0,84 à 0,90)	40 (26 à 61)	91
	Créatinine	60 à 90	Roos 2007	27	2 007	0,69 (0,61 à 0,76)	0,88 (0,83 à 0,92)	16,3 (8,35 à 31,79)	n.d.
		80 à 90	Zhang, 2013	13	2 890	0,697	0,787	20,86 (16,32 à 26,66)	0
Adolescents et adultes Diabète	Cystatine C	60 à 90	Wei, 2015 [†]	7	1 475	0,89 (0,81 à 0,94)	0,87 (0,83 à 0,90)	51 (22 à 122)	52
		60 à 90	Yang, 2016	17	2 173	0,88 (0,83 à 0,91)	0,87 (0,82 à 0,91)	46,57 (27,76 à 78,13)	88,78
	Créatinine	60 à 90	Yang, 2016	12	1 309	0,72 (0,66 à 0,78)	0,87 (0,77 à 0,92)	16,71 (10,02 à 27,88)	95,50
Adultes Transplantation rénale	Cystatine C	50 à 90	Wei, 2015 [†]	4	509	0,86 (0,79 à 0,91)	0,84 (0,78 à 0,89)	31 (16 à 60)	0
		60 à 90	Yuan, 2014	10	692	0,86 (0,82 à 0,90)	0,70 (0,65 à 0,75)	14,3 [‡]	73,7 (Se) 90,2 (Sp)
	Créatinine	60 à 90	Yuan, 2014	10	692	0,78 (0,73 à 0,82)	0,73 (0,68 à 0,78)	9,59 [‡]	41 (Se) 70,4 (Sp)

Sources : [Yang *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Roos *et al.*, 2007]

Abréviations : DFG : débit de filtration glomérulaire; DFG_e : DFG estimé; DFG_m : DFG mesuré; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; n.d. : non disponible; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP rapport de vraisemblance positif; Se : sensibilité; Sp : spécificité.

* Études ou ensembles de données.

[†] Seulement sujets adultes.

[‡] Valeur calculée par les professionnels scientifiques de l'INESSS (RCD = RVP/RVN; RVP = Se/[1-Sp]; RVN = [1-Se]/Sp).

5.1.2 Revue systématique portant sur l'utilisation de la cystatine C comme marqueur de la fonction rénale

Un des objectifs de la revue systématique de Legris et Desforges [2017] était de résumer les données de la littérature scientifique et les avis d'experts portant sur l'utilisation des formules basées sur la créatinine pour estimer le DFG. La recherche documentaire a été faite de 1999 à 2016.

Les auteurs ont consacré une section à la cystatine C comme marqueur de la fonction rénale. Il y est mentionné que la cystatine C est un marqueur très sensible qui augmente même lorsque la fonction rénale diminue légèrement et que son intérêt provient de sa plus grande indépendance face au genre, à l'âge et à la masse musculaire comparativement à la créatinine. Toutefois, la concentration de la cystatine C est influencée par divers facteurs; elle est augmentée entre autres lors de maladie rénale, d'hyperthyroïdie, d'inflammation, de diabète, d'obésité, d'athérosclérose et de prise de corticostéroïdes et elle est diminuée notamment lors d'hypothyroïdie, de cancer, de désordres inflammatoires neurologiques et en présence de cyclosporine. L'ajout de la cystatine C à la créatinine comme variable dans la formule CKD-EPI en a amélioré l'efficacité. Les auteurs ont souligné que des études supplémentaires étaient nécessaires avant l'élargissement de l'utilisation de la cystatine C pour l'estimation du DFG.

5.1.3 Impact de l'estimation du DFG basée sur la cystatine seule ou en combinaison à la créatinine sur la classification de l'IRC

La recherche documentaire a identifié deux études de cohorte prospectives illustrant l'effet du DFG_{cysc} et du $DFG_{créat-cysc}$ sur la classification des patients atteints d'IRC [Shardlow *et al.*, 2017; Delanaye *et al.*, 2013].

L'estimation du DFG basée sur la cystatine C seule ou en combinaison à la créatinine diminue la prévalence de l'IRC de stade G3 ou plus

L'objectif de Delanaye et ses collaborateurs [2013] était d'étudier la différence de prévalence d'IRC de stade G3 ou plus ($DFG < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) suite à l'estimation du DFG par différentes équations basées sur la créatinine et la cystatine C seules et en combinaison. Le DFG a été estimé chez 4 189 adultes volontaires ayant plus de 50 ans.

La prévalence des différents stades d'IRC est présentée au tableau 3. La prévalence d'IRC de stade G3 ou plus était plus élevée pour les formules basées sur la créatinine seule ($MDRD_{créat}$ [13,1 %] et $CKD-EPI_{créat}$ [9,8 %]) que pour les formules basées sur la cystatine C seule ($CKD-EPI_{cysc}$ [4,7 %]) ou en combinaison à la créatinine ($CKD-EPI_{créat-cysc}$ [5 %]). Alors que la différence de prévalence d'IRC de stade G3 ou plus n'était pas significative entre les formules basées sur la cystatine C seule et combinée, la différence de ces dernières avec la prévalence basée sur la formule $CKD-EPI_{créat}$ l'était ($p < 0,0001$). Les auteurs ont conclu que la prévalence d'IRC de stade G3 ou plus changeait en fonction du ou des biomarqueurs utilisés. Ils ont souligné que l'utilisation des formules basées sur la cystatine C seule ou combinée à la créatinine diminuait de moitié cette prévalence.

Tableau 3 Prévalence des différents stades d'IRC selon la formule* d'estimation du débit de filtration glomérulaire utilisée

DFGe ml/min/1,73 m ²	STADE D'IRC CORRESPONDANT [†]	PRÉVALENCE, %			
		MDRD _{créat}	CKD-EPI _{créat}	CKD-EPI _{cysc}	CKD-EPI _{créat-cysc}
> 90	G1	22,1	33	63,2	48,9
60 à 89	G2	64,8	57,2	32	46,1
30 à 59	G3	12,9	9,6	4,5	4,8
< 30	G4/G5	0,2	0,3	0,2	0,2
< 60	G3/G4/G5	13,1	9,8	4,7	5,0

Source : [Delanaye et al., 2013]

Abréviations : CKD-EPI : *chronic kidney disease-epidemiology collaboration*; créat : créatinine; cysc : cystatine C; DFGe: débit de filtration glomérulaire estimé; MDRD : *modified diet in renal disease*.

* Les équations des formules proposées par le demandeur ainsi que de celles dont il est question dans l'avis sont présentées à l'annexe A.

[†] Les stades d'IRC ne sont pas mentionnés dans la publication. La seule information qui est donnée est que l'IRC de stade 3 est définie par un DFGe inférieur à 60 ml/min/1,73 m². Toutefois pour faciliter la compréhension du lecteur et assurer la cohérence entre les études, les stades d'IRC correspondants aux DFGe rapportés sont présentés.

L'estimation du DFG basée sur la cystatine C augmente le nombre d'IRC de stade avancé dans un cadre clinique de soins primaires

Un des objectifs de Shardlow et ses collaborateurs [2017] était de comparer l'impact de l'utilisation des formules basées sur la cystatine C seule ou en combinaison à la créatinine pour estimer le DFG à l'utilisation du DFGe_{créat} chez des patients suivis dans un cadre de soins primaires ayant une IRC de stade G3 (définie par deux DFGe_{créat} séparés par plus de 90 jours). Cette étude prospective incluait 1 741 patients ayant un âge moyen de 72,9 ± 9 ans. Les formules utilisées pour estimer le DFG étaient celles de CKD-EPI. Notons toutefois que ces dernières n'ont pas été validées pour les patients de plus de 70 ans.

Les auteurs ont constaté que le DFGe_{cysc} reclassifiait 57 (7,3 %) patients ayant une IRC de stade G3a selon le DFGe_{créat} comme ayant une IRC de stade G1/G2 et 488 (62,2 %) patients comme ayant une IRC de stade G3b/G4/G5 (section gris pâle du tableau 4). De la même façon, le DFGe_{créat-cysc} reclassifiait 37 (4,7 %) patients comme ayant une IRC de stade G1/G2 et 311 (39,7 %) patients comme ayant une IRC de stade G3b/G4 (tableau 4).

Les auteurs ont identifié plusieurs facteurs indépendants, autres que le DFG, influençant le DFGe_{cysc} en utilisant une régression linéaire corrigée pour le DFGe_{créat} basal. Parmi les facteurs autres que le DFG influençant le DFGe_{cysc}, il y avait l'âge (-3,21 [IC95 % : -3,84 à -2,58]), le statut de fumeur (-7,80 [IC95 % : -11,14 à -4,46]), l'indice de masse corporelle (-1,50 [IC95 % : -2,11 à -0,90]), des marqueurs d'inflammation et des facteurs de risque cardiovasculaire non traditionnel tels le ratio albumine créatinine (-0,81 [IC95 % : -1,41 à -0,22]).

Sur la base de leurs résultats, les auteurs ont suggéré que l'utilisation du DFGe_{cysc} et du DFGe_{créat-cysc} dans un cadre clinique de soins primaires aurait pour effet de

reclassifier un grand nombre de patients comme ayant une IRC de stade avancé contrairement à ce qui était attendu suite aux recommandations du NICE et de KDIGO. Les auteurs ont conclu que leurs données ne supportaient pas l'introduction de la cystatine C dans un cadre clinique de soins primaires. Ils ont ajouté que d'autres études sont nécessaires pour définir l'application clinique appropriée pour le DFG_{cysc} et le DFG_{créat-cysc}.

Tableau 4 Reclassification des stades d'IRC suite à l'estimation du DFG par la cystatine C seule ou combinée à la créatinine

CLASSIFICATION DE L'IRC SELON LE DFG _e , n (%)										
DFG _{créat}	DFG _{cysc} [*]					DFG _{créat-cysc} [†]				
	G1/G2 [‡]	G3a [§]	G3b	G4 [¶]	G5 ^{**}	G1/G2 [‡]	G3a [§]	G3b	G4 [¶]	G5 ^{**}
G1/G2 [‡] 533 (30,8)	182 (34,1)	251 (47,1)	96 (18,0)	4 (0,8)	0	249 (46,7)	274 (51,4)	10 (1,9)	0	0
G3a [§] 784 (45,2)	57 (7,3)	239 (30,5)	446 (56,9)	41 (5,2)	1 (0,1)	37 (4,7)	436 (55,6)	309 (39,4)	2 (0,3)	0
G3b 381 (22,0)	10 (2,6)	12 (3,1)	183 (48,0)	174 (45,7)	2 (0,5)	3 (0,8)	13 (3,4)	270 (70,9)	95 (24,9)	0
G4 [¶] 34 (2,0)	0	2 (5,9)	2 (5,9)	28 (82,4)	2 (5,9)	0	0	2 (5,9)	31 (91,2)	1 (2,9)
Total 1732	249 (14,4)	504 (29,1)	727 (42,0)	247 (14,3)	5 (2,9)	289 (16,7)	723 (41,7)	591 (34,1)	128 (7,4)	1 (0,6)

Source : [Shardlow et al., 2017]

Abréviations : créat : créatinine; cysc : cystatine C; DFG_e : débit de filtration glomérulaire estimé; IRC : insuffisance rénale chronique.

Zones gris pâle : reclassification de l'IRC_{créat} G3a par l'utilisation du DFG_{cysc} ou du DFG_{créat-cysc}.

Zones gris foncé : concordance des classifications.

* Le coefficient de concordance Kappa de Cohen entre le DFG_{créat} et le DFG_{cysc} était de 0,13.

† Le coefficient de concordance Kappa de Cohen entre le DFG_{créat} et le DFG_{créat-cysc} était de 0,37.

‡ DFG ≥ 60 ml/min/1,73 m²

§ DFG = 45 ml/min/1,73 m² à 59 ml/min/1,73 m²

|| DFG = 30 ml/min/1,73 m² à 44 ml/min/1,73 m²

¶ DFG = 15 ml/min/1,73 m² à 29 ml/min/1,73 m²

** DFG < 15 ml/min/1,73 m²

5.2 Valeur prédictive de la cystatine C pour l'insuffisance rénale aigüe

La recherche documentaire a identifié quatre revues systématiques avec méta-analyses portant sur la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017; Yong *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011]. De plus, trois études de cohortes ont été retenues afin de comparer la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA aux biomarqueurs conventionnels [Bongiovanni *et al.*, 2015] et de comparer la validité de l'utilisation de la cystatine C pour définir l'IRA à celle de la créatinine [Lagos-Arevalo *et al.*, 2015; Zappitelli *et al.*, 2015].

5.2.1 Revues systématiques avec méta-analyses concernant la valeur de la cystatine C à prédire l'insuffisance rénale aigüe

L'objectif des quatre revues systématiques avec méta-analyses retenues était d'évaluer la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017; Yong *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011]. Deux méta-analyses comportaient exclusivement des patients adultes [Ho *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011] et une seulement des enfants [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017]. Les conditions cliniques des patients étaient variées sauf pour la méta-analyse de Ho et ses collaborateurs [2015] qui n'incluait que des patients ayant subi une chirurgie cardiaque. Le descriptif de chacune des méta-analyses est présenté à l'annexe B et les résultats complets sont présentés à l'annexe E.

De façon générale, l'aire sous la courbe ROC (ASC-ROC) était similaire pour toutes les populations et se situait entre 0,83 et 0,90⁷³ (tableau 5). Seule la méta-analyse n'incluant que des adultes ayant subi une chirurgie cardiaque avait une ASC-ROC inférieure et les auteurs ont suggéré que c'était dû aux restrictions concernant la population étudiée [Ho *et al.*, 2015]. Le RCD était de 21 pour les adultes ayant des conditions variées ou ayant subi une chirurgie et de 61 lorsque seul le sous-groupe de patients prédisposés à une néphropathie induite par les produits de contraste iodés (CIN) était pris en compte.

⁷³ Une discrimination parfaite entre les patients IRA et non-IRA donnerait une ASC-ROC de 1.

Tableau 5 Principaux résultats des méta-analyses portant sur la valeur prédictive de la cystatine C relativement à l'insuffisance rénale aiguë

POPULATION	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDE S*	PATIENTS		SENSIBILITÉ É (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
			n	IRA							
Enfants Conditions variées	Nakhjavan, 2017	24	2 296	543	n.d.	n.d.	n.d.	0,83 (0,80 à 0,86)	80,0	n.d.	n.d.
Adultes Conditions variées	Yong, 2017	30	4 247	982	0,82 (0,75 à 0,87)	0,82 (0,78 à 0,86)	21 (12 à 35)	0,89 (0,86 à 0,91)	96	4,6 (3,6 à 5,9)	0,22 (0,16 à 0,31)
	Zhang, 2011	14	1 641	267	0,82 (0,75 à 0,88)	0,82 (0,76 à 0,87)	21,5 (12,6 à 36,6)	0,86 [†] (0,85 à 0,87)	93	4,60 (3,39 à 6,25)	0,21 (0,15 à 0,31)
Adultes Chirurgie cardiaque	Ho, 2015	5	594	176	n.d.	n.d.	n.d.	0,69 (0,63 à 0,74)	0	n.d.	n.d.
	Yong, 2017	8	586	189	0,81 (0,71 à 0,89)	0,82 (0,72 à 0,89)	20 (7 à 57)	0,89 (0,86 à 0,91)	0	4,5 (2,7 à 7,8)	0,23 (0,13 à 0,39)
Adultes CIN	Yong, 2017	7	1 253	173	0,90 (0,61 à 0,98)	0,87 (0,82 à 0,90)	61 (10 à 388)	0,90 (0,88 à 0,93)	95	6,7 (4,7 à 9,7)	0,11 (0,02 à 0,57)

Sources: [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017; Yong *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011]

Abréviations: ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver operating characteristic*); CIN : néphropathie induite par les produits de contraste iodés (de l'anglais, *contrast-induced nephropathy*); IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IRA : insuffisance rénale aiguë; n.d. : non disponible; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP rapport de vraisemblance positif.

* Études ou ensembles de données.

† Exclusions d'un article dont l'ASC-ROC était très élevé et l'IC95 % très étroit, ce qui influençait d'environ 0,1 % la valeur.

Différentes analyses de sous-groupes ont été faites chez les patients adultes et ont révélé que la valeur prédictive de la cystatine C était plus élevée lorsque la :

- définition de l'IRA reposait sur les critères de KDIGO⁷⁴ comparativement à ceux de RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease*)⁷⁵ et de AKIN (Acute Kidney Injury Network)⁷⁶ (tableau 6);
- mesure de la cystatine C était prise 24 h suivant l'admission à l'hôpital ou la chirurgie chez les adultes ayant des conditions variées ou 12 h à 24 h suivant la chirurgie cardiaque (tableau 6).

Chez les enfants, l'analyse de sous-groupe effectuée a démontré que la valeur prédictive de la cystatine C variait légèrement selon sa concentration sérique (tableau 6) [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017].

Nakhjavan-Shahraki et ses collaborateurs [2017] ont aussi comparé la concentration moyenne ou médiane de la cystatine C entre les enfants développant une IRA et ceux ne la développant pas. De façon générale, la concentration sérique de la cystatine C était plus élevée chez les sujets développant une IRA (différence des moyennes normalisées [DMN] = 0,96 [IC95 % : 0,68 à 1,24]; $p < 0,0001$), cependant une analyse multivariée a démontré que cette différence était observable seulement chez les enfants ayant subi une chirurgie cardiaque (DMN = 1,50 [IC95 % : 1,02 à 1,99]; $p < 0,001$) et ceux admis à l'unité de soins intensifs pédiatriques (DMN = 0,71 [IC95 % : 0,41 à 1,02]; $p < 0,001$). Ainsi, chez les enfants ayant une septicémie, un faible poids à la naissance et une CIN avec ou sans asphyxie, il n'y avait pas de différence de concentration de cystatine C entre les sujets développant une IRA et ceux ne la développant pas (DMN = 1,09 [IC95 % : -1,15 à 3,33]; $p < 0,34$). De plus, une analyse multivariée a démontré que le moment auquel la mesure de cystatine C était prise, le moment auquel l'IRA était diagnostiqué et les critères de définition de l'IRA n'influençaient pas la différence de concentration sérique observée chez les enfants développant une IRA et ceux ne la développant pas.

⁷⁴ L'IRA est définie par la présence d'au moins un des critères suivants : augmentation de la créatinine sérique par au moins 0,3 mg/dl en 48 h; augmentation de la créatinine sérique d'au moins 1,5 fois comparativement à la valeur basale prise dans les 7 jours précédents; volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pour 6 h [KDIGO, 2012].

⁷⁵ L'IRA est définie par la présence minimale du critère R: augmentation de la créatinine sérique d'au moins 1,5 fois ou diminution du DFG supérieure à 25 % et/ou volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pour 6 h [Bellomo *et al.*, 2004].

⁷⁶ L'IRA est définie par une réduction marquée de la fonction rénale en 48 h et par la présence d'au moins un des critères suivants : augmentation absolue de la créatinine sérique d'au moins 0,3 mg/dl; augmentation de la créatinine sérique d'au moins 50 % (1,5 fois la valeur de base); volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pour plus de 6 h [Mehta *et al.*, 2007].

Tableau 6 Valeur prédictive de la cystatine C pour l'insuffisance rénale aigüe selon différents sous-groupes

POPULATION	SOUS-GROUPE		MÉTA-ANALYSE	ÉTUDES [*]	PATIENTS		SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
	GROUPE	PARAMÈTRES			N	IRA						
Adultes Conditions variées	Critères définissant l'IRA	KDIGO [†]	Yong, 2017	6	866	206	0,78 (0,49 à 0,93)	0,90 (0,81 à 0,95)	31 (6 à 174)	77	7,7 (2,4 à 17,7)	0,25 (0,09 à 0,70)
		AKIN ≥ 1 [‡]	Yong, 2017	8	812	238	0,81 (0,74 à 0,86)	0,81 (0,74 à 0,87)	18 (9 à 35)	0	4,3 (3,0 à 6,4)	0,24 (0,17 à 0,34)
		RIFLE ≥ R [§]	Yong, 2017	11	1 241	284	0,75 (0,67 à 0,82)	0,76 (0,67 à 0,82)	10 (5 à 18)	64	2,1 (2,2 à 4,4)	0,32 (0,23 à 0,46)
Adultes Conditions variées	Moment de la mesure, heures	0	Zhang, 2011	4	1 087	169	0,81 (0,70 à 0,89)	0,74 (0,62 à 0,82)	11,9 (7,65 à 18,6)	n.d.	3,11	0,26
			Yong, 2017	12	n.d.	n.d.	0,79 (0,70 à 0,86)	0,82 (0,74 à 0,88)	17 (9 à 35)	92	4,39	0,26
		1 à 12	Yong, 2017	9	n.d.	n.d.	0,75 (0,70 à 0,80)	0,72 (0,68 à 0,76)	8 (5 à 12)	0	2,68	0,35
		24	Yong, 2017	16	n.d.	n.d.	0,82 (0,69 à 0,90)	0,83 (0,76 à 0,89)	23 (9 à 57)	95	4,82	0,22
		48	Yong, 2017	7	n.d.	n.d.	0,76 (0,60 à 0,88)	0,87 (0,76 à 0,93)	21 (5 à 58)	94	5,85	0,28
Adultes Chirurgie cardiaque	Moment de la mesure, heures	1 à 6	Yong, 2017	5	n.d.	n.d.	0,73 (0,65 à 0,80)	0,68 (0,62 à 0,74)	6 (4 à 9)	100	2,28	0,40
		12 à 24	Yong, 2017	6	n.d.	n.d.	0,85 (0,72 à 0,92)	0,80 (0,68 à 0,89)	23 (7 à 77)	7	4,25	0,19
Enfants Conditions variées	Concentration de cystatine C, mg/l	0,4 à 1	N.-S. [¶] , 2017	n.d.	1 114	314	0,85 (0,78 à 0,90)	0,61 (0,48 à 0,73)	9,08	60,3 à 94,6 ^{***}	2,18 (1,66 à 2,88)	0,24 (0,18 à 0,34)
		1,01 à 2,5	N.-S. [¶] , 2017	n.d.	1 182	229	0,65 (0,49 à 0,77)	0,88 (0,79 à 0,94)	13,9	64,5 à 87,8 ^{††}	5,56 (3,62 à 8,53)	0,40 (0,28 à 0,56)

Sources: [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017; Yong *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011]

Abréviations: AKIN : Acute Kidney Injury Network; ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver operating characteristic*); IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IRA : insuffisance rénale aigüe; KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcome; n.d. : non disponible; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RIFLE : *Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease*; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP rapport de vraisemblance positif; Se : sensibilité; Sp : spécificité.

^{*} Études ou ensembles de données.

[†] Augmentation de la créatinine sérique par au moins 0,3 mg/dl en 48 h et/ou augmentation de la créatinine sérique d'au moins 1,5 fois comparativement à la valeur basale prise dans les 7 jours précédents et/ou volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pour 6 h [KDIGO, 2012].

[‡] Réduction marquée de la fonction rénale en 48 h : augmentation absolue de la créatinine sérique d'au moins 0,3 mg/dl et/ou augmentation de la créatinine sérique d'au moins 50 % (1,5 fois la valeur de base) et/ou volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pour plus de 6 h [Mehta *et al.*, 2007].

[§] Augmentation de la créatinine sérique d'au moins 1,5 fois ou diminution du DFG supérieure à 25 % et/ou volume d'urine inférieur à 0,5 ml/kg/h pour 6 h [Bellomo *et al.*, 2004].

^{||} Valeur calculée par les professionnels scientifiques de l'INESSS (RCD = RVP/RVN; RVP = Se/[1-Sp]; RVN = [1-Se]/Sp).

[¶] Nakhjavan-Shahraki

^{***} Les valeurs de I² sont les suivantes : 77,6 % (Se), 94,6 % (Sp), 92,8 % (RVP) et 60,3 % (RVN).

^{††} Les valeurs de I² sont les suivantes : 87,1 % (Se), 87,8 % (Sp), 64,5 % (RVP) et 85,5 % (RVN).

Les auteurs des cinq méta-analyses en sont venus à des conclusions différentes. Ainsi, Nakhajavan-Shahraki et ses collaborateurs [2017] ont qualifié la valeur prédictive de la cystatine C, mesurée dans les 24 heures suivant l'admission aux soins intensifs ou la chirurgie, d'acceptable pour la population pédiatrique. Pour leur part, Ho et ses collaborateurs [2015] l'ont qualifiée de modeste chez les adultes ayant subi une chirurgie cardiaque. Les deux autres groupes ont conclu que la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA était bonne [Yong *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2011]. Toutefois, ils ont souligné que des études additionnelles contrôlées et randomisées devaient être entreprises pour évaluer l'utilité clinique de la cystatine C pour l'IRA et pour continuer d'évaluer sa précision. Notons qu'aucune méta-analyse n'a comparé directement la valeur prédictive de la cystatine C à celle de la créatinine sérique dans un contexte d'IRA.

5.2.2 Comparaison de la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA à celle des biomarqueurs conventionnels

Une seule étude comparant la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA aux biomarqueurs conventionnels a été repérée lors de la recherche documentaire [Bongiovanni *et al.*, 2015].

La cystatine C n'offre pas d'avantage prédictif pour l'IRA chez les patients adultes admis à l'urgence

L'objectif de Bongiovanni et ses collaborateurs [2015] était d'évaluer l'utilisation de la cystatine C pour le diagnostic précoce et précis de l'IRA chez les patients hospitalisés admis à l'urgence. L'étude de cohorte prospective incluait 198 patients⁷⁷ âgés de $74 \pm 13,6$ ans et ayant un indice de masse corporelle de $26,5 \pm 5,1$ kg/m². L'IRA était définie par l'augmentation d'au moins 1,5 fois de la concentration de créatinine sérique par rapport à la valeur de base ou une diminution du DFGe supérieure à 25 % (critère de RIFLE).

Les concentrations sériques de cystatine C et de créatinine étaient significativement différentes entre les patients ayant développé une IRA (n = 33) et les patients non-IRA (n = 165) jusqu'à 48 heures suivant l'admission à l'urgence, alors que le DFGe_{créat} (formule MDRD, annexe A) était différent seulement dans les 24 premières heures (figure 3). Toutefois, tant pour les patients IRA que les non-IRA, la variation de chacun des biomarqueurs n'était pas significativement différente entre les mesures.

⁷⁷ Les patients exclus étaient ceux ayant une IRC (créatinine sérique ≥ 3 mg/dl) ou une tumeur maligne urothéliale, les patients suivant un traitement de dialyse ou de remplacement rénal et ceux ayant un besoin imminent lors de l'inscription à l'étude et les patients ayant subi une intervention clinique dans les 30 jours précédant l'inscription.

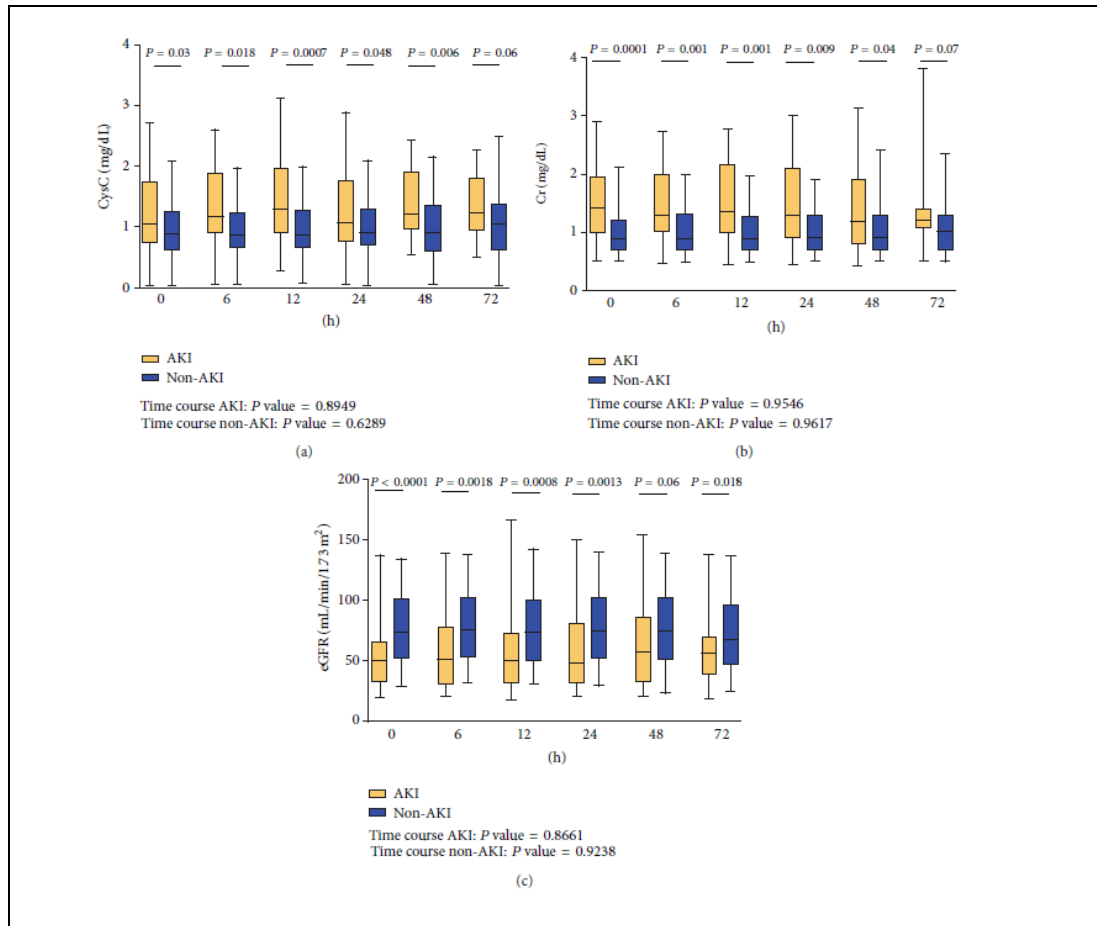


Figure 3 Comparaison des concentrations sériques de cystatine C et de créatinine ainsi que du $\text{DFGe}_{\text{créat}}$ entre les patients ayant développé une IRA* et ceux n'en ayant pas développé

Source : [Bongiovanni *et al.*, 2015]

Abréviations : AKI : *acute kidney injury*; cr: créatinine; cysc: cystatine C; eGFR: *estimated glomerular filtration rate*; IRA: insuffisance rénale aigüe.

* L'IRA était définie par l'augmentation d'au moins 1,5 fois de la concentration de créatinine sérique par rapport à la valeur de base ou une diminution du DFGe supérieure à 25 % (critère de RIFLE).

La valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA était supérieure à celle de la créatinine et du $\text{DFGe}_{\text{créat}}$ (paramètres mesurés lors de l'admission), la meilleure valeur prédictive était celle de la combinaison des trois paramètres (tableau 7). Notons toutefois le chevauchement des valeurs d'IC95 %. Les auteurs ont conclu que la cystatine C n'avait pas d'avantage prédictif pour l'IRA en comparaison à la créatinine et au DFGe chez les patients adultes admis à l'urgence.

Tableau 7 Analyse univariée de la cystatine C et de la créatinine sérique ainsi que du DFGe_{créat} au moment de l'admission pour le risque de développement de l'IRA

PARAMÈTRES	RCD (IC95 %)	p	ASC-ROC	p
Cystatine C > 1,44 mg/l	5,04 (2,20 à 11,52)	0,0002	0,72	< 0,02
Créatinine > 1,5 mg/l	2,84 (1,26 à 6,37)	0,01	0,70	< 0,01
DFGe _{créat} < 60 ml/min/1,73 m ²	3,33 (1,50 à 7,38)	0,003	0,71	< 0,01
Cystatine C > 1,44 mg/l Créatinine > 1,5 mg/l	3,48 (1,70 à 7,01)	0,01	0,70	< 0,0004
Cystatine C > 1,44 mg/l DFGe _{créat} < 60 ml/min/1,73 m ²	4,35 (1,68 à 8,12)	0,002	0,70	< 0,0003
Cystatine C > 1,44 mg/l Créatinine > 1,5 mg/l DFGe _{créat} < 60 ml/min/1,73 m ²	5,71 (1,86 à 17,55)	0,002	n.d.	n.d.

Source : [Bongiovanni *et al.*, 2015]

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver operating characteristic*); créat : créatinine; DFGe : débit de filtration glomérulaire estimé; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IRA : insuffisance rénale aiguë; RCD : rapport des cotes diagnostiques.

5.2.3 Validité de l'utilisation de la cystatine C pour définir l'IRA chez les enfants

Deux articles ont été retenus afin de comparer la validité de l'utilisation de la cystatine C pour définir l'IRA à celle de la créatinine [Lagos-Arevalo *et al.*, 2015; Zappitelli *et al.*, 2015].

La définition de l'IRA basée sur l'augmentation de la cystatine C est valide chez les enfants ayant subi une chirurgie cardiaque

Un des objectifs de Zappitelli et ses collaborateurs [2015] était de déterminer si la définition clinique de l'IRA (selon les critères de KDIGO) basée sur l'augmentation de la cystatine C (IRA_{cysc}) altère l'issue clinique des enfants ayant subi une chirurgie cardiaque comparativement à la définition de l'IRA basée sur l'augmentation de la créatinine (IRA_{créat}) (n = 287).

L'incidence d'IRA_{créat} (n = 125; 43,6 %) correspondait à plus du double de l'incidence d'IRA_{cysc} (n = 59, 20,6 %). Le pourcentage d'accord entre l'IRA_{créat} et l'IRA_{cysc} était de 71 % et la plus grande différence entre les deux définitions d'IRA était au niveau de l'IRA de stade 1 (accord de 95 % pour les stades ≥ 2). En effet, des 81 enfants ayant une IRA_{créat} de stade 1, 65 enfants étaient classifiés non-IRA sur la base de la concentration de cystatine C (tableau 8).

Tableau 8 Comparaison de la classification de l'IRA basée sur la cystatine C ou la créatinine chez les enfants ayant subi une chirurgie cardiaque

PATIENT* (n)				
IRA _{créat}	IRA _{cysc}			
	NON-IRA	STADE 1 [†]	STADE 2 [‡]	STADE 3 [§]
non-IRA 162	154	7	1	0
stade 1 [†] 81	65	14	2	0
stade 2 [‡] 11	8	1	2	0
stade 3 [§] 33	1	2	0	30
Total 287	228	24	5	30

Source : [Zappitelli *et al.*, 2015]

Abréviations : IRA : insuffisance rénale aiguë; IRA_{créat} : définition de l'IRA basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de créatinine sérique; IRA_{cysc} : définition de l'IRA basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de cystatine C; KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcomes.

Zones gris pâle : reclassification de l'IRA_{créat} de stade 1 par l'utilisation de la cystatine C.

Zones gris foncé : concordance des classifications.

* Valeur κ pour la classification de l'IRA = 0,611 (erreur standard : 0,045; $p < 0,001$).

[†] Augmentation du marqueur de 1,5 à 1,9 fois par rapport à la valeur de base ou augmentation d'au moins 0,3 mg/dl et moins de 0,5 ml/kg/h d'excrétion d'urine pendant 6 à 12 heures.

[‡] Augmentation du marqueur de 2,0 à 2,9 fois par rapport à la valeur de base et moins de 0,5 ml/kg/h d'excrétion d'urine pendant au moins 12 heures.

[§] Augmentation du marqueur de 3,0 fois par rapport à la valeur de base ou augmentation d'au moins 4,0 mg/dl ou initiation de la thérapie de remplacement rénale ou débit de filtration glomérulaire inférieur à 35 ml/min/1,73 m² chez les moins de 18 ans et moins de 0,3 ml/kg/h d'excrétion d'urine pendant au moins 24 heures ou anurie pendant au moins 12 heures.

L'IRA_{créat} et l'IRA_{cysc} étaient associées aux mêmes biomarqueurs urinaires (IL-18, KIM-1, NGAL, L-FABP)⁷⁸, mais l'association était plus forte pour l'IRA_{cysc} pour deux d'entre eux (IL-18 et KIM-1). De plus, les concentrations des biomarqueurs étaient plus élevées dans le groupe de patients positifs pour les deux définitions d'IRA (IRA_{créat} et IRA_{cysc}). Les auteurs ont donc suggéré que l'information fournie par les deux biomarqueurs pourrait être utile lorsque la spécificité du diagnostic d'IRA est requise (ex. détermination des risques préopératoires et décision d'arrêter un traitement à l'aide d'antibiotiques néphrotoxiques).

L'IRA_{cysc} avait une tendance à être détectée plus tardivement après la chirurgie que l'IRA_{créat} (moyenne de 2,02 ± 1,38 jours c. 1,54 ± 0,86 jour) et l'association de l'IRA_{créat} et de l'IRA_{cysc} avec l'issue clinique de la maladie était similaire. En effet, dans les deux cas, les durées du séjour à l'hôpital et du recours à la ventilation mécanique étaient plus longues chez les patients ayant développés une IRA suite à l'ajustement pour les covariables (tableau 9). Les auteurs ont conclu que la définition

⁷⁸ IL-18 : interleukin 18; KIM-1 : kidney injury molecule 1; NGAL: neutrophil gelatinase-associated lipocalin; L-FABP: liver fatty acid-binding protein.

de l'IRA basée sur la cystatine C est valide et que des recherches additionnelles sont nécessaires pour déterminer si l'incorporation de la cystatine C dans les soins cliniques peut mener à un changement de prise en charge des patients.

Tableau 9 Association de l'IRA définie par la créatinine ou la cystatine C et l'issue clinique des patients pédiatriques ayant subi une chirurgie cardiaque

ISSUE CLINIQUE	IRA _{créat}			IRA _{cysc}		
	OUI	NON	p [*]	OUI	NON	p [*]
Séjour aux soins intensifs, médiane (EIQ), jours	3 (2 à 5)	2 (1 à 3)	< 0,001	4 (3 à 5)	2 (1 à 3)	< 0,001
Séjour à l'hôpital, médiane (EIQ), jours	7 (5 à 13)	4 (3 à 6)	< 0,001	7 (5 à 15)	5 (3 à 7)	< 0,001
Ventilation mécanique, médiane (EIQ), jours	2 (1 à 3)	1 (0 à 2)	< 0,001	2 (1 à 3)	1 (0 à 2)	0,008

Source : [Zappitelli *et al.*, 2015]

Abréviations : EIQ : écart interquartile; IRA : insuffisance rénale aigüe; IRA_{créat} : définition de l'IRA basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de créatinine sérique; IRA_{cysc} : définition de l'IRA basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de cystatine C; KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcomes.

* Valeur de p ajustée pour l'âge (en année), le genre, le site, la race blanche, le DFG estimé avant l'opération, la sous-circulation extracorporelle excédant 120 minutes et une catégorie égale ou supérieure à 2 sur l'échelle *Risk Adjustment in Congenital Heart Surgery* 1. Les valeurs de p non ajustées étaient toutes inférieures à 0,001.

La cystatine C ne peut pas remplacer la créatinine dans la définition de l'IRA chez les enfants admis aux soins intensifs

Un des objectifs de Lagos-Arevalo et ses collaborateurs [2015] était d'évaluer la cystatine C comme alternative à la créatinine pour définir l'IRA. L'étude prospective incluait 160 enfants non cardiaques admis aux soins intensifs. L'IRA_{cysc} et l'IRA_{créat} étaient définies à l'aide des critères du KDIGO comme l'étude précédente (même groupe de recherche).

Alors que 77 (44 %) enfants ont développé une IRA_{créat}, 51 (32 %) ont développé une IRA_{cysc}. Il y avait 44 % d'accord pour la classification de l'IRA ($\kappa = 0,29$; $p < 0,001$) et 52 % d'accord entre la présence et l'absence d'IRA ($\kappa = 0,33$; $p < 0,001$). Le désaccord entre les deux définitions d'IRA était dû en grande partie au fait que la créatinine classifiait les sujets comme ayant une IRA plus grave (tableau 10).

Tableau 10 Comparaison de la gravité de l'IRA selon les classifications basées sur la cystatine C ou la créatinine chez les enfants admis aux soins intensifs

PATIENT* (n)				
IRA _{créat}	IRA _{cysc}			
	NON-IRA	STADE 1 [†]	STADE 2 [‡]	STADE 3 [§]
Non-IRA 90	74	11	5	0
Stade 1 [†] 35	22	11	2	0
Stade 2 [‡] 22	12	3	7	0
Stade 3 [§] 13	1	2	6	4
Total 160	109	27	20	4

Source : [Lagos-Arevalo *et al.*, 2015]

Abréviations : IRA : insuffisance rénale aiguë; IRA_{créat} : définition de l'IRA basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de créatinine sérique; IRA_{cysc} : définition de l'IRA basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de cystatine C; KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcomes.

Zones gris pâle : reclassification de l'IRA_{créat} de stade 3 par l'utilisation de la cystatine C.

Zones gris foncé : concordance des classifications.

* Valeur κ pour la classification de l'IRA = 0,29 ($p < 0,001$).

[†] Augmentation du marqueur de 1,5 à 1,9 fois par rapport à la valeur de base ou augmentation d'au moins 0,3 mg/dl et moins de 0,5 ml/kg/h d'excrétion d'urine pendant 6 à 12 heures.

[‡] Augmentation du marqueur de 2,0 à 2,9 fois par rapport à la valeur de base et moins de 0,5 ml/kg/h d'excrétion d'urine pendant au moins 12 heures.

[§] Augmentation du marqueur de 3,0 fois par rapport à la valeur de base ou augmentation d'au moins 4,0 mg/dl ou initiation de la thérapie de remplacement rénale ou débit de filtration glomérulaire inférieur à 35 ml/min/1,73 m² chez les moins de 18 ans et moins de 0,3 ml/kg/h d'excrétion d'urine pendant au moins 24 heures ou anurie pendant au moins 12 heures.

L'IRA_{cysc} et l'IRA_{créat} étaient associées de façon similaire à la concentration du biomarqueur urinaire NGAL. Cependant, seule l'IRA_{créat} prédisait une augmentation significative des durées de séjour aux soins intensifs pédiatriques et de recours à la ventilation mécanique après ajustement pour d'autres variables⁷⁹ (tableau 11). Compte tenu que les biomarqueurs urinaires et les issues cliniques de la maladie n'étaient pas associés plus fortement avec l'IRA_{cysc} qu'avec l'IRA_{créat}, les auteurs ont conclu que leurs données ne supportaient pas l'utilisation de la cystatine C en remplacement de la créatinine pour définir l'IRA chez les enfants gravement malades.

⁷⁹ Les autres variables étaient l'âge, le genre, un diagnostic primaire neurologique ou de traumatisme, la présence/absence d'infection (respiratoire ou non) et la nécessité d'administrer un vasopresseur.

Tableau 11 Association de l'IRA définie par la créatinine ou la cystatine C et l'issue clinique chez les enfants admis aux soins intensifs

ISSUE CLINIQUE	RAPPORT DES RISQUES INSTANTANÉS (IC95 %)	
	IRA _{créat}	IRA _{cysc}
Durée du séjour aux soins intensifs	0,56 (0,39 à 0,79)	0,91 (0,64 à 1,29)
Durée d'un recours à la ventilation mécanique	0,49 (0,33 à 0,72)	1,11 (0,74 à 1,65)

Source : [Lagos-Arevalo *et al.*, 2015]

Abréviations : IRA : insuffisance rénale aiguë; IRA_{créat} : définition de l'IRA était basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de créatinine sérique; IRA_{cysc} : définition de l'IRA était basée sur KDIGO en utilisant les valeurs de cystatine C; KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcomes.

5.3 Valeur pronostique

Une bonne proportion de la littérature portant sur la cystatine C concerne sa valeur pronostique pour les maladies cardiovasculaires, l'insuffisance rénale terminale et la mortalité. Toutefois, compte tenu que la valeur pronostique est directement en lien avec le DFG estimé et que 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, aucune étude n'a été retenue pour cette section.

5.4 Valeur thérapeutique

Une revue systématique [Brou *et al.*, 2015] et deux études prospectives [Frazee *et al.*, 2017; Dodgshun *et al.*, 2016] portant sur la valeur thérapeutique de la cystatine C ont été retenues suite à la recherche documentaire.

5.4.1 Revue systématique portant sur l'utilité de la cystatine C pour prédire la dose des médicaments excrétés par les reins

La revue systématique de Brou et ses collaborateurs [2015] avait comme objectif de réviser les évidences pharmacocinétiques portant sur l'utilité de la cystatine C comme marqueur de la fonction rénale afin de prédire la dose des médicaments qui sont excrétés par les reins. La recherche documentaire a été effectuée dans les bases de données PubMed et Embase de leur origine à janvier 2014 et a retenu 16 publications pharmacocinétiques dont une seule a été menée chez des enfants.

Les médicaments étudiés appartenaient à trois classes : les antimicrobiens (n = 11), les cardiotoniques (n = 3) et les antinéoplasiques (n = 3). En tout, 13 des 16 études ont démontré que la cystatine C était mieux corrélée que la créatinine avec la clairance ou la concentration sérique minimale des médicaments évalués (tableau 12). Les auteurs ont conclu que la cystatine C est un bon marqueur de la fonction rénale pour prédire la dose des médicaments excrétés par les reins chez les adultes et les personnes âgées. Notons toutefois qu'aucune étude n'a utilisé les équations CKD-EPI recommandées par le KDIGO et le NICE. De plus, certaines études avaient comme comparateur la concentration sérique de créatinine qui n'est

plus utilisée⁸⁰. Finalement, les auteurs ont souligné que des efforts devaient être faits pour évaluer l'impact de la cystatine C chez les populations spéciales (ex. les enfants et les patients gravement malades) afin de définir la valeur clinique de la cystatine C pour l'optimisation du dosage.

⁸⁰ D^r Jean-Philippe Lafrance, néphrologue, CIUSSS Est Mtl - Hôpital Maisonneuve-Rosemont (7 novembre 2017).

Tableau 12 Résumé des études pharmacocinétiques incluses dans la revue systématique de Brou et ses collaborateurs

MÉDICAMENT		PATIENTS		FONCTION RÉNALE		FONCTION RÉNALE - PHARMACOCINÉTIQUE		
CLASSE	NOM	N	ÂGE (ANNÉE)	CRÉATININE	CYSTATINE C	CORRÉLATION SIGNIFICATIVE		CYSC EST MIEUX CORRÉLÉE AVEC LA PHARMACOCINÉTIQUE QUE CRÉATININE? (r^2)
						CYSC c. CL _{MÉD} (r^2)	CYSC c. C _{OMÉD} (r^2)	
Antimicrobiens	Vancomycine	65	19 à 78	Clairance	Flodin [*]	Oui (0,85)	-	Oui (0,64)
		60	16 à 64	CG [*]	Hoek [*]	-	Oui (0,78)	Oui (0,54)
		105	66 à 95	CG [*]	Hoek [*]	-	Oui (0,79)	Oui (0,18)
		25	31 à 82	CG [*]	Hoek [*]	Oui (0,70)	-	Oui (0,37)
		18	n.d.	CG/MDRD [*]	Règles/Hoek [*]	-	Oui (0,42/0,49)	Oui (0,13/0,19)
		164	17 à 95	n.d.	Hoek [*]	Oui (0,84)	-	-
		24	66 à 87	CG [*]	Larsson [*]	Oui (0,78)	-	Oui (0,47)
		678	18 à 96	CG [*]	Conc.	Oui	-	Oui
	Amikacine	71	4 à 28	CG/CKiD _{créat} [*]	Grubb/Larsson [*]	Oui	-	Oui
	Céfuroxime	97	24 à 95	Conc.	Conc.	-	Oui	Oui
	Arbekacin	95	73 à 16	CG [*]	Sjöström [*]	-	Oui (0,89)	Oui (0,64)
Cardiotoniques	Digoxine	149	55 à 106	Conc.	Conc.	-	Oui (0,20)	Oui (0,14)
		61	24 à 92	CG [*]	Larsson [*]	Oui (0,25)	Oui	Oui (0,16)
		18	67 à 86	Conc.	Conc.	-	Non (0,09)	Non (0,16)
Antinéoplasiques	Carboplatine	45	21 à 79	CG [*]	Conc.	Oui	-	Oui
		357	21 à 87	Conc.	Conc.	Oui	-	-
	Topotécan	59	18 à 76	Conc.	Conc.	Oui (0,43)	-	Oui (0,23)

Source : [Brou *et al.*, 2015]

Abréviations : c. : comparativement; C_{OMÉD} : concentration minimale sérique du médicament; CG : formule Cockcroft-Gault; CL_{méd.} : clairance du médicament; conc. : concentration; créat : créatinine; cysc : cystatine C.

* Formule utilisée pour calculer le débit de filtration glomérulaire. Les équations des formules proposées par le demandeur ainsi que de celles dont il est question dans l'avis sont présentées à l'annexe A.

5.4.2 Le $DFGe_{\text{créat-cysc}}$ calculé à l'aide de la formule $nCKiD$ est plus précis que le $DFGe_{\text{créat}}$ chez les patients suivis en oncologie pédiatrique

L'objectif de Dodgshun et ses collaborateurs [2016] était d'évaluer la précision du DFG estimé à l'aide de la cystatine C chez des enfants recevant une chimiothérapie néphrotoxique. Les concentrations de cystatine C et de créatinine étaient prises à chaque mesure du DFG à l'aide de ^{99m}Tc -DTPA ($DFGm_{\text{DTPA}}$). Les DFG ont été estimés à l'aide de quatre formules : $CKiD_{\text{créat-cysc}}$, $nCKiD_{\text{créat-cysc}}$, $Filler_{\text{cysc}}$ et $CKiD_{\text{créat}}$ (annexe A).

La majorité des $DFGm_{\text{DTPA}}$ était normale (84 % ≥ 90 ml/min/1,73m²). Les $DFGe$ calculés à l'aide de la formule $nCKiD_{\text{créat-cysc}}$ étaient les plus près des valeurs mesurées (tableau 13). Pour les $DFGm_{\text{DTPA}}$ inférieurs à 70 ml/min/1,73 m², l'estimation la plus élevée obtenue avec la formule $nCKiD_{\text{créat-cysc}}$ était de 85 ml/min/1,73 m². De plus, tous les $DFGe_{\text{créat-cysc}}$ supérieurs à 100 ml/min/1,73 m² correspondaient à des $DFGm_{\text{DTPA}}$ supérieurs à 90 ml/min/1,73 m² (66 % de l'ensemble des paires de données). Le biais de la formule $nCKiD_{\text{créat-cysc}}$ était bas et non significatif (-4,6 ml/min/1,73 m² [IC95 % : -10 à 0,7]).

Les auteurs ont conclu que le $DFGe$ calculé avec la formule $nCKiD_{\text{créat-cysc}}$ prédit le $DFGm_{\text{DTPA}}$ plus précisément que le $DFGe_{\text{créat}}$ chez les patients suivis en oncologie pédiatrique. Ils ont ajouté que la mesure du DFG à l'aide de radio-isotopes pouvait être omise chez les sujets présentant un $DFGe_{\text{créat-cysc}}$ supérieur à 100 ml/min/1,73 m².

Tableau 13 Précision du DFG estimé à l'aide de différentes formules dans une cohorte d'enfants recevant une chimiothérapie néphrotoxique

MARQUEUR POUR LE DFG _e	FORMULE*	PRÉCISION DU DFG _e , %	
		± 30 % DU DFG _m	± 10 % DU DFG _m
Cystatine C et Créatinine	nCKiD _{créat-cysc} [†]	86	45
	CKiD _{créat-cysc}	70	29
Cystatine	Filler	61	25
Créatinine	CKiD _{créat}	5	2

Source : [Dodgshun *et al.*, 2016]

Abréviations : CKiD : *chronic kidney disease in children*; créat: créatinine; cysc: cystatine C; DFG : débit de filtration glomérulaire; DFG_e : DFG estimé; DFG_m : DFG mesuré.

* Formule utilisée pour calculer le débit de filtration glomérulaire. Les équations des formules proposées par le demandeur ainsi que de celles dont il est question dans l'avis sont présentées à l'annexe A.

[†] Le n sert à différencier la formule de 2012 de celle publiée en 2009 qui était dérivée à partir des données de la même cohorte.

5.4.3 L'algorithme de dosage de la vancomycine basé sur le DFG_{créat-cysc} double le nombre de patients atteignant la concentration minimale sérique de la vancomycine sans affecter l'efficacité clinique et l'innocuité du médicament

L'objectif de l'étude prospective de Frazee et ses collaborateurs [2017] était de déterminer si un algorithme de dosage de la vancomycine⁸¹ basé sur le DFG_{créat-cysc} améliore l'atteinte des concentrations minimales cibles chez les patients septiques adultes gravement malades (n = 135, formule CKD-EPI [annexe A]), par rapport à un algorithme basé sur la clairance de la créatinine (Cl_{Cr}) combinée au jugement clinique (n = 264, formule Cockcroft-Gault [annexe A]).

En tout, 67 (50 %) des 135 patients du groupe d'intervention ont atteint la concentration minimale thérapeutique de vancomycine par rapport à 74 (28 %) des 264 patients du groupe témoin (RC = 2,53 [IC95 % : 1,65 à 3,90]; p < 0,001). Suite à l'ajustement pour certaines variables⁸², l'algorithme basé sur la cystatine C était associé à une augmentation de 2,8 fois des chances d'atteindre la concentration minimale cible de vancomycine comparativement à la prise en charge standard (RC = 2,79 [IC 95 % : 1,76 à 4,44]; p < 0,001).

De façon générale, les concentrations de vancomycine atteintes chez les patients du groupe d'intervention variaient moins que chez les patients du groupe contrôle et elles étaient plus près de la valeur cible (tableau 14). De plus, les patients du groupe

⁸¹ La vancomycine présente une fenêtre thérapeutique étroite et les concentrations sous-thérapeutiques sont associées à l'échec clinique et à la résistance antimicrobienne élevée, tandis que les concentrations supratherapeutiques sont associées à l'ototoxicité et la néphrotoxicité.

⁸² L'analyse multivariée incluait l'âge, le sexe, le score III APACHE (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*), l'équilibre hydro-électrolytique du jour 1, la Cl_{Cr} inférieure à 60 ml/min au début de l'étude, le diagnostic à l'admission, l'état septique et la concentration sérique minimale de la vancomycine.

d'intervention avaient moins de concentrations au-dessus (14 % c. 20 %) et en dessous (36 % c. 52 %) des valeurs cibles ($p < 0,001$). Par ailleurs, l'efficacité clinique était similaire entre les deux groupes au point de vue du nombre de patients avec lésions rénales aiguës ou décédés, de l'absence de réponse à la thérapie après 7 jours de traitement, du nombre de patients infectés par *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, de la durée d'hospitalisation et du séjour à l'unité de soins intensifs et de la mortalité à 28 jours toutes causes confondues.

Les auteurs ont conclu que l'algorithme de dosage de la vancomycine basé sur le $DFGe_{\text{créat-cysc}}$ calculé avec la formule CKD-EPI double le nombre de patients atteignant la concentration minimale sérique de la vancomycine et diminue la variabilité des concentrations mesurées chez les patients gravement malades comparativement à l'algorithme utilisant la Cl_{Cr} combinée au jugement clinique. Notons toutefois que la méthode de référence habituellement utilisée est l'estimation du DFG basée sur la créatinine seule et calculée à l'aide de l'équation CKD-EPI⁸³. Les auteurs ont aussi souligné qu'aucune différence d'efficacité clinique et d'innocuité n'a été observée entre les groupes.

Tableau 14 Concentrations de vancomycine atteintes en fonction de la concentration cible lorsque la dose est ajustée selon le $DFGe_{\text{créat-cysc}}$ ou la clairance de la créatinine

CONCENTRATION DE VANCOMYCINE			
CIBLE, mg/l	ATTEINTE c. CIBLE	ATTEINTE MÉDIANE (EIQ), mg/l	
		$DFGe_{\text{créat-cysc}}$	Cl_{Cr}
10 à 15 (n = 113)	< cible	8,6 (6,8 à 9,3)	7,9 (6,9 à 8,7)
	= cible	12,4 (11,0 à 13,4)	12,7 (11,8 à 13,8)
	> cible	16,3 (16,2 à 22,6)	18,1 (16,7 à 23,5)
15 à 20 (n = 286)	< cible	13,8 (12,9 à 14,5)	11,1 (8,9 à 12,6)
	= cible	17,4 (16,0 à 18,9)	17,4 (14,9 à 18,5)
	> cible	21,4 (20,2 à 23,4)	23,9 (22,4 à 26,1)

Source : [Frazee *et al.*, 2017]

Abréviations : c. : comparativement; Cl_{Cr} : clairance de la créatinine estimée; EIQ : écart interquartile; $DFGe_{\text{créat-cysc}}$: débit de filtration glomérulaire estimée à partir des concentrations de créatinine et de cystatine.

⁸³ D^r Jean-Philippe Lafrance, néphrologue, CIUSSS Est Mtl - Hôpital Maisonneuve-Rosemont (7 novembre 2017).

5.5 Validité analytique

Trois aspects différents seront abordés dans cette section : la performance de la méthode par turbidimétrie comparativement à la méthode par néphélométrie, la validité analytique de la trousse Multigent Cystatine C^{MC} de Sentinel CH. SpA et la performance des formules d'estimation du DFG proposées par le demandeur.

5.5.1 Comparaison des méthodes par turbidimétrie aux méthodes par néphélométrie

Il n'existe présentement pas de méthode de référence pour le dosage de la cystatine C [Delanaye *et al.*, 2014]. Des programmes de contrôle de qualité externe ont démontré une grande variabilité interlaboratoire pour différents essais par néphélométrie et turbidimétrie, mais celui spécifiquement proposé par le demandeur n'en faisait pas partie [Bagnoux *et al.*, 2016; Eckfeldt *et al.*, 2015]. De plus, les quatre méta-analyses présentées dans les sections précédentes ayant fait des analyses de sous-groupe en fonction de la méthode de quantification de la cystatine C n'ont pas démontré de différence marquée entre les méthodes puisque les IC95 % des rapports des cotes diagnostiques se chevauchaient en grande partie (tableau 15) [Yong *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013]. Zhang et ses collaborateurs [2013] ont souligné la grande hétérogénéité associée à chacune des méthodes. De plus, alors que Wei et ses collaborateurs [2015] ont conclu que la néphélométrie était plus performante, Yong et ses collaborateurs [2017] ont conclu à la supériorité de la turbidimétrie et de l'ELISA.

Tableau 15 Résultats des analyses de sous-groupe des méta-analyses en fonction de la méthode de quantification de la cystatine C

MÉTA-ANALYSE	POPULATION	MÉTHODE	DFGm ml/min/1,73 m ²	ÉTUDES*	PATIENTS	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	I ² (%)
Zhang, 2013	Enfants et adultes Conditions variées	PENIA	80 à 90	13	3 139	0,882	0,712	33,4 (22,6 à 48,9)	38,6
		PETIA	80 à 90	4	428	0,845	0,832	25,8 (12,6 à 55,1)	30,3
Wei, 2015	Adultes Conditions variées	PENIA	50 à 90	13	1 840	0,85 (0,79 à 0,90)	0,87 (0,83 à 0,91)	40 (23 à 70)	89
		PETIA	60 à 90	5	1 129	0,83 (0,75 à 0,89)	0,86 (0,76 à 0,92)	31 (14 à 66)	65
Yuan, 2014	Adultes Transplantation rénale	PENIA	60 à 90	6	n.d.	0,87 (n.d.)	0,67 (n.d.)	23,56 (12,93 à n.d.)	17,2
		PETIA	60 à 90	4	n.d.	0,83 (n.d.)	0,91 (n.d.)	37,63 (11,68 à 121,26)	0,0
Yong, 2017	Adultes Conditions variées	PETIA	s.o. [†]	5	546 IRA : 129	0,76 (0,51 à 0,91)	0,87 (0,74 à 0,94)	21 (4 à 103)	88
		PENIA	s.o. [†]	14	2 043 IRA : 484	0,82 (0,31 à 0,81)	0,78 (0,72 à 0,83)	16 (8 à 31)	62
		ELISA	s.o. [†]	8	1 121 IRA : 282	0,77 (0,66 à 0,85)	0,86 (0,77 à 0,92)	21 (8 à 55)	72

Sources : [Yong *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013]

Abréviations : DFGm : débit de filtration glomérulaire mesuré; ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IRA : insuffisance rénale aigüe; n.d. : non disponible; PENIA : *particle-enhanced nephelometric immunoassay*; PETIA : *particle-enhanced turbidimetric immunoassay*; RCD : rapport des cotes diagnostiques; s.o. : sans objet.

* Études ou ensembles de données.

† La méta-analyse de Yong et ses collaborateurs [Yong *et al.*, 2017] portait sur la valeur prédictive de la cystatine C pour l'IRA et n'impliquait pas de DFGm.

5.5.2 Validité analytique de la trousse Multigent Cystatine C^{MC} de Sentinel CH. SpA

La monographie de la trousse Multigent Cystatine C^{MC} de Sentinel CH. SpA ainsi que deux articles ont été retenus pour documenter la validité analytique du dosage de la cystatine C sur le système Architect c^{MC} d'Abbott [Bagnoux *et al.*, 2017; Sentinel CH. SpA, 2012; Flodin et Larsson, 2009].

Données de la trousse

Le demandeur prévoit utiliser la trousse Multigent Cystatine C^{MC} de Sentinel CH. SpA [Sentinel CH. SpA, 2012]. La plage de référence de la concentration sérique de cystatine C se situe entre 0,31 mg/l et 0,99 mg/l (population saine) et la plage de mesure analytique de l'essai est comprise entre 0,05 mg/l et la concentration la plus élevée de l'étalon de calibration. La limite de détection du test (0,05 mg/l) a été établie à partir de 20 répliques de solutions salines normales et correspond à la valeur zéro moyenne $\pm$ 3 écarts-types.

Des études d'interférence ont été validées sur la base d'un critère de $\pm$ 10 % ou $\pm$ 0,11 mg/l de déviation (en fonction de la valeur la plus élevée) de la valeur cible. Le test n'est pas affecté par :

- la bilirubine conjuguée à une concentration de 66 mg/dl (1 128,6 μ mol/l);
- la bilirubine non conjuguée à une concentration de 60 mg/dl (1 026 μ mol/l);
- l'hémoglobine à une concentration de 1 000 mg/dl;
- l'IntraLipid^{MC} (émulsion lipidique) à une concentration de 1 000 mg/dl;
- le facteur rhumatoïde à une concentration de 500 unités internationales/ml.

Le coefficient de variation (CV) total est inférieur à 5 % pour les concentrations inférieures ou égales à 1 mg/l et il est inférieur à 4 % pour les concentrations supérieures à 1 mg/l (tableau 16).

Les résultats du dosage Multigent Cystatine C^{MC} sur un analyseur Architect c^{MC} ont été comparés aux résultats d'un dosage disponible commercialement, utilisant la méthode par néphélométrie. Le coefficient de corrélation entre la méthode par turbidimétrie et la méthode par néphélométrie était de 0,998.

Tableau 16 Répétabilité et reproductibilité de la trousse Multigent Cystatine C^{MC}

RÉFÉRENCE mg/l	INTRA-ESSAI (n = 40)		INTER-ESSAI (n = 40)		TOTAL (n = 40)	
	É.T.	CV, %	É.T.	CV, %	É.T.	CV, %
0,58	0,010	1,7	0	0	0,012	2,1
0,84	0,007	0,8	0,007	0,9	0,005	0,4
1,12	0,006	0,5	0,005	0,4	0,022	1,9

Source : [Sentinel CH. SpA, 2012]

Abréviations : CV : coefficient de variation; É.T. : écart-type.

Les coefficients de variation intra-essais et inter-essais sont inférieurs à 1,25 %

La publication de Flodin et Larsson [2009] avait comme objectif d'évaluer le réactif de Sentinel CH. SpA sur le système Architect c^{MC} d'Abbott. Le CV intra-essais (10 mesures répétées) était de 0,75 % pour un échantillon de 0,84 mg/l et de 0,57 % pour un échantillon de 3,08 mg/l. Les CV inter-essais (2 échantillons mesurés 5 fois à 5 jours différents) étaient de 1,09 % pour un échantillon de 0,85 mg/l et de 1,03 % pour un échantillon de 3,06 mg/l. Le coefficient de régression linéaire de l'essai lorsqu'un échantillon de patient était dilué avec une quantité incrémentale de NaCl 0,9 % était de 0,999 9. La déviation maximale entre la concentration estimée et celle mesurée était de 4,3 % et les autres échantillons démontraient une déviation inférieure à 1,5 %. Les auteurs ont conclu que le réactif de Sentinel CH. SpA était une alternative intéressante aux essais de mesures de la cystatine C disponibles sur le marché.

Le test de Sentinel CH. SpA démontre les meilleurs résultats pour la précision intralaboratoire et les moins bons pour l'exactitude

L'objectif de Bargnoux et ses collaborateurs [2017] était d'évaluer la performance analytique des tests disponibles pour mesurer la concentration sérique de la cystatine C. Sept laboratoires cliniques ont été inclus dans l'analyse. Les quatre échantillons analysés consistaient en des groupes de sérum résiduel provenant d'au moins 15 patients non médicamenteux et qui n'étaient pas lipémiques, ictériques ou hémolysés. La cystatine C a été mesurée en utilisant huit tests automatisés (dont celui proposé par le demandeur) et une procédure de référence (spectrométrie de masse à dilution isotopique). Chaque test automatisé a été évalué selon les instructions du fabricant, par deux laboratoires de façon indépendante. Selon les critères de performance de Westgard QC⁸⁴, le biais maximal d'un dosage de cystatine C devait être inférieur à 5,22 % alors que l'imprécision devait être inférieure à 3,75 %.

L'imprécision totale n'a pas dépassé la limite maximale de 3,75 % admise pour 3 des 4 groupes de sérum lorsque le réactif de Sentinel CH. SpA était mesuré sur le système Architect c^{MC} d'Abbott. L'imprécision de la répétabilité intralaboratoire était inférieure à 1,25 % pour toutes les concentrations. Cependant, l'imprécision sur la reproductibilité interlaboratoire était deux fois plus élevée que celle sur la reproductibilité intralaboratoire (tableau 17). De plus, le pourcentage de biais (exactitude) de l'essai était plus élevé que le critère admis (limite maximale de 5,22 %) pour toutes les concentrations (biais de 16,3 % à 20,1 %). Selon les auteurs, le manque d'exactitude de l'essai serait lié à d'importants problèmes au niveau du protocole d'assignation des données provenant des échantillons de référence lors de la calibration.

⁸⁴ Westgard QC, CLIA & Quality, <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm#1>, (1er novembre 2017).

Notons qu'en comparaison aux autres tests analysés, le test de Sentinel CH. SpA utilisé sur le système Architect c^{MC} d'Abbott a démontré les meilleurs résultats pour la précision intralaboratoire et les moins bons résultats pour l'exactitude. Les auteurs ont conclu que même si certains manufacturiers avaient amélioré leur protocole depuis la disponibilité du matériel de référence standard (ERM-DA471/IFCC), la plupart d'entre eux n'ont pas atteint les critères d'acceptabilité pour la mesure de la cystatine C. À leur avis, ceci s'expliquerait par une mauvaise mise en place de la traçabilité au matériel de référence standard dans certains cas et par des protocoles de dilution du matériel de référence sous-optimaux (le ERM-DA471/IFCC a une concentration de 5,48 mg/l, ce qui est plus élevé que les concentrations observées en pratique [Delanaye *et al.*, 2014]).

Tableau 17 Exactitude et imprécision de la mesure de la cystatine C à l'aide du réactif de Sentinel CH. SpA sur le système Architect c^{MC} d'Abbott

ÉCHANTILLON TESTÉ (CONC. CYSC)	CONC. CYSC MESURÉE MOYENNE, mg/l	EXACTITU DE % DE BIAIS	IMPRÉCISION, %		
			INTRALABORATOIRE		INTERLABORATOIRE
			RÉPÉTABILITÉ	REPRODUCTIBILITÉ	REPRODUCTIBILITÉ
1 (0,957 ± 0,036 mg/l)	1,15	20,1	1,1	1,2	4,0
2 (1 118 ± 0,041 mg/l)	1,34	19,7	1,0	1,3	2,9
3 (1,45 ± 0,027 mg/l)	1,70	17,0	0,7	0,8	2,8
4 (1 962 ± 0,056 mg/l)	2,28	16,3	0,5	1,2	3,1

Source : [Bargnoux *et al.*, 2017]

Abréviations : conc. : concentration; cysc : cystatine C.

5.5.3 Performance des formules qui seraient utilisées par le demandeur pour estimer le DFG à partir des mesures de cystatine C

Cette section inclut les articles présentant le développement et la validation des formules d'estimation du DFG qui seraient utilisées par le demandeur [Inker *et al.*, 2012; Schwartz *et al.*, 2012] ainsi qu'un résumé des conclusions de différents articles ayant comparé la performance de plusieurs formules pour estimer le DFG. Les équations des formules proposées par le demandeur sont présentées à l'annexe A (zones ombragées).

Formules CKD-EPI_{cysc} et CKD-EPI_{créat-cysc} pour la population adulte

Inker et ses collaborateurs [2012] ont développé et validé les formules CKD-EPI_{cysc} et CKD-EPI_{créat-cysc} sur une cohorte de 5 352 sujets dont le DFGm moyen était de 68 ± 39 ml/min/1,73 m² (5 ml/min/1,73 m² à 198 ml/min/1,73 m²). Les formules ont ensuite été validées sur une cohorte de 1 119 sujets, dont le DFGm moyen était de 70 ± 41 ml/min/1,73 m² et qui étaient plus âgés, présentaient des indices de masse corporelle plus bas, avaient une plus grande prévalence de diabète et présentaient moins de patients de race noire.

La performance analytique des formules CKD-EPI_{créat} et CKD-EPI_{cysc} étaient similaires (tableau 18). Toutefois, bien que l'exactitude de la formule CKD-EPI_{créat-cysc} était similaire aux formules basées sur un seul biomarqueur, sa précision était meilleure. Les auteurs ont souligné que leurs données suggéraient que la cystatine C ne devait pas remplacer la créatinine dans la pratique générale. Toutefois, ils ont ajouté que la combinaison de la créatinine et de la cystatine C permet une meilleure estimation du DFG qui peut être utile dans des conditions spécifiques (ex. confirmation d'un diagnostic d'IRC basé sur le DFG_{créat}).

Tableau 18 Validité analytique des formules CKD-EPI sur la cohorte de 1 119 sujets

DFGe ml/min/1,73 m ²	MARQUEUR	EXACTITUDE DIFF. MÉDIANE (DFGm – DFGe) ml/min/1,73 m ² (IC95 %)	IMPRÉCISION % (IC95 %)	
			1-P ₃₀	1-P ₂₀
Général	Créatinine	3,7 [*] (2,8 à 4,6)	12,8 [†] (10,9 à 14,7)	32,9 [†] (30,1 à 35,7)
	Cystatine	3,4 [‡] (2,3 à 4,4)	14,1 [†] (12,2 à 16,2)	33,0 [†] (30,3 à 35,7)
	Créatinine Cystatine	3,9 (3,2 à 4,5)	8,5 (7,0 à 10,2)	22,8 (20,4 à 25,2)
	Moyenne [†]	3,5 (2,8 à 4,1)	8,2 (6,7 à 9,9)	23,7 (21,3 à 26,1)
< 60	Créatinine	1,8 (1,1 à 2,5)	16,6 (13,6 à 19,7)	37,2 (33,1 à 41,2)
	Cystatine	0,4 (-0,5 à 1,4)	21,4 (18,2 à 24,9)	42,1 (38,2 à 46,1)
	Créatinine Cystatine	1,3 (0,5 à 1,8)	13,3 (10,7 à 16,1)	28,6 (25,1 à 32,4)
	Moyenne [†]	0,4 (-0,3 à 0,8)	12,1 (9,5 à 14,8)	29,1 (25,7 à 32,8)
60 à 89	Créatinine	6,6 (3,5 à 9,2)	10,2 (6,4 à 14,2)	31,1 (25,1 à 37,4)
	Cystatine	6,0 (4,6 à 8,5)	12,7 (8,5 à 17,4)	29,3 (23,6 à 35,4)
	Créatinine Cystatine	6,9 (5,0 à 8,9)	5,3 (2,7 à 8,2)	17,8 (13,3 à 22,9)
	Moyenne [†]	6,5 (4,6 à 8,4)	6,4 (3,6 à 9,7)	17,6 (13,2 à 22,4)
≥ 90	Créatinine	11,1 (8,0 à 12,5)	7,8 (5,1 à 11,0)	26,5 (21,7 à 31,4)
	Cystatine	8,5 (6,5 à 11,2)	2,2 (0,6 à 3,9)	19,4 (15,4 à 23,7)
	Créatinine Cystatine	10,6 (9,5 à 12,7)	2,3 (0,9 à 4,2)	16,2 (12,4 à 20,5)
	Moyenne [†]	11,9 (9,9 à 13,9)	2,9 (1,3 à 4,9)	18,8 (14,6 à 23,2)

Source : [Inker *et al.*, 2012]

Abréviations : DFG : débit de filtration glomérulaire; DFGe : DFG estimé; DFGm : DFG mesuré; diff : différence; EI_{QDIFF} : écart interquartile de la différence; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; 1-P₂₀ : pourcentage des DFGe qui différeraient du DFGm par plus de 20 %; 1-P₃₀ : pourcentage des DFGe qui différeraient du DFGm par plus de 30 %.

* p = 0,07 comparativement à CKD-EPI_{créat-cystc}.

† p < 0,001 comparativement à CKD-EPI_{créat-cystc}.

‡ p = 0,05 comparativement à CKD-EPI_{créat-cystc}.

Formules CKiD_{cysc} et nCKiD_{créat-cysc} pour la population pédiatrique

Un des objectifs de Schwartz et ses collaborateurs [2012] était de développer de nouvelles formules pour estimer le DFG chez les enfants. L'étude a porté sur les sujets de la cohorte *Chronic Kidney Disease in Children* (CKiD). Les données de 643 sujets-visites ont été utilisées pour développer les formules et celles de 322 ont servi à la validation. Le DFG a été mesuré avec l'iohexol.

La formule basée sur la cystatine C seule avait une performance similaire à celle basée sur la créatinine (tableau 19). Bien que la formule combinant les deux marqueurs était meilleure que les formules en utilisant un seul, c'est la formule qui tenait compte de l'azote uréique sanguin, du genre et de la taille qui a performé le mieux (formule nCKiD_{créat-cysc}); la corrélation était de 0,92 avec le DFGm, 91 % des mesures étaient à ± 30 % du DFGm et 45 % des mesures étaient à ± 10 % du DFGm.

Les auteurs ont conclu que la formule nCKiD_{créat-cysc} est précise, exacte et a un biais minimal chez la cohorte CKiD. Ils ont toutefois souligné que son utilité doit être évaluée dans les autres populations pédiatriques. Ils ont ajouté que l'utilisation des formules basées sur un seul biomarqueur est une alternative raisonnable lorsqu'il y a une inquiétude relative à la taille et à la concentration de créatinine ou de cystatine C. Finalement, ils ont mentionné que la formule basée sur la créatinine permet une estimation rapide et précise du DFG chez la majorité des enfants.

Tableau 19 Validité analytique des formules CKiD pour un débit de filtration glomérulaire mesuré à l'iohexol de $44,4 \pm 17,2$ ml/min/1,73 m²

MARQUEUR	DFGe MOYEN $\pm$ É.T. (n = 322) ml/min/1,73 m ²	EXACTITUDE DIFF. MOYENNE (DFGe-DFGm) ml/min/1,73 m ²	LIMITE DE L'ACCORD À 95 % [*]	CORRÉLATION	PRÉCISION %	
					P ₃₀	P ₁₀
Créatinine (CKiD _{créat})	43,4 $\pm$ 13,5	-1,0	-19,2 à 17,1	0,84	80,4	36,0
Cystatine C (CKiD _{cysc})	44,7 $\pm$ 15,2	0,3	-17,5 à 18,1	0,85	82,6	37,6
AUS	43,0 $\pm$ 11,5	-1,4	-25,3 à 22,5	0,71	65,5	27,3
Créatinine Cystatine C	44,1 $\pm$ 14,6	-0,3	-15,4 à 14,7	0,90	88,8	38,2
Créatinine AUS	43,4 $\pm$ 13,7	-1,0	-17,5 à 15,5	0,87	83,9	35,1
Cystatine C AUS	44,6 $\pm$ 15,3	0,1	-16,7 à 17,0	0,87	82,3	35,4
Créatinine Cystatine C AUS	44,1 $\pm$ 14,7	-0,4	-14,9 à 14,2	0,90	89,1	41,9
Créatinine Cystatine C AUS (nCKiD _{créat-cysc})	44,2 $\pm$ 14,9	-0,2	-13,4 à 13,0	0,92	91,0	45,0

Source : [Schwartz *et al.*, 2012]

Abréviations : AUS : azote uréique sanguin; créat : créatinine; cysc : cystatine C; CKiD : *Chronic Kidney Disease in Children*; nCKiD : nouvelle formule basée sur la cohorte CKiD; P₁₀ : DFGe qui ne diffère pas de DFGm par plus de 10 %; P₃₀ : DFGe qui ne diffère pas de DFGm par plus de 30 %; DFG : débit de filtration glomérulaire; DFGe : DFG estimé; DFGm : DFG mesuré; É.T. : écart-type.

^{*} Limite de l'accord à 95 % = biais (exactitude) $\pm$ 1,96 écart-type de (DFGe-DFGm).

Performance des formules choisies suite à leur validation

Il existe plusieurs formules pour estimer le DFG et plusieurs articles traitant de la performance analytique des formules dans diverses populations ont été identifiés lors de la recherche documentaire. Les résultats de ces articles ne seront pas présentés en détail, mais les conclusions générales sont les suivantes :

- la performance des formules dépend des caractéristiques des patients (ex. donneurs de rein sains et greffés rénaux) [Deng *et al.*, 2015; Meeusen *et al.*, 2015; Nehus *et al.*, 2013];
- la performance analytique des formules basées sur la créatinine et la cystatine C est meilleure que celle des formules basées sur l'un ou l'autre des biomarqueurs [Haddadin *et al.*, 2017; Deng *et al.*, 2015; Meeusen *et al.*, 2015; Lopes *et al.*, 2013];
- les formules CKiD sont parmi celles qui ont la meilleure performance analytique et qui sont les plus utilisées dans la population pédiatrique [Deng *et al.*, 2015; Nehus *et al.*, 2013];
- les formules CKD-EPI sont parmi celles qui ont la meilleure performance analytique et qui sont les plus utilisées dans la population adulte [Haddadin *et al.*, 2017; Lopes *et al.*, 2013].

5.6 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a fourni un rapport détaillé de validation de la trousse Multigent Cystatine C^{MC} dans son laboratoire.

La précision a été calculée en mesurant les mêmes échantillons de référence pendant plusieurs jours. Le CV intra-essai était inférieur à 1 % aux deux concentrations testées et les CV inter-essais étaient tous inférieurs à 5 % (tableau 20). Des valeurs similaires ont aussi été obtenues lors d'une analyse de la précision à long terme.

La linéarité de l'analyse a été évaluée en utilisant des regroupements de sérums de patients ayant des valeurs élevées et basses de cystatine C. Des dilutions ont permis d'obtenir neuf points à des concentrations réparties sur l'ensemble de la plage analytique. L'analyse était linéaire sur la gamme de mesure effectuée (0,38 mg/l à 8,01 mg/l) (figure 4).

La limite des blancs a été évaluée en effectuant 20 mesures d'un échantillon de saline. La valeur la plus élevée observée était de 0,0 mg/l (absorbance maximale = -0,000 1). Le signal moyen observé était de -0,000 19 et la limite des blancs calculée était de 0,00 mg/l.

La limite de détection a été évaluée en diluant le sérum de quatre patients à une concentration de 0,05 mg/l (limite de détection spécifiée par le fabricant). Cinq mesures ont été faites par échantillon et aucune des 20 mesures n'était égale à 0,00 mg/l. Comme 100 % des résultats étaient au-dessus de la limite des blancs, le demandeur a conclu que la limite de détection de 0,05 mg/l était confirmée.

Tableau 20 Reproductibilité de la trousse Multigent Cystatine C^{MC} chez le laboratoire demandeur

REPRODUCTIBILITÉ	RÉFÉRENCE		n	CONC. MOYENNE mg/l	É.T.	CV %
	CIE	CONC. CIBLE mg/l				
Intra-essai	Abbott	0,71 à 0,97	10	0,90	± 0,007	0,75
		3,40 à 4,60	10	3 987	± 0,022	0,55
Inter-essai	Abbott	0,71 à 0,97	18	0,91	± 0,03	3,14
		3,40 à 4,60	18	4,11	± 0,22	3,76
	Bio-Rad	0,34 à 0,51	4	0,44	± 0,02	4,28
		0,62 à 0,93	4	0,77	± 0,02	2,67
Inter-essai à long terme	Bio-Rad Lot : 66 330 (15 juil. 2016)	0,39 à 0,55	26	0,49	n.d.	4,79
		0,72 à 0,86	26	0,80	n.d.	2,16
	Bio-Rad Lot : 66 340 (6 juin 2017)	0,40 à 0,56	19	0,50	n.d.	4,28
		0,74 à 0,94	19	0,86	n.d.	2,51
	Bio-Rad Lot : 66 360 (12 juin 2017 et 21 sept. 2017)	0,38 à 0,46	18	0,43	n.d.	3,96
		0,66 à 0,78	18	0,73	n.d.	2,21

Source : Données fournies par Anne-Sophie Bélanger, biochimiste clinique, CHU Sainte-Justine (29 septembre 2017).

Abréviations : Conc. : concentration; CV : coefficient de variation; É.T. : écart-type; juil. : juillet; sept. : septembre.

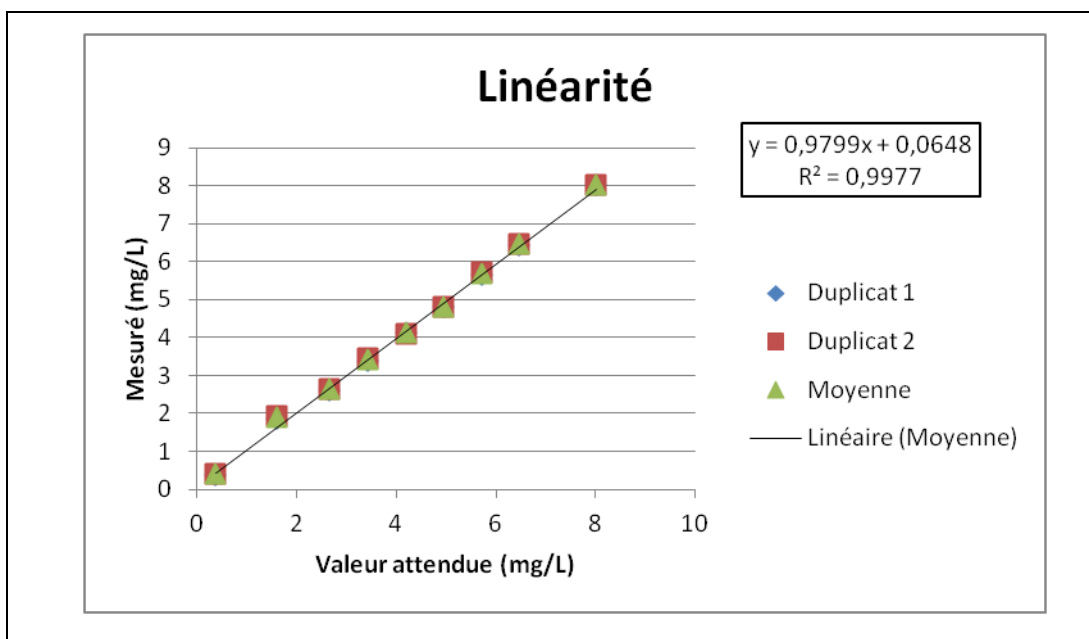


Figure 4 Linéarité de la trousse Multigent Cystatine C^{MC} chez le laboratoire demandeur

Source : Données fournies par Anne-Sophie Bélanger, biochimiste clinique, CHU Sainte-Justine (29 septembre 2017).

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la mesure quantitative de la cystatine C par immunoturbidimétrie. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du CHU Sainte-Justine. 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 21. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse serait utilisée comme marqueur complémentaire à la créatinine (code 30132) pour l'évaluation de la fonction rénale et l'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG)
- L'analyse proposée a fait l'objet de deux envois hors Québec au cours de l'année 2015-2016 pour un coût de 30 \$. Le rapatriement des éventuels envois hors Québec est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Ainsi, il est anticipé que 500, 3 000 et 7 000 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement. Au terme de l'horizon temporel, cela correspond à 10 % des cas où une analyse de la créatinine sérique serait réalisée.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 3,78.
- Les coûts liés à une modification de la prise en charge des patients à la suite de cette analyse n'ont pas été considérés par manque de données probantes.

Tableau 21 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la mesure quantitative de la cystatine C par immunoturbidimétrie

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses cystatine C	500	3 000	7 000	10 500
Impact net	1 890 \$	11 340 \$	26 460 \$	39 690 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			19 845 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			45 360 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative de la cystatine C par immunoturbidimétrie pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 39 690 \$ pour le total des trois premières années. Considérant les limites liées à l'utilité de cette analyse, il est difficile d'extrapoler ces estimations à l'ensemble de la population québécoise.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Théoriquement, l'utilisation de la cystatine C pour estimer le DFG permettrait de reclassifier une proportion significative de patients ayant une IRC de stade G3 vers une IRC moins grave. Cette reclassification réduirait le nombre de visites médicales, l'inquiétude des patients et la charge globale de l'IRC dans la population. L'addition du test pourrait engendrer des coûts supplémentaires, mais il y aurait des bénéfices suite à la diminution du nombre d'IRC diagnostiqué et, ce faisant, des coûts de prise en charge [NICE, 2014]. Notons toutefois que Shardlow et ses collaborateurs [2017] (section 5.1.3) sont en désaccord avec le NICE puisqu'ils ont démontré que plus de 60 % des patients ayant une IRC de stade G3a inclus dans leur étude ont été reclassés à une IRC de stade plus grave suite à l'utilisation de la cystatine C (environ 5 % ont été reclassés à une IRC de stade G1/G2). La reclassification vers un stade plus sévère influencerait les coûts de prise en charge d'une part par les examens de suivi et les visites plus fréquentes et d'autre part en permettant d'éviter certaines investigations liées à des conditions pouvant être expliquées par un stade d'IRC grave (ex. anémie)⁸⁵.

Au sujet de l'implantation du test, le NICE a aussi souligné que les équipes de soins primaires pourraient ne pas être au courant des situations pour lesquelles le dosage de la cystatine C est indiqué. Ils ont mentionné que l'utilisation de la cystatine C comme test additionnel aurait un impact financier et que selon la demande estimée, des décisions devraient être prises pour déterminer si tous les laboratoires ou seulement des laboratoires désignés devraient offrir le test [NICE, 2014].

Selon les experts consultés, si le dosage de la cystatine C est inclus au *Répertoire*, il devrait être restreint à des populations très spécifiques tant chez les enfants que chez les adultes afin d'éviter une escalade de coûts non nécessaires compte tenu, entre autres, de la faible valeur ajoutée du test par rapport au dosage de la créatinine sérique pour la majorité des patients⁸⁶. De plus, une limite du nombre de tests par période de temps devrait aussi être considérée chez les populations ciblées (ex. une à deux fois par année chez les adultes ayant une IRC)⁸⁷.

⁸⁵ D^r Simon Desmeules, interniste et néphrologue, CHUQ – Hôtel-Dieu de Québec (16 novembre 2017).

⁸⁶ D^r Simon Desmeules, interniste et néphrologue, CHUQ – Hôtel-Dieu de Québec (13 septembre 2017); D^{re} Louise Roy, interniste et néphrologue, CHUM - Hôpital Saint-Luc (28 septembre 2017); D^r Jean-Philippe Lafrance, néphrologue, CIUSSS Est Mtl - Hôpital Maisonneuve-Rosemont (27 septembre 2017); Dre Aïcha Merouani, néphrologue, CHU Sainte-Justine (25 octobre 2017).

⁸⁷ D^r Simon Desmeules, interniste et néphrologue, CHUQ – Hôtel-Dieu de Québec (13 septembre et 16 novembre 2017); D^r Jean-Philippe Lafrance, néphrologue, CIUSSS Est Mtl - Hôpital Maisonneuve-Rosemont (7 novembre 2017).

Selon les experts consultés, seuls certains spécialistes tels les néphrologues et les oncologues devraient avoir accès au test compte tenu des populations spécifiques ciblées et des particularités reliées à l'interprétation des résultats⁸⁸.

Selon les experts consultés, le $DFG_{\text{créat-cysc}}$ pourrait éventuellement remplacer la mesure isotopique du DFG chez la population pédiatrique. Cependant, une étude comparant la formule d'estimation basée sur la cystatine C et la créatinine à la mesure isotopique est nécessaire pour valider la formule. Si les résultats sont probants, il pourrait y avoir un impact clinique majeur en éliminant l'injection de radio-isotopes et en diminuant le temps passé à l'hôpital. De plus, le remplacement de la mesure du DFG isotopique par l'estimation du DFG à l'aide d'une simple prise de sang amènera une économie des coûts de santé⁸⁹.

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

8.1 Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO)

Insuffisance rénale aigüe

Le groupe de travail du KDIGO a publié des lignes directrices sur la définition, la prévention et le traitement de l'IRA en 2012 [KDIGO, 2012]. La définition de l'IRA est basée sur la créatinine sérique et l'oligurie. Le document ne fait aucune mention de la cystatine C dans les recommandations.

Insuffisance rénale chronique

Le groupe de travail du KDIGO a publié des lignes directrices concernant l'évaluation et la prise en charge de l'IRC en 2013 [KDIGO, 2013].

Le KDIGO recommande d'utiliser la créatinine sérique pour estimer le DFG lors de l'évaluation initiale du patient et suggère l'utilisation d'un test additionnel (tel que celui de la cystatine C ou de la clairance) pour confirmer le DFG dans les circonstances spécifiques où la créatinine sérique est moins précise. Il est aussi suggéré de mesurer la cystatine C chez les adultes ayant un $DFG_{\text{créat}}$ entre 45 ml/min/1,73 m² et 59 ml/min/1,73 m² qui n'ont pas de marqueurs de dommage rénal si la confirmation de l'IRC est requise.

Concernant la méthode d'analyse, il est recommandé que le laboratoire clinique utilise un essai calibré à l'aide de l'étalon de référence international et que l'estimation du DFG chez les adultes soit calculée en utilisant les formules $CKD-EPI_{\text{cysc}}$ et $CKD-EPI_{\text{créat-cysc}}$ (ou des formules alternatives si leur précision est meilleure). De plus, il est recommandé que les DFG_{cysc} et $DFG_{\text{créat-cysc}}$ inférieurs à 60 ml/min/1,73 m² soient rapportés comme « diminués ».

⁸⁸ D^r Jean-Philippe Lafrance, néphrologue, CIUSSS Est Mtl - Hôpital Maisonneuve-Rosemont (7 novembre 2017); Dre Aïcha Merouani, néphrologue, CHU Sainte-Justine (25 octobre 2017).

⁸⁹ D^{re} Aïcha Merouani, néphrologue, CHU Sainte-Justine (8 novembre 2017).

Concernant la prise en charge thérapeutique des patients ayant une IRC, le KDIGO recommande l'utilisation de la cystatine C ou la mesure directe du DFG lorsque la précision de la dose est requise (due à une fenêtre thérapeutique étroite ou à la toxicité) et/ou lorsque l'estimation du DFG n'est pas fiable (due à une faible masse musculaire par exemple).

8.2 Société Canadienne de Néphrologie (SCN)

Insuffisance rénale aigüe

La SCN a publié ses commentaires relativement aux lignes directrices du KDIGO à propos de l'IRA [James *et al.*, 2013]. Malgré certaines réserves sur la définition de l'IRA, le document ne fait aucune mention de la cystatine C dans les commentaires.

Insuffisance rénale chronique

La SCN a publié ses commentaires relativement aux lignes directrices du KDIGO à propos de l'évaluation et de la prise en charge de l'IRC [Akbari *et al.*, 2015]. Les commentaires étaient basés sur un consensus d'experts et les désaccords ont été documentés.

La SCN est en accord avec l'utilisation de la créatinine sérique pour l'estimation du DFG lors de l'évaluation initiale des patients, mais contrairement au KDIGO, elle ne recommande pas l'utilisation généralisée de la cystatine C dans la pratique clinique comme test de confirmation. Le groupe d'experts reconnaît que la majorité des études comparant la précision de la cystatine C et de la créatinine à la mesure du DFG à l'aide d'un étalon de référence ont conclu que l'estimation du DFG basée sur les mesures de cystatine C avait une précision similaire ou meilleure que l'estimation basée sur la créatinine. Toutefois, ils ont noté que certaines études avaient des faiblesses méthodologiques telles qu'un manque de standardisation de l'essai, une taille d'échantillon inadéquate, l'utilisation d'un étalon de référence inapproprié pour le DFG, des valeurs seuils de DFG variées pour distinguer un patient normal d'un patient ayant une insuffisance rénale et un manque de standardisation du DFG avec la surface corporelle. Ils ont souligné qu'il manquait des données de validation sur la performance de la cystatine C pour estimer le DFG chez les nourrissons, les enfants, les adolescents et les jeunes adultes ayant une IRC. Finalement, ils ont souligné que l'enjeu principal était le manque de preuves relativement à l'utilité (est-ce que l'issue clinique est améliorée par une stratification plus précise des risques ?) et au coût-efficacité.

Conséquemment avec son désaccord à mesurer la cystatine C dans la pratique clinique de routine, la SCN est en désaccord avec les lignes directrices du KDIGO relatives à l'utilisation de la cystatine C pour estimer le DFG chez les adultes ayant un $\text{DFG}_{\text{créat}}$ entre 45 ml/min/1,73 m² et 59 ml/min/1,73 m² qui n'ont pas de marqueurs de dommage rénal lorsque la confirmation de l'IRC est requise. Ils ne sont pas non plus en accord avec les recommandations relatives à la méthode de mesure, aux formules à utiliser et à la façon de rapporter les résultats. Ils sont toutefois d'accord avec la suggestion du KDIGO de mesurer le DFG en utilisant un

marqueur de filtration exogène lorsqu'une évaluation plus précise du DFG peut avoir un impact sur les décisions de traitement.

Concernant la prise en charge thérapeutique des patients ayant une IRC, la SCN est en accord avec la recommandation du KDIGO pour l'utilisation de la cystatine C ou la mesure directe du DFG lorsque la précision de la dose est requise et/ou lorsque l'estimation du DFG n'est pas fiable. Toutefois, ils font une mise en garde concernant les formules et suggèrent plutôt de calculer une clairance absolue chez les patients dont la surface corporelle est clairement plus grande ou plus petite que la moyenne ($1,73 \text{ m}^2$).

8.3 National Kidney Foundation – Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-KDOQI)

Insuffisance rénale aigüe

Le NKF-KDOQI a publié ses commentaires relativement aux lignes directrices du KDIGO à propos de l'IRA [Palevsky *et al.*, 2013]. Malgré certaines réserves sur la définition de l'IRA, le document ne fait aucune mention de la cystatine C dans les commentaires.

Insuffisance rénale chronique

Le NKF-KDOQI a publié ses commentaires relativement aux lignes directrices du KDIGO à propos de l'évaluation et de la prise en charge de l'IRC [Inker *et al.*, 2014]. Les commentaires étaient basés sur un consensus d'experts et les désaccords ont été documentés.

Le NKF-KDOQI est en accord avec l'utilisation de la cystatine C seule ou en combinaison pour estimer le DFG afin de confirmer le DFG basé sur la créatinine et améliorer la stratification des risques. Cependant, les experts du NKF-KDOQI jugent qu'il reste encore beaucoup de questions concernant la façon d'incorporer le DFGe basé sur la cystatine C dans la pratique. Toutefois, ils sont d'accord que le $\text{DFGe}_{\text{cysc}}$ et le $\text{DFGe}_{\text{créat-cysc}}$ doivent être rapportés lorsque les mesures sont disponibles. Ils sont aussi d'accord avec la nécessité d'utiliser un essai calibré à l'aide de l'étalon de référence international pour le dosage.

Concernant la prise en charge thérapeutique des patients ayant une IRC, le panel d'experts du NKF-KDOQI était préoccupé par la recommandation d'utiliser le DFGe basé sur la cystatine C pour le dosage des médicaments compte tenu de l'incertitude concernant les effets directs de ces derniers sur la génération de cystatine C.

8.4 National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

Insuffisance rénale aigüe

Le NICE a émis des lignes directrices pour la prévention, la détection et la prise en charge de l'IRA en 2013 [NICE, 2013]. Il y est recommandé d'utiliser la mesure de la créatinine sérique pour surveiller l'apparition de l'IRA. Le document ne fait aucune mention de la cystatine C.

Insuffisance rénale chronique

Le NICE a publié des lignes directrices pour l'évaluation et la prise en charge de l'IRC en 2014 [NICE, 2014]. Parmi les recommandations prioritaires, il est mentionné de considérer l'utilisation de DFG_{cysc} au moment du diagnostic initial pour confirmer ou pour exclure une IRC chez les patients ayant un $\text{DFG}_{\text{créat}}$ entre $45 \text{ ml/min/1,73m}^2$ et $59 \text{ ml/min/1,73m}^2$ persistant pendant au moins 90 jours et n'ayant pas de protéinurie (ratio albumine : créatine inférieure à 3 mg/mmol) ou d'autres marqueurs de maladie rénale.

Il est recommandé d'utiliser la formule $\text{CKD-EPI}_{\text{cysc}}$ pour estimer le DFG. De plus, les laboratoires cliniques doivent utiliser des essais calibrés avec l'étalon de référence international pour l'analyse et il est suggéré d'interpréter le DFG_{cysc} avec précautions chez les patients ayant une déficience de la thyroïde non contrôlée.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Cystatine C – mesure quantitative par immunoturbidimétrie

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

- ✓ Technologie plus dispendieuse que son comparateur (dosage de la créatinine).
- ✓ Cette analyse est utilisée dans un contexte de recherche.
- ✓ Les données qui appuient l'introduction de cette analyse sont jugées insuffisantes.
- ✓ Aucun consensus concernant l'utilisation de cette analyse n'a été repéré.
- ✓ Les risques de mauvaise utilisation sont élevés.
- ✓ Toutefois, pour ne pas pénaliser les patients qui auraient besoin de cette analyse dans certaines situations très précises, le comité recommande au MSSS de maintenir l'accès à ce test via les analyses hors Québec.

ANNEXE A : Formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire proposées par le demandeur et mentionnées dans l'avis

BIOMARQUEUR	FORMULE (RÉFÉRENCE)	PARTICULARITÉ	ÉGALITÉ
Cystatine C	CKD-EPI _{cysc} (Inker, 2012)	Scys ≤ 0,8	DFGe = 133 x (Scys/0,8) ^{-0,499} x 0,996 ^{age} [x 0,932 si femme]
		Scys > 0,8	DFGe = 133 x (Scys/0,8) ^{-1,328} x 0,996 ^{age} [x 0,932 si femme]
	CKID _{cysc} (Schwartz, 2012)	Enfant	DFGe = 70,69 x Scys ^{-0,931}
	Filler (2003)	Enfant	log (DFGe) = 1 962 + [1 123 x log (1/Scys)]
	Zappitelli (2006)	Enfant	DFGe = 75,94 x Scys ^{-1,170} [x 1,2 si transplantation rénale]
	Hoek (2003)	Aucune	DFGe = -4,32 + (80,35/Scys)
	Flodin (2007)	Aucune	DFGe = 79 901 x Scys ^{-14 389}
	Larsson (2004)	Calibrateur : DakoCytomation	DFGe = 99,43 x Scys ^{-15 837}
		Calibrateur : Dade Behring	DFGe = 77,24 x Scys ^{-12 623}
Créatinine et cystatine C	CKD-EPI _{créat-cysc} (Inker, 2012)	Femme; Scys ≤ 0,7; Scr ≤ 0,8	DFGe = 130 x (Scr/0,7) ^{-0,248} x (Scys/0,8) ^{-0,375} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Femme; Scys ≤ 0,7; Scr > 0,8	DFGe = 130 x (Scr/0,7) ^{-0,248} x (Scys/0,8) ^{-0,711} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Femme; Scys > 0,7; Scr ≤ 0,8	DFGe = 130 x (Scr/0,7) ^{-0,601} x (Scys/0,8) ^{-0,375} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Femme; Scys > 0,7; Scr > 0,8	DFGe = 130 x (Scr/0,7) ^{-0,601} x (Scys/0,8) ^{-0,711} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Homme; Scys ≤ 0,9; Scr ≤ 0,8	DFGe = 135 x (Scr/0,9) ^{-0,207} x (Scys/0,8) ^{-0,375} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Homme; Scys ≤ 0,9; Scr > 0,8	DFGe = 135 x (Scr/0,9) ^{-0,207} x (Scys/0,8) ^{-0,711} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Homme; Scys > 0,9; Scr ≤ 0,8	DFGe = 135 x (Scr/0,9) ^{-0,601} x (Scys/0,8) ^{-0,375} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
		Homme; Scys > 0,9; Scr > 0,8	DFGe = 135 x (Scr/0,9) ^{-0,601} x (Scys/0,8) ^{-0,711} x 0,995 ^{age} [x 1,08 si race Noire]
	nCKID _{créat-cysc} (Schwartz, 2012)	Enfant	DFGe = 39,8 x (grandeur/Scr) ^{0,456} x (1,8/Scys) ^{0,418} x (30/AUS) ^{0,079} x (grandeur/1,4) ^{0,179} [x 1,076 si garçon]
	CKiD _{créat-cysc} (Schwartz, 2009)	Enfant	DFGe = 39,1 x (grandeur/Scr) ^{0,516} x (1,8/Scys) ^{0,294} x (30/AUS) ^{0,169} x (grandeur/1,4) ^{0,188} [x 1,099 si garçon]

BIOMARQUEUR	FORMULE* (RÉFÉRENCE)	PARTICULARITÉ	ÉGALITÉ
Créatinine	CKD-EPI _{créat} (Levey, 2009)	Femme; Scr ≤ 0,7)	DFGe = 144 x (Scr/0,7) ^{-0,329} x 0,993 ^{âge} [x 1,159 si race Noire]
		Femme; Scr > 0,7	DFGe = 144 x (Scr/0,7) ^{-1,209} x 0,993 ^{âge} [x 1,159 si race Noire]
		Homme; Scr ≤ 0,9	DFGe = 141 x (Scr/0,9) ^{-0,411} x 0,993 ^{âge} [x 1,159 si race Noire]
		Homme; Scr > 0,9	DFGe = 141 x (Scr/0,9) ^{-1,209} x 0,993 ^{âge} [x 1,159 si race Noire]
	CKiD _{créat} (Schwartz, 2009)	Enfant	DFGe = 36,5 x (grandeur/Scr)
	Cockcroft-Gault (1976)	Femme	Cl _{créat} = 1,04 x poids x (140 – âge)/Scr
		Homme	Cl _{créat} = 1,23 x poids x (140 – âge)/Scr
	MDRD _{créat} (Levey, 2006)	Aucune	DFGe = 175 x Scr ^{-1,154} x âge ^{-0,203} [x 0,742 si femme]

Sources : [Inker *et al.*, 2012; Schwartz *et al.*, 2012; Levey *et al.*, 2009; Schwartz *et al.*, 2009; Flodin *et al.*, 2007; Levey *et al.*, 2006; Zappitelli *et al.*, 2006; Grubb *et al.*, 2005; Sjostrom *et al.*, 2005; Larsson *et al.*, 2004; Filler et Lepage, 2003; Hoek *et al.*, 2003; Cockcroft et Gault, 1976]

Abréviations : AUS : azote uréique sanguin; CKD-EPI : *chronic kidney disease-Epidemiology Collaboration*; CKiD : *Chronic Kidney Disease in Children*; Cl : clairance; créat : créatinine; cysc : cystatine C; DFGe : débit de filtration glomérulaire estimé; Scr : créatinine sérique; Scys : cystatine C sérique.

* Les formules des zones ombragées sont celles proposées par le demandeur.

ANNEXE B : Descriptif des méta-analyses retenues

MÉTA-ANALYSE (COTE AMSTAR-R [*])	BUT ET CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	RECHERCHE DOCUMENTAIRE, ÉTUDES ET SUJETS INCLUS	CONCLUSIONS
Dharnidharka, 2002 (17/44)	But Comparer la précision de la cystatine C et de la créatinine pour l'estimation du DFG et la comparer à la mesure du DFG faite à l'aide d'un étalon de référence. Critères d'inclusion 1) Utilisation des niveaux sériques ou plasmatiques de la cystatine C comme marqueur de la fonction rénale ou pour estimer le DFG et comparaison avec une méthode de référence pour la mesure du DFG. 2) Articles, revues présentant des données originales non publiées et résumés de congrès. 3) Études portant sur les adultes, les enfants, les volontaires sains et des patients ayant une variété d'insuffisances rénales causées par différentes conditions. Critères d'exclusion 1) Aucun mentionné.	Recherche documentaire Jusqu'à décembre 2001 Études incluses 54 ensembles de données Sujets inclus 4 492 sujets Adultes, enfants, volontaires sains et patients ayant une variété d'insuffisances rénales causées par différentes conditions	1) La mesure du niveau de cystatine C sérique est meilleure que la mesure de la créatinine sérique pour estimer la valeur du DFG mesuré.
Ho, 2015 (37/44)	But Évaluer la performance diagnostique de biomarqueurs urinaires, plasmatiques et sériques précoces de l'IRA associée à la chirurgie cardiaque. Critères d'inclusion 1) Études prospectives. 2) Définition claire de l'IRA (RIFLE : risque [R] ou plus grand; AKIN : stade 1 ou plus grand; KDIGO : critère de la créatinine). 3) Minimum de 10 IRA observées. 4) Rapporter le moment de l'évaluation du biomarqueur (pendant l'opération ou moins de 24 h après). Critères d'exclusion 1) Aucun mentionné.	Recherche documentaire Embase, CINAHL, Cochrane library, Scopus, PubMed, janvier 1990 à janvier 2015. Études incluses 28 études Études prospectives observationnelles sauf un ECR. Sujets inclus 5 122 sujets dont 956 ont développé une IRA. Adultes ayant subi une chirurgie cardiaque.	1) Chez les adultes, les biomarqueurs urinaires, plasmatiques et sériques identifient l'IRA de façon modérée tout au plus lorsqu'ils sont mesurés dans les premiers 24 h suivants la chirurgie.

MÉTA-ANALYSE (COTE AMSTAR-R*)	BUT ET CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	RECHERCHE DOCUMENTAIRE, ÉTUDES ET SUJETS INCLUS	CONCLUSIONS
Nakhjavan-Shahraki, 2017 (34/44)	But Fournir des évidences pour la valeur pronostique de la cystatine C pour l'IRA chez les enfants. Critères d'inclusion 1) Études de cohorte et transversales prospectives et rétrospectives. 2) Évaluation de la valeur pronostique de la cystatine C pour détecter l'IRA chez les enfants de moins de 18 ans. Critères d'exclusion 1) Mesure de la cystatine C suite au diagnostic final d'IRA. 2) Études portant sur des animaux. 3) Études utilisant un test de référence incompatible avec les critères standards.	Recherche documentaire Medline, Embase, ISI Web of Science, Cochrane library, Scopus, jusqu'à la fin de 2015. Études incluses 24 articles Études de cohortes Sujets inclus 1 948 enfants (1 302 non-IRA et 645 IRA) Cadres cliniques variés	1) La cystatine C a une valeur pronostique acceptable pour la prédiction de l'IRA chez les enfants. 2) Compte-tenu que le niveau sérique de la cystatine C augmente dans les 24 h suivant l'admission des patients ayant une IRA, ce biomarqueur peut être une alternative fiable aux mesures diagnostiques traditionnelles.
Roos, 2007 (30/44)	But Comparer la précision diagnostique de la cystatine C et de la créatinine sérique. Critères d'inclusion 1) Comparaison directe de la cystatine C et de la créatinine sérique à un étalon de référence acceptable (inuline, ⁵¹Cr-EDTA, ^{99m}Tc-DTPA, iohexol ou ¹²⁵I-iothalamate) 2) Les données devaient pouvoir être extraites dans un tableau de contingence 2 x 2. 3) Mesures de cystatine C faites par PETIA ou PENIA 4) Mesures de créatinine sérique faites par la méthode de Jaffe modifiée ou non ou la méthode enzymatique. 5) Études transversales, de cohortes et cas-contrôle. Critères d'exclusion 1) Aucun mentionné.	Recherche documentaire Medline et Embase, janvier 1984 à février 2006 Études incluses 23 publications (27 groupes de sujets) Études de cohortes Sujets inclus 2 007 sujets Sujets de tous les groupes d'âge et de tous les cadres cliniques	1) La précision diagnostique pour l'insuffisance rénale est en faveur de la cystatine C, mais les RCD se chevauchent donc ce n'est pas clair quelle mesure est la meilleure. 2) La cystatine C (valeur seuil entre 0,9 mg/l et 1,4 mg/l) a une grande habileté à diagnostiquer une insuffisance rénale chez les personnes chez qui elle est soupçonnée, alors que la créatinine sérique a une habileté modérée.

MÉTA-ANALYSE (COTE AMSTAR-R*)	BUT ET CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	RECHERCHE DOCUMENTAIRE, ÉTUDES ET SUJETS INCLUS	CONCLUSION
Wei, 2015 (32/44)	But Évaluer la précision diagnostique de la cystatine C sérique chez les patients ayant une IRC provenant de différents cadres cliniques ainsi que chez les diabétiques. Critères d'inclusion 1) Population adulte. 2) Évaluation de la précision diagnostique de la cystatine C sérique. 3) Inclusion de données statistiques telles la sensibilité, la spécificité, l'ASC-ROC et des caractéristiques de la population incluse. 4) Présence d'un essai précis pour la comparaison du DFG. 5) Utilisation du DFGm < 60 ml/min/1,73 m² ou DFGm < 50 ml/min/1,73 m² comme définition de l'IRC. Critères d'exclusion 1) Aucun mentionné.	Recherche documentaire PubMed, Cochrane clinical trial database et Current Contents, de l'origine jusqu'à juin 2014. Études incluses 19 études incluses Études de cohortes Sujets inclus 3 226 sujets adultes Cadres cliniques variés d'IRC incluant des patients diabétiques et des patients ayant subi une transplantation rénale.	1) La cystatine C sérique est un bon biomarqueur de l'insuffisance rénale chronique. 2) La performance de la cystatine C est différente dans les sous-groupes restreints par le cadre clinique, la race et la méthode d'analyse de la quantité de cystatine C.
Yang, 2016 (33/44)	But Évaluer la valeur de la cystatine C sérique pour le diagnostic de l'insuffisance rénale chez les patients diabétiques. Critères d'inclusion 1) Évaluer la valeur diagnostique de la cystatine C pour l'insuffisance rénale chez les patients diabétiques. 2) Données disponibles pour construire un tableau de contingence 2 x 2. 3) Comparaison avec DFG_{créat.} Critères d'exclusion 1) Études portant sur des sujets non diabétiques. 2) Actes de conférences, lettres, rapports de cas, revues narratives et études ne permettant pas de reconstruire le tableau de contingence 2 x 2. 3) Études portant sur des sujets ayant une infection active, une maladie immune ou un cancer.	Recherche documentaire Medline, embase, scopus, Chochrane databases, CBMD, CNKI, jusqu'à avril 2016. Études incluses 17 études cas-contrôle rétrospectifs Sujets inclus 2173 sujets Sujets diabétiques	1) La cystatine C sérique est plus précise que la créatinine pour le diagnostic de l'insuffisance rénale chez les diabétiques.

MÉTA-ANALYSE (COTE AMSTAR-R*)	BUT ET CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	RECHERCHE DOCUMENTAIRE, ÉTUDES ET SUJETS INCLUS	CONCLUSION
Yong, 2017 (33/44)	But Examiner la précision diagnostique de la cystatine C sérique pour l'IRA chez les adultes et identifier les facteurs affectant sa performance. Critères d'inclusion 1) Études de cohorte prospective. 2) Population adulte. 3) $n \geq 30$. 4) Données originales de sensibilité et de spécificité. 5) Critères diagnostiques de l'IRA. Critères d'exclusion 1) Aucun mentionné.	Recherche documentaire PubMed, Embase, Web of Science, Cochrane library, jusqu'à septembre 2016 Études incluses 30 études Études de cohorte prospectives Sujets inclus 4 247 adultes (982 IRA) Cadre clinique varié	1) La cystatine C a une bonne performance diagnostique pour prédire l'IRA indépendamment de la cause.
Yuan, 2014 (31/44)	But Comparer la valeur diagnostique de la cystatine C et de la créatinine pour estimer le DFG chez les patients ayant subi une transplantation rénale. Critères d'inclusion 1) Études transversales, études de cohortes et études de cas-contrôle. Critères d'exclusion 1) La littérature ne permettant pas d'extraire un tableau de contingence 2 x 2. 2) Revues, commentaires personnels et littérature secondaire.	Recherche documentaire PubMed, 1985 à décembre 2012; Cochrane library, jusqu'à 2012; CBLD, 1985 à janvier 2013; Google scholar et autres sites internet non spécifiés. Études incluses 10 études Études de cohortes et cas-contrôle Sujets inclus 692 cas de transplantation rénale	1) Corrélation significative entre la cystatine C, la créatinine et le DFG. 2) La cystatine C est plus sensible, mais moins spécifique que la créatinine pour évaluer le DFG. 3) La cystatine C a une forte habileté à diagnostiquer la fonction rénale suite à une transplantation rénale.

MÉTA-ANALYSE (COTE AMSTAR-R*)	BUT ET CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	RECHERCHE DOCUMENTAIRE, ÉTUDES ET SUJETS INCLUS	CONCLUSION
Zhang, 2011 (34/44)	But Étudier la précision diagnostique des niveaux de cystatine C pour l'IRA. Critères d'inclusion 1) Études portant sur la précision diagnostique des valeurs de cystatine C sériques et urinaires pour prédire l'IRA. Critères d'exclusion 1) Aucun mentionné.	Recherche documentaire PubMed, Current contents, CINAHL, Embase, jusqu'à novembre 2010. Études incluses 19 études Études prospectives sur des patients consécutifs et 3 études rétrospectives. Sujets inclus 3 336 sujets Cadres cliniques variés d'IRA incluant des patients ayant subi une chirurgie cardiaque, des patients pédiatriques et des patients gravement malades.	1) La cystatine C sérique semble être un bon biomarqueur pour prédire l'IRA alors que l'excrétion de cystatine C dans l'urine a une valeur diagnostique modérée. 2) Des ECR additionnels sont nécessaires pour évaluer la valeur préventive et thérapeutique de la cystatine C pour l'IRA.
Zhang, 2013 (30/44)	But Évaluer la valeur diagnostique de la cystatine C sérique et de la créatinine sérique pour estimer le DFG chez les patients ayant une insuffisance rénale chronique. Critères d'inclusion 1) Évaluer l'utilisation de la cystatine C et de la créatinine sérique pour estimer le DFG chez les patients ayant une IRC. 2) Fournir assez de données calculées incluant la sensibilité et la spécificité. 3) Essais contrôlés randomisés. Critères d'exclusion 1) Études ne portant pas sur des êtres humains. 2) Études transversales.	Recherche documentaire Google Scholar, PubMed, Cochrane Library et CNKI, février 1990 à octobre 2012 Études incluses 17 publications ECR Sujets inclus 2 521 sujets ayant une insuffisance rénale chronique et 1 046 sujets contrôles	1) Corrélation significative entre la cystatine C, la créatinine sérique et le DFG. 2) La cystatine C est plus sensible, mais moins spécifique que la créatinine sérique pour estimer le DFG.

Sources : [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017; Yong *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2016; Ho *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2011; Roos *et al.*, 2007; Dharnidharka *et al.*, 2002]

Abréviations : AKIN: *Acute Kidney Injury Network*; ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver operating characteristic*); CBLD : *Chinese Biomedical Literature database*; CBMD : *China Biology Medicine database*; CINAHL : *Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature*; CNKI: *China National Knowledge Infrastructure*; ⁵¹Cr-EDTA : ⁵¹Cr- acide éthylène diamine tétra acétique; créat : créatinine; cysc : cystatine C; DFG : débit de filtration glomérulaire; DFGe : DFG estimé; DFGm : DFG mesuré; ECR : essai contrôlé randomisé; IRA : insuffisance rénale aiguë; IRC : insuffisance rénale chronique; KDIGO: *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*; PENIA : *particle-enhanced nephelometric immunoassay*; PETIA : *particle –enhanced turbidimetric immunoassay*; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RIFLE: *risk, injury, failure, loss, and end-stage renal disease*; ^{99m}Tc-DTPA : ^{99m}Tc- acide diéthylène triamine penta acétique.

* AMSTAR révisé [Kung *et al.*, 2010].

ANNEXE C : Résultats des méta-analyses concernant la valeur diagnostique du DFGe_{cysc} comparativement au DFGm

POPULATION	DFGm ml/min/1,73 m ²	MÉTHO.	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDE ^a	SUJET	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
Enfants et adultes Conditions variées	n.d.	Diverse	Dharmidharka 2001	11	997	n.d.	n.d.	n.d.	0,93 (0,89 à 0,96)	n.d.	n.d.	n.d.
	60 à 90	PENIA ou PETIA	Roos, 2007	27	2 007	0,81 (0,76 à 0,85)	0,88 (0,84 à 0,91)	54,0 (30,18 à 96,64)	n.d.	n.d.	6,75 [†]	0,22 [†]
	80 à 90	PENIA ou PETIA	Zhang, 2013	17	3 567	0,803	0,821	32,54 (25,68 à 41,23)	0,93 (n.d.)	48	4,49 [†]	0,24 [†]
	60 à 79 (inuline)	PENIA ou PETIA	Roos, 2007	3	154	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d. [‡]	10,11 (4,12 à 24,81)	0,23 (0,16 à 0,34)
	80 à 90	PENIA	Zhang, 2013	13	3 139	0,882	0,712	33,4 (22,6 à 48,9)	0,94 (n.d.)	38,6	3,06 [†]	0,17 [†]
	80 à 90	PETIA	Zhang, 2013	4	428	0,845	0,832	25,8 (12,6 à 55,1)	0,91 (n.d.)	30,3	5,03 [†]	0,19 [†]
	60 à 90 (classification)	PENIA ou PETIA	Zhang, 2013	8	1 851	0,854	0,636	8,14 (5,59 à 13,21)	0,83 (n.d.)	0,04	2,35 [†]	0,23 [†]
Adultes Conditions variées	50 à 90	PENIA ou PETIA	Wei, 2015	21	3 226	0,85 (0,81 à 0,89)	0,87 (0,84 à 0,90)	40 (26 à 61)	0,92 (0,90 à 0,94)	91	6,6 (5,3 à 8,3)	0,17 (0,12 à 0,22)
	50 à 90	PENIA	Wei, 2015	13	1 840	0,85 (0,79 à 0,90)	0,87 (0,83 à 0,91)	40 (23 à 70)	0,92 (0,90 à 0,94)	89	6,6 (4,8 à 9,1)	0,17 (0,11 à 0,25)
	60 à 90	PETIA	Wei, 2015	5	1 129	0,83 (0,75 à 0,89)	0,86 (0,76 à 0,92)	31 (14 à 66)	0,91 (0,88 à 0,93)	65	6,0 (3,4 à 10,6)	0,19 (0,13 à 0,30)
Adultes occidentaux Conditions variées	50 à 90	PENIA ou PETIA	Wei, 2015	13	1 951	0,87 (0,81 à 0,91)	0,91 (0,86 à 0,94)	63 (40 à 101)	0,95 (0,93 à 0,97)	95	9,3 (6,1 à 14,0)	0,15 (0,10 à 0,21)
Adultes orientaux Conditions variées	60 à 90	PENIA ou PETIA	Wei, 2015	8	1 275	0,82 (0,75 à 0,88)	0,85 (0,80 à 0,88)	26 (13 à 52)	0,90 (0,87 à 0,93)	0	5,4 (3,9 à 7,5)	0,21 (0,14 à 0,31)
Adultes Diabète	60 à 90	PENIA ou PETIA	Wei, 2015	7	1 475	0,89 (0,81 à 0,94)	0,87 (0,83 à 0,90)	51 (22 à 122)	0,93 (0,90 à 0,95)	52	6,7 (4,9 à 9,2)	0,13 (0,07 à 0,24)
Adolescents et adultes Diabète	60 à 90	PENIA ou PETIA	Yang, 2016	17	2 173	0,88 (0,83 à 0,91)	0,87 (0,82 à 0,91)	46,57 (27,76 à 78,13)	n.d.	88,78	6,77 [†]	0,14 [†]

POPULATION	DFGm ml/min/1,73 m ²	MÉTHO.	MÉTA- ANALYSE	ÉTUDE [*]	SUJET	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFI CITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
Adultes Transplantation rénale	50 à 90	PENIA ou PETIA	Wei, 2015	4	509	0,86 (0,79 à 0,91)	0,84 (0,78 à 0,89)	31 (16 à 60)	0,86 (0,83 à 0,89)	0	5,3 (3,7 à 7,5)	0,17 (0,11 à 0,26)
	60 à 90	PENIA ou PETIA	Yuan, 2014	10	692	0,86 (0,82 à 0,90)	0,70 (0,65 à 0,75)	14,3 [†]	0,90	73,7 (Se) 90,2 (Sp)	2,87 [†]	0,2 [†]
	60 à 90	PENIA	Yuan, 2014	6	n.d.	0,87 (n.d.)	0,67 (n.d.)	23,56 (12,93 à n.d.)	n.d.	17,2	2,64 [†]	0,19 [†]
	60 à 90	PETIA	Yuan, 2014	4	n.d.	0,83 (n.d.)	0,91 (n.d.)	37,63 (11,68 à 121,26)	n.d.	0,0	9,22 [†]	0,19 [†]
	80 (DTPA)	PENIA ou PETIA	Yuan, 2014	3	123	n.d.	n.d.	51,08 [†]	n.d.	n.d. [§]	6,13 (2,38 à 15,79)	0,12 (0,07 à 0,21)

Sources : [Yang *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Roos *et al.*, 2007; Dharnidharka *et al.*, 2002]

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver operating characteristic*); cysc : cystatine C; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; métho. : méthode; n.d. : non disponible; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP rapport de vraisemblance positif; Se : sensibilité; Sp : spécificité; DFG : débit de filtration glomérulaire; DFGm : DFG mesuré.

Études ou ensembles de données.

[†] Valeur calculée par les professionnels scientifiques de l'INESSS (RCD = RVP/RVN; RVP = Se/[1-Sp]; RVN = [1-Se]/Sp).

[‡] Valeur de p pour l'hétérogénéité : 0,87 pour RVP et 0,82 pour RVN.

[§] Valeur de p pour l'hétérogénéité : 0,14 pour RVP et 0,02 pour RVN.

ANNEXE D : Résultats des méta-analyses concernant la valeur diagnostique du DFG_{créat} comparativement au DFG_m

POPULATION	DFG _m ml/min/1,73 m ²	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDE*	SUJET	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
Enfants et adultes Conditions variées	n.d.	Dharnidharka a 2001	11	997	n.d.	n.d.	n.d.	0,837 (0,80 à 0,88)	n.d.	n.d.	n.d.
	60 à 90	Roos 2007	27	2 007	0,69 (0,61 à 0,76)	0,88 (0,83 à 0,92)	16,3 (8,35 à 31,79)	n.d.	n.d.	5,75 [†]	0,35 [†]
	60 à 79 (inuline)	Roos, 2007	3	154	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d. [‡]	8,57 (3,02 à 24,36)	0,34 (0,23 à 0,48)
	80 à 90	Zhang, 2013	13	2 890	0,697	0,787	20,86 (16,32 à 26,66)	0,8435 (n.d.)	0	3,27 [†]	0,39 [†]
	60 à 90 (classification)	Zhang, 2013	8		0,696	0,883	10,13 (7,72 à 17,32)	0,836 5 (n.d.)	0,03	5,95 [†]	0,34 [†]
Adolescents et adultes Diabète	60 à 90	Yang, 2016	12	1 309	0,72 (0,66 à 0,78)	0,87 (0,77 à 0,92)	16,71 (10,02 à 27,88)	0,81 (0,78 à 0,85)	95,50	5,36 (3,19 à 8,97)	0,32 (0,27 à 0,38)
Adultes Transplantation rénale	60 à 90	Yuan, 2014	10	692	0,78 (0,73 à 0,82)	0,73 (0,68 à 0,78)	9,59 [†]	0,828 5	41 (Se) 70,4 (Sp)	2,89 [†]	0,30 [†]
	80	Yuan, 2014	3	123	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d. [§]	3,72 (1,14 à 12,17)	0,32 (0,20 à 0,50)

Sources : [Yang *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013; Roos *et al.*, 2007; Dharnidharka *et al.*, 2002]

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver operating characteristic*); créat : créatinine; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; n.d. : non disponible; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP rapport de vraisemblance positif; Se : sensibilité; Sp : spécificité; DFG : débit de filtration glomérulaire; DFG_m : DFG mesuré.

* Études ou ensembles de données.

[†] Valeur calculée par les professionnels scientifiques de l'INESSS (RCD = RVP/RVN; RVP = Se/[1-Sp]; RVN = [1-Se]/Sp).

[‡] Valeur de p pour l'hétérogénéité : 0,35 pour RVP et RVN.

[§] Valeur de p pour l'hétérogénéité : 0,02 pour RVP et 0,94 pour RVN.

ANNEXE E : Résultats des méta-analyses concernant la valeur prédictive de la cystatine C pour l'insuffisance rénale aigüe

POPULATION	CYSTATINE C		MÉTHO.	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDE [†]	PATIENT		CRITÈRE D'IRA	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
	TEMPS [*] h	CONC. mg/l				n	IRA								
Adultes Conditions variées	0 à 168	n.d.	divers	Yong, 2017	30	4 247	982	Divers	0,82 (0,75 à 0,87)	0,82 (0,78 à 0,86)	21 (12 à 35)	0,89 (0,86 à 0,91)	96	4,6 (3,6 à 5,9)	0,22 (0,16 à 0,31)
	0 à 48	0,8 à 1,57	divers	Zhang, 2011	14	1 641	267	Divers	0,82 (0,75 à 0,88)	0,82 (0,76 à 0,87)	21,5 (12,6 à 36,6)	0,86 [†] (0,85 à 0,87)	93	4,60 (3,39 à 6,25)	0,21 (0,15 à 0,31)
	0	0,8 à 1,23	divers	Zhang, 2011	4	1 087	169	Divers	0,81 (0,70 à 0,89)	0,74 (0,62 à 0,82)	11,9 (7,65 à 18,6)	0,84 (0,82 à 0,86)	n.d.	3,11 [§]	0,26 [§]
	0	n.d.	divers	Yong, 2017	12	n.d.	n.d.	Divers	0,79 (0,70 à 0,86)	0,82 (0,74 à 0,88)	17 (9 à 35)	0,88 (0,84 à 0,90)	92	4,39 [§]	0,26 [§]
	1 à 12	n.d.	divers	Yong, 2017	9	n.d.	n.d.	Divers	0,75 (0,70 à 0,80)	0,72 (0,68 à 0,76)	8 (5 à 12)	0,80 (0,76 à 0,83)	0	2,68 [§]	0,35 [§]
	24	n.d.	divers	Yong, 2017	16	n.d.	n.d.	Divers	0,82 (0,69 à 0,90)	0,83 (0,76 à 0,89)	23 (9 à 57)	0,89 (0,86 à 0,92)	95	4,82 [§]	0,22 [§]
	48	n.d.	divers	Yong, 2017	7	n.d.	n.d.	Divers	0,76 (0,60 à 0,88)	0,87 (0,76 à 0,93)	21 (5 à 58)	0,89 (0,86 à 0,92)	94	5,85 [§]	0,28 [§]
	0 à 48	n.d.	PETIA	Yong, 2017	5	546	129	Divers	0,76 (0,51 à 0,91)	0,87 (0,74 à 0,94)	21 (4 à 103)	0,90 (0,87 à 0,92)	88	5,8 (2,5 à 13,5)	0,27 (0,11 à 0,67)
	n.d.	n.d.	PENIA	Yong, 2017	14	2 043	484	Divers	0,82 (0,31 à 0,81)	0,78 (0,72 à 0,83)	16 (8 à 31)	0,86 (0,83 à 0,89)	62	3,8 (2,8 à 5,0)	0,24 (0,15 à 0,37)
	0 à 48	n.d.	ELISA	Yong, 2017	8	1 121	282	Divers	0,77 (0,66 à 0,85)	0,86 (0,77 à 0,92)	21 (8 à 55)	0,88 (0,85 à 0,90)	72	5,6 (3,0 à 10,3)	0,27 (0,17 à 0,42)
Adultes Conditions variées	0 à 48	n.d.	divers	Yong, 2017	6	866	206	KDIGO	0,78 (0,49 à 0,93)	0,90 (0,81 à 0,95)	31 (6 à 174)	0,92 (0,90 à 0,94)	77	7,7 (2,4 à 17,7)	0,25 (0,09 à 0,70)
Adultes Conditions variées	0 à 336	n.d.	divers	Yong, 2017	8	812	238	AKIN ≥ 1	0,81 (0,74 à 0,86)	0,81 (0,74 à 0,87)	18 (9 à 35)	0,86 (0,83 à 0,89)	0	4,3 (3,0 à 6,4)	0,24 (0,17 à 0,34)
Adultes Conditions variées	0 à 48	n.d.	divers	Yong, 2017	11	1 241	284	RIFLE ≥ R	0,75 (0,67 à 0,82)	0,76 (0,67 à 0,82)	10 (5 à 18)	0,82 (0,72 à 0,85)	64	2,1 (2,2 à 4,4)	0,32 (0,23 à 0,46)
POPULATION	CYSTATINE C		MÉTHO.	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDE [†]	PATIENT		CRITÈRE D'IRA	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	I ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
	TEMPS [*] h	CONC. mg/l				n	IRA								
Adultes et enfants Conditions variées	0 à 48	0,8 à 1,57	divers	Zhang 2011	17	201 5	378	Divers	0,84 (0,75 à 0,90)	0,82 (0,74 à 0,88)	23,5 (14,2 à 38,9)	0,86 [†] (0,85 à 0,97)	94	4,69 (3,22 à 6,82)	0,20 (0,13 à 0,30)
	0 à 24	0,8 à 1,31	divers	Zhang 2011	12	157 5	333	Divers	0,84 (0,74 à 0,91)	0,78 (0,67 à 0,87)	18,7 (11,2 à 31,2)	0,84 (0,82 à 0,86)	92	3,87 (2,60 à 5,75)	0,21 (0,13 à 0,32)
Enfants Conditions	0 à 240	n.d.	n.d.	Nakhajava n	24	2 29 6	543	Divers	n.d.	n.d.	n.d.	0,83 (0,80 à 0,86)	80,0	n.d.	n.d.

variées				2017											
	0 à 24	0,4 à 1	n.d.	Nakhajava n 2017	n.d.	1 11 4	314	Divers	0,85 (0,78 à 0,90)	0,61 (0,48 à 0,73)	9,08 ^s	0,83 (0,80 à 0,86)	60,3 à 94,6 [¶]	2,18 (1,66 à 2,88)	0,24 (0,18 à 0,34)
		1,01 à 2,5	n.d.	Nakhajava n 2017	n.d.	1 18 2	229	Divers	0,65 (0,49 à 0,77)	0,88 (0,79 à 0,94)	13,9 ^s	0,85 (0,82 à 0,88)	64,5 à 87,8 ^{*,*}	5,56 (3,62 à 8,53)	0,40 (0,28 à 0,56)
Adultes et enfants Chirurgie cardiaque	0 à 24	1,1 à 1,31	divers	Zhang 2011	5	503	87	Divers	0,82 (0,58 à 0,94)	0,79 (0,50 à 0,93)	17,6 (7,1 à 34,1)	0,78 [†] (0,77 à 0,79)	91	3,93 (1,59 à 9,74)	0,22 (0,10 à 0,50)
Adultes Chirurgie cardiaque	0 à 24	n.d.	n.d.	Ho 2015	5	594	176	Divers	n.d.	n.d.	n.d.	0,69 (0,63 à 0,74)	0	n.d.	n.d.
			divers	Yong 2017	8	586	189	Divers	0,81 (0,71 à 0,89)	0,82 (0,72 à 0,89)	20 (7 à 57)	0,89 (0,86 à 0,91)	0	4,5 (2,7 à 7,8)	0,23 (0,13 à 0,39)
	0	n.d.	n.d.	Ho 2015	4	484	114	Divers	n.d.	n.d.	n.d.	0,65 (0,51 à 0,79)	n.d.	n.d.	n.d.
		n.d.	n.d.	Ho 2015	3	303	110	RIFLE	n.d.	n.d.	n.d.	0,73 (0,67 à 0,80)	n.d.	n.d.	n.d.
	1 à 6	n.d.	divers	Yong 2017	5	n.d.	n.d.	Divers	0,73 (0,65 à 0,80)	0,68 (0,62 à 0,74)	6 (4 à 9)	0,77 (0,73 à 0,80)	100	2,28 ^s	0,40 ^s
	12 à 24	n.d.	divers	Yong 2017	6	n.d.	n.d.	Divers	0,85 (0,72 à 0,92)	0,80 (0,68 à 0,89)	23 (7 à 77)	0,90 (0,87 à 0,92)	7	4,25 ^s	0,19 ^s

POPULATION	CYSTATINE C		MÉTHO.	MÉTA-ANALYSE	ÉTUDE [†]	PATIENT		CRITÈRE D'IRA	SENSIBILITÉ (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC ROC (IC95 %)	<i>I</i> ² (%)	RVP (IC95 %)	RVN (IC95 %)
	TEMPS [*] h	CONC. mg/l				n	IRA								
Adultes CIN	n.d.	n.d.	divers	Yon, 2017	7	1 253	173	Divers	0,90 (0,61 à 0,98)	0,87 (0,82 à 0,90)	61 (10 à 388)	0,90 (0,88 à 0,93)	95	6,7 (4,7 à 9,7)	0,11 (0,02 à 0,57)

Sources: [Nakhjavan-Shahraki *et al.*, 2017; Yong *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011]

Abréviations: AKIN : *acute kidney injury network*; ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (de l'anglais, *receiver opertating characteristic*); CIN : néphropathie induite par les produits de contraste iodés (de l'anglais, *contrast-induced nephropathy*); conc. : concentration; IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IRA : insuffisance rénale aigüe; KDIGO : *kidney disease improving global outcome*; métho. méthode; n.d. : non disponible; RCD : rapport des cotes diagnostiques; RIFLE : *risk, injury failure, loss, end-stage kidney disease*; RVN : rapport de vraisemblance négatif; RVP rapport de vraisemblance positif; Se : sensibilité; Sp : spécificité.

^{*} Moment auquel la mesure de cystatine C a été prise suite à la chirurgie ou à l'admission.

[†] Études ou ensembles de données.

[‡] Exclusions d'un article dont l'ASC-ROC était très élevé et avait un IC95 % très étroit et qui influençait d'environ 0,1 % la valeur.

[§] Valeur calculée par les professionnels scientifiques de l'INESSS (RCD = RVP/RVN; RVP = Se/[1-Sp]; RVN = [1-Se]/Sp).

^{||} Une seule des 24 études contenait des données prises entre 0 h et 240

[¶] Les valeurs de *I*² sont les suivantes : 77,6 % (Se), 94,6 % (Sp), 92,8 % (RVP) et 60,3 % (RVN).

^{**} Les valeurs de *I*² sont les suivantes : 87,1 % (Se), 87,8 % (Sp), 64,5 % (RVP) et 85,5 % (RVN).

RÉFÉRENCES

- Akbari A, Clase CM, Acott P, Battistella M, Bello A, Feltmate P, et al. Canadian Society of Nephrology commentary on the KDIGO clinical practice guideline for CKD evaluation and management. *Am J Kidney Dis* 2015;65(2):177-205.
- Arora P, Vasa P, Brenner D, Iglar K, McFarlane P, Morrison H, Badawi A. Prevalence estimates of chronic kidney disease in Canada: results of a nationally representative survey. *CMAJ* 2013;185(9):E417-23.
- Bargnoux AS, Kuster N, Delatour V, Delanaye P, Gonzalez-Antuna A, Cristol JP, et al. Reference Method and Reference Material Are Necessary Tools to Reveal the Variability of Cystatin C Assays. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(2):117-8.
- Bargnoux AS, Pieroni L, Cristol JP, Kuster N, Delanaye P, Carlier MC, et al. Multicenter Evaluation of Cystatin C Measurement after Assay Standardization. *Clin Chem* 2017;63(4):833-41.
- Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004;8(4):R204-12.
- Bongiovanni C, Magrini L, Salerno G, Gori CS, Cardelli P, Hur M, et al. Serum Cystatin C for the Diagnosis of Acute Kidney Injury in Patients Admitted in the Emergency Department. *Dis Markers* 2015;2015:416059.
- Brou NA, Jacqz-Aigrain E, Zhao W. Cystatin C as a potential biomarker for dosing of renally excreted drugs. *Br J Clin Pharmacol* 2015;80(1):20-7.
- Cabarkapa V. CYSTATIN C - MORE THAN THE MARKER OF THE GLOMERULAR FILTRATION RATE. *Med Pregl* 2015;68(5-6):173-9.
- Cockcroft DW et Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16(1):31-41.
- Delanaye P, Cavalier E, Cristol JP, Delanghe JR. Calibration and precision of serum creatinine and plasma cystatin C measurement: impact on the estimation of glomerular filtration rate. *J Nephrol* 2014;27(5):467-75.
- Delanaye P, Cavalier E, Moranne O, Lutteri L, Krzesinski JM, Bruyere O. Creatinine- or cystatin C-based equations to estimate glomerular filtration in the general population: impact on the epidemiology of chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 2013;14:57.
- Deng F, Finer G, Haymond S, Brooks E, Langman CB. Applicability of estimating glomerular filtration rate equations in pediatric patients: comparison with a measured glomerular filtration rate by iohexol clearance. *Transl Res* 2015;165(3):437-45.
- Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002;40(2):221-6.
- Dodgshun AJ, Quinlan C, Sullivan MJ. Cystatin C Based Equation Accurately Estimates Glomerular Filtration Rate in Children With Solid and Central

- Nervous System Tumours: Enough Evidence to Change Practice? *Pediatr Blood Cancer* 2016;63(9):1535-8.
- Eckardt KU, Coresh J, Devuyst O, Johnson RJ, Kottgen A, Levey AS, Levin A. Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden. *Lancet* 2013;382(9887):158-69.
- Eckfeldt JH, Karger AB, Miller WG, Rynders GP, Inker LA. Performance in Measurement of Serum Cystatin C by Laboratories Participating in the College of American Pathologists 2014 CYS Survey. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139(7):888-93.
- Filler G et Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 2003;18(10):981-5.
- Flodin M, Jonsson AS, Hansson LO, Danielsson LA, Larsson A. Evaluation of Gentian cystatin C reagent on Abbott Ci8200 and calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min/1.73 m² from the cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest* 2007;67(5):560-7.
- Flodin M et Larsson A. Performance evaluation of a particle-enhanced turbidimetric cystatin C assay on the Abbott ci8200 analyzer. *Clin Biochem* 2009;42(9):873-6.
- Fraze E, Rule AD, Lieske JC, Kashani KB, Barreto JN, Virk A, et al. Cystatin C-Guided Vancomycin Dosing in Critically Ill Patients: A Quality Improvement Project. *Am J Kidney Dis* 2017;69(5):658-66.
- Grubb A, Blirup-Jensen S, Lindstrom V, Schmidt C, Althaus H, Zegers I. First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(11):1619-21.
- Grubb A, Nyman U, Bjork J, Lindstrom V, Rippe B, Sterner G, Christensson A. Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 2005;51(8):1420-31.
- Haddadin Z, Lee V, Conlin C, Zhang L, Carlston K, Morrell G, et al. Comparison of Performance of Improved Serum Estimators of Glomerular Filtration Rate (GFR) to 99mTc-DTPA GFR Methods in Patients with Hepatic Cirrhosis. *J Nucl Med Technol* 2017;45(1):42-9.
- Ho J, Tangri N, Komenda P, Kaushal A, Sood M, Brar R, et al. Urinary, Plasma, and Serum Biomarkers' Utility for Predicting Acute Kidney Injury Associated With Cardiac Surgery in Adults: A Meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2015;66(6):993-1005.
- Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(10):2024-31.
- Inker LA, Astor BC, Fox CH, Isakova T, Lash JP, Peralta CA, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. *Am J Kidney Dis* 2014;63(5):713-35.

- Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 2012;367(1):20-9.
- James M, Bouchard J, Ho J, Klarenbach S, LaFrance JP, Rigatto C, et al. Canadian Society of Nephrology commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Am J Kidney Dis* 2013;61(5):673-85.
- KDIGO. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney international supplement Kidney Disease Improving Global Outcome*; 2013. Disponible à : http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/CKD/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf (consulté le 19-07-2017).
- KDIGO. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney international supplement Kidney Disease Improving Global Outcome*; 2012.
- Koza Y. Acute kidney injury: current concepts and new insights. *J Inj Violence Res* 2016;8(1):58-62.
- Kung J, Chiappelli F, Cajulis OO, Avezova R, Kossan G, Chew L, Maida CA. From Systematic Reviews to Clinical Recommendations for Evidence-Based Health Care: Validation of Revised Assessment of Multiple Systematic Reviews (R-AMSTAR) for Grading of Clinical Relevance. *Open Dent J* 2010;4:84-91.
- Lagos-Arevalo P, Palijan A, Vertullo L, Devarajan P, Bennett MR, Sabbisetti V, et al. Cystatin C in acute kidney injury diagnosis: early biomarker or alternative to serum creatinine? *Pediatr Nephrol* 2015;30(4):665-76.
- Larsson A, Malm J, Grubb A, Hansson LO. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64(1):25-30.
- Legris M-È et Desforges K. Ajustement posologique: pour un choix éclairé de la formule d'estimation de la fonction rénale. *Pharmactuel* 2017;50(1):34-44.
- Levey AS, Becker C, Inker LA. Glomerular filtration rate and albuminuria for detection and staging of acute and chronic kidney disease in adults: a systematic review. *JAMA* 2015;313(8):837-46.
- Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006;145(4):247-54.
- Levey AS et Inker LA. Assessment of Glomerular Filtration Rate in Health and Disease: A State of the Art Review. *Clin Pharmacol Ther* 2017;102(3):405-19.
- Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150(9):604-12.
- Lopes MB, Araujo LQ, Passos MT, Nishida SK, Kirsztajn GM, Cendoroglo MS, Sesso RC. Estimation of glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C in octogenarians and nonagenarians. *BMC Nephrol* 2013;14:265.

- Meeusen JW, Rule AD, Voskoboev N, Baumann NA, Lieske JC. Performance of cystatin C- and creatinine-based estimated glomerular filtration rate equations depends on patient characteristics. *Clin Chem* 2015;61(10):1265-72.
- Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11(2):R31.
- Nakhjavan-Shahraki B, Yousefifard M, Ataei N, Baikpour M, Ataei F, Bazargani B, et al. Accuracy of cystatin C in prediction of acute kidney injury in children; serum or urine levels: which one works better? A systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol* 2017;18(1):120.
- Nehus EJ, Laskin BL, Kathman TI, Bissler JJ. Performance of cystatin C-based equations in a pediatric cohort at high risk of kidney injury. *Pediatr Nephrol* 2013;28(3):453-61.
- NICE. Chronic kidney disease in adults: assessment and management. Clinical guideline. 2014/10/24 éd National Institute for Health and Care Excellence; 2014. July 2014, update January 2015. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/cg182> (consulté le 6 juillet 2017).
- NICE. Acute kidney injury: prevention, detection and management. Clinical guideline. UK : National Institute for Health and Care Excellence; 2013. August 28, 2013. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/cg169>.
- Palevsky PM, Liu KD, Brophy PD, Chawla LS, Parikh CR, Thakar CV, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Am J Kidney Dis* 2013;61(5):649-72.
- Roos JF, Doust J, Tett SE, Kirkpatrick CM. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children--a meta-analysis. *Clin Biochem* 2007;40(5-6):383-91.
- Schwartz GJ, Munoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, Furth SL. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(3):629-37.
- Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, Moxey-Mims M, Dharnidharka VR, Warady BA, et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. *Kidney Int* 2012;82(4):445-53.
- Sentinel CH. SpA. Monographie de produit: Cystatin C, Ref 1P93-30. Wiesbaden, Germany : Abbott; 2012. Octobre 2012.
- Shardlow A, McIntyre NJ, Fraser SDS, Roderick P, Raftery J, Fluck RJ, et al. The clinical utility and cost impact of cystatin C measurement in the diagnosis and management of chronic kidney disease: A primary care cohort study. *PLoS Med* 2017;14(10):e1002400.
- Sjostrom P, Tidman M, Jones I. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 2005;65(2):111-24.
- Wei L, Ye X, Pei X, Wu J, Zhao W. Diagnostic accuracy of serum cystatin C in chronic kidney disease: a meta-analysis. *Clin Nephrol* 2015;84(2):86-94.

- Yang SK, Liu J, Zhang XM, Hu C, Zhang W, Sun L, Zhang H. Diagnostic Accuracy of Serum Cystatin C for the Evaluation of Renal Dysfunction in Diabetic Patients: A Meta-Analysis. *Ther Apher Dial* 2016;20(6):579-87.
- Yong Z, Pei X, Zhu B, Yuan H, Zhao W. Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials. *Sci Rep* 2017;7:41012.
- Yuan P, Binjie H, Min L, Lipei F, Yanli N, Junwen Z, Xianghua S. A meta-analysis on diagnostic value of serum cystatin C and creatinine for the evaluation of glomerular filtration function in renal transplant patients. *African Health Sciences* 2014;14 (4):1025-35.
- Zappitelli M, Greenberg JH, Coca SG, Krawczeski CD, Li S, Thiessen-Philbrook HR, et al. Association of definition of acute kidney injury by cystatin C rise with biomarkers and clinical outcomes in children undergoing cardiac surgery. *JAMA Pediatr* 2015;169(6):583-91.
- Zappitelli M, Parvex P, Joseph L, Paradis G, Grey V, Lau S, Bell L. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. *Am J Kidney Dis* 2006;48(2):221-30.
- Zhang M, Cao X, Cai G, Wu D, Wei R, Yuan X, et al. Clinical evaluation of serum cystatin C and creatinine in patients with chronic kidney disease: a meta-analysis. *J Int Med Res* 2013;41(4):944-55.
- Zhang Z, Lu B, Sheng X, Jin N. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2011;58(3):356-65.

DÉTECTION DE LA MUTATION RESPONSABLE DE LA MUCOLIPIDOSE DE TYPE II AU SAGUENAY-LAC-ST-JEAN GNPTAB : c.3503_3504delTC (L1168fsX5) (RÉFÉRENCE - 2017.02.006)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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, l'experte consultée est :

- **D^{re} Rachel Laframboise**, médecin généticienne, Centre hospitalier de l'Université Laval.

2 RÉSUMÉ

Description de la maladie

La mucopolipidose de type II (ML II) est une maladie récessive grave dont la fréquence est estimée à une naissance sur 6 084 dans la population originaire du Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ) dû à un effet fondateur. L'espérance de vie des patients atteints de la ML II est de moins de 10 ans. Une mutation unique, *GNPTAB* : c.3503_3504delTC est responsable de l'inactivation de la N-acétylglucosaminyl -1-phosphotransférase engendrant le phénotype de la ML II (retard de croissance, anomalies osseuses et squelettiques, dysmorphie faciale, peau indurée, retard de développement et cardiomégalie).

Situation actuelle

L'analyse des oligosaccharides urinaires, permettant d'orienter le diagnostic vers la ML II, est présentement disponible dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, toutefois la détection de la mutation responsable de cette maladie est réalisée hors Québec.

Valeur diagnostique

Six études réalisées hors Québec ont démontré, par séquençage, la présence de la mutation c.3503_3504delTC à l'état homozygote ou hétérozygote composé chez des patients présentant un phénotype typique (ML II) ou atténué (ML III). De plus, une étude québécoise a été réalisée chez les parents de 16 patients décédés de ML II. Celle-ci a permis de mettre en évidence la mutation c.3503_3504delTC chez 100 % des 27 parents testés et a permis de déterminer que la forte prévalence de la ML II dans cette population était due uniquement à cette mutation.

Validité analytique

La recherche bibliographique n'a pas permis de repérer d'études visant à évaluer la performance analytique du séquençage de type Sanger pour identifier la mutation *GNPTAB* : c.3504_d3504delTC. Le demandeur a fourni des traces de séquence provenant de 2 échantillons négatifs et de 2 échantillons hétérozygotes pour la mutation d'intérêt.

Impacts budgétaires

L'ajout de l'analyse permettant la recherche de la mutation fondatrice pour la ML II par séquençage Sanger pourrait générer une réduction de coûts d'environ 90 000 \$ pour le total des trois premières années, essentiellement en raison du rapatriement des 354 séquençages réalisés hors Québec.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

Le comité de génétique de la Société des obstétriciens et gynécologues du Canada et le comité de pratiques cliniques du Collège canadien de généticiens médicaux ont émis des lignes directrices visant à mettre à jour les recommandations de dépistage préconception et postconception pour les couples à risque d'être porteurs de

mutations responsables de maladies autosomiques dominantes, autosomiques récessives et liées au chromosome X. On y recommande que les couples originaires du SLSJ fassent l'objet d'une investigation de leurs antécédents familiaux sur 3 générations étant donné un effet fondateur régional pour la ML II et soient référés en conseil génétique.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectifs de l'analyse

La recherche de la mutation fondatrice de la mucopolidose de type II a pour objectifs :

- De confirmer un diagnostic de ML II;
- De déterminer le statut de porteur pour la mutation *GNPTAB* : c.3503_3504delTC;
- Le dépistage prénatal de la ML II.

3.2 Description de la méthode

La recherche de mutation sera réalisée à l'aide de la méthode de séquençage de Sanger [Sanger *et al.*, 1977]. Le principe de cette méthode de séquençage, dite par terminaison de chaîne, consiste à amorcer la polymérisation de l'ADN à l'aide d'une amorce complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer, préalablement amplifié par PCR (amplification en chaîne par polymérase). L'élongation de l'amorce est réalisée par une ADN polymérase en présence des quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) ainsi que d'une faible concentration de didésoxyribonucléotides marqués d'un fluorochrome unique (ddNTP*) : ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP. L'incorporation aléatoire d'un ddNTP* en cours d'élongation provoque l'arrêt de la polymérisation du nouveau brin. Il en résulte un mélange de fragments d'ADN de tailles variables qui se terminent tous par un nucléotide marqué. Les fragments sont ensuite séparés en fonction de leur taille par électrophorèse capillaire, puis détectés au moyen d'un laser qui excite le fluorochrome du ddNTP terminal. La séquence des fluorochromes, analysée par ordinateur, correspond à celle des bases de l'ADN original. L'analyse des séquences est réalisée avec le programme Mutation Surveyor puis vérifiée manuellement par deux professionnels.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Pour un patient à l'interne, l'échantillon sera prélevé au centre de prélèvement du CHU Sainte-Justine, l'échantillon sera acheminé au laboratoire clinique de biologie moléculaire du CHU Sainte-Justine où l'ADN sera extrait et la réaction de PCR-séquençage sera effectuée.

Pour un patient de l'externe, l'échantillon sera prélevé dans le centre de prélèvement local, il sera ensuite acheminé rapidement au laboratoire clinique de

biologie moléculaire du CHU Sainte-Justine où l'ADN sera extrait et la réaction de PCR-séquençage sera effectuée.

Le laboratoire accepte également les échantillons d'ADN extraits par un laboratoire clinique de biologie moléculaire extérieur pour ce type d'analyse.

Le temps de réponse pour cette analyse est de moins d'un mois pour les demandes régulières et de moins de 10 jours pour des demandes urgentes.

3.4 Société ou concepteur

Il s'agit d'une analyse « maison »

3.5 Homologation

Analyse maison non homologuée par Santé Canada ou la FDA.

3.6 Valeur pondérée : 199,90

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les individus ciblés ont :

- des antécédents familiaux de ML II et 1), sont originaires du Saguenay-Lac-Saint-Jean ou 2), ont un cas index positif pour la mutation *GNPTAB* : c.3503_3504delTC;
- des symptômes de ML II.

4.2 Description de la maladie visée

La mutation génétique *GNPTAB* : c.3503_3504delTC engendre un changement de cadre de lecture et l'insertion prématurée d'un codon stop après 5 acides aminés (L1168fsX5). Cette mutation engendre une sous-unité β de l'enzyme N-acétylglucosaminyl -1- phosphotransférase non fonctionnelle [Kudo *et al.*, 2006]. Ceci cause un défaut de phosphorylation et de localisation des enzymes lysosomales et entraîne une accumulation des substrats lysosomaux [Paik *et al.*, 2005]. Les porteurs de 2 allèles dysfonctionnels à l'état homozygote ou hétérozygote composé sont atteints de la ML II. Par opposition à la ML II, la ML III survient lorsqu'un patient est porteur de 2 allèles mutés du gène *GNPTAB* dont au moins un confère une certaine activité enzymatique [Kudo *et al.*, 2006].

Les symptômes de la ML II sont présents dès la première année de vie et souvent observables avant l'âge de 2 mois [Tappino *et al.*, 2009]. La ML II est caractérisée par un retard de croissance, des anomalies osseuses et squelettiques, une dysmorphie faciale, une peau indurée, un retard de développement et une cardiomégalie⁹⁰.

⁹⁰ Informations tirées du site internet Orphanet : Mucopolipidose de type II le 3 novembre 2017 à l'adresse www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=fr&Expert=576.

Il n'existe pas de traitement spécifique pour la ML II. Bien que certains patients survivent jusqu'à l'adolescence, la majorité décède des suites de troubles cardiaques ou de maladies respiratoires avant d'atteindre l'âge de 10 ans [Wraith, 2013].

La ML II a une prévalence de moins de 1 naissance sur 1 000 000⁹¹. À cause d'un effet fondateur dans la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean, la prévalence de cette maladie récessive est d'une naissance sur 6 184 et la fréquence de porteur de la mutation c.3503_3504delTC est estimée à un individu sur 39 [Plante *et al.*, 2008; De Braekeleer, 1991].

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Selon le demandeur, 10 à 20 analyses par an sont à prévoir pour la population desservie par le CHU Sainte-Justine. Le demandeur considère que le volume des envois hors Québec actuel peut être pris en charge par son laboratoire (tableau 1).

4.4 Situation actuelle

L'analyse génétique est actuellement réalisée hors Québec.

En absence de l'analyse, le diagnostic préliminaire de la ML II repose sur l'ensemble des signes et symptômes cliniques ainsi que sur l'analyse du profil des oligosaccharides urinaires⁹² (code d'analyse 50580 du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* - ci-après nommé *Répertoire*), mais les individus porteurs de la mutation ne peuvent être identifiés.

4.5 Données médico-administratives

En 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016, l'analyse a été réalisée à l'extérieur du Québec à 19, 54 et 354 reprises (Tableau 1).

Tableau 1 Envois hors Québec pour la détection des mutations du gène *GNPTAB*

ANNÉES	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT MOYEN* (\$)	COÛT TOTAL (\$)
2013-2014	7	694	4 858
2014-2015	55	655	36 043
2015-2016	354	288	101 933

* La comptabilisation des analyses réalisées hors du Québec ne permet pas de déterminer si l'analyse moléculaire se limite à la mutation proposée, à une région du gène ou au gène en entier.

⁹¹ Informations tirées du site internet Orphanet : Mucopolysaccharidose de type II le 3 novembre 2017 à l'adresse www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=fr&Expert=576.

⁹² Information obtenue lors d'un entretien téléphonique le 27 juillet 2017 avec D^r Jean-François Soucy, médecin généticien ayant formulé la demande d'ajout d'analyse au *Répertoire*.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Le demandeur propose de réaliser cette analyse au Québec à meilleur coût et avec un temps de réponse plus court, ce qui serait avantageux dans la mesure où cette analyse est souvent demandée dans un contexte prénatal.

4.7 Assurance qualité

Suite au séquençage bidirectionnel, le professionnel s'assurera de la qualité des deux séquences obtenues et de l'absence de polymorphismes connus. Un contrôle négatif sans ADN sera testé pour vérifier l'absence de contamination des réactifs. Les séquences seront analysées avec le logiciel Mutation Surveyor ainsi que manuellement par deux professionnels de manière indépendante.

Le laboratoire du demandeur est certifié par Agrément Canada, par le Collège canadien des généticiens médicaux et participe aux contrôles de qualité externe SEC du College of American Pathologists et à un taux de réussite de 100 % à celui-ci.

Selon le demandeur, afin d'assurer la qualité optimale de l'analyse :

- L'analyse des produits de PCR inclut toujours un contrôle sans ADN;
- Un contrôle positif est analysé simultanément;
- La séquence doit être interprétable dans les deux directions pour émettre un résultat;
- Le laboratoire s'engage à souscrire à un contrôle externe de qualité spécifique à la mucopolysaccharidose de type II dans l'éventualité où celui-ci devenait disponible;
- Dans l'intervalle, le laboratoire tentera de trouver un laboratoire partenaire externe agréé pour réaliser des échanges interlaboratoires.

5 DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique

La recherche bibliographique a permis de repérer 11 études dont l'objectif était d'identifier quelles étaient les mutations responsables de la ML II et de la ML III par séquençage direct :

- 1 étude réalisée au Québec dans la population ciblée par l'analyse proposée [Plante *et al.*, 2008];
- 6 études réalisées en Amérique, en Europe et en Israël ont identifié des mutations responsables de la ML II et de la ML III dans ces populations et ont rencontré la mutation c.3503_3504delTC [Cury *et al.*, 2013; Cathey *et al.*, 2010; Encarnacao *et al.*, 2009; Tappino *et al.*, 2009; Bargal *et al.*, 2006; Kudo *et al.*, 2006];
- 4 études réalisées dans des populations asiatiques ont permis d'identifier des mutations responsables de la ML II et de ML III sans rencontrer la mutation c.3503_3504delTC [Yang *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016; Otomo *et al.*, 2009; Paik *et al.*, 2005].

Étude réalisée par Plante et ses collaborateurs [2008]

Une étude rétrospective québécoise avait pour but de déterminer la cause de la forte prévalence de la ML II dans la population originaire du Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ). L'étude a été réalisée chez 27 parents (porteurs obligatoires) de patients décédés des suites de la ML II. Les 21 exons du gène *GNPTAB* ont d'abord été séquencés chez 12 parents et 12 témoins sains sélectionnés parmi les patients du Centre d'étude du polymorphisme humain (CEPH). Les variants hétérozygotes détectés chez les 12 parents ont ensuite été recherchés par séquençage chez les 15 autres parents et chez 50 témoins sains. Tous les parents étaient porteurs hétérozygotes pour la mutation c.3503_3504delTC et aucun des témoins n'était porteur de celle-ci.

En conclusion, les auteurs estiment avoir identifié la mutation responsable de la ML II au SLSJ. En effet, la mutation c.3503_3504delTC a été identifiée chez l'ensemble des 27 parents porteurs obligatoires originaires du SLSJ. D'après les auteurs, cette information permettra de confirmer un diagnostic prénatal plus tôt lors de la grossesse et permettra de déterminer le statut de porteur des individus originaires du SLSJ, ce qui est d'une grande importance puisqu'il n'existe présentement aucun traitement pour la ML II [Plante *et al.*, 2008].

Séquençage du gène *GNPTAB* chez des patients avec un phénotype de ML II et de ML III

Les 10 autres études retenues ont été réalisées dans le but de déterminer les mutations du gène *GNPTAB* responsables de la ML II et de la ML III. La majorité des individus testés dans ces études étaient atteints de ML II ou de ML III alors que certains étaient des porteurs obligatoires et d'autres, des individus chez qui le statut

de porteur devait être vérifié. À l'exception de l'étude réalisée par Kudo et ses collaborateurs [2006], les études précisait que le diagnostic de mucopolidose avait été déterminé par les manifestations cliniques, biochimiques, radiologiques ou moléculaires. Dans 6 études réalisées aux États-Unis [Cathey *et al.*, 2010; Kudo *et al.*, 2006], au Brésil [Cury *et al.*, 2013], au Portugal [Encarnacao *et al.*, 2009], en Italie [Tappino *et al.*, 2009] et en Israël [Bargal *et al.*, 2006], l'allèle muté c.3503_3504delTC a été le plus fréquemment rencontré (tableau 2) chez les patients présentant un phénotype de ML II. Dans les 4 autres études, réalisées en Corée [Yang *et al.*, 2017; Paik *et al.*, 2005] en Chine [Liu *et al.*, 2016] et au Japon [Otomo *et al.*, 2009], cette même mutation n'a pas été identifiée du tout. Toutes ces études démontrent le lien entre les mutations du gène *GNPTAB* et les phénotypes de ML II et de ML III.

Tableau 2 Études identifiant la mutation *GNPTAB* : c.3503_3504delTC par séquençage et prévalence chez les patients atteints de ML II

ÉTUDE	OBJECTIF	DIAGNOSTIC DE ML II	PATIENTS ML II	MUTATION L1168fsX5*	ALLÈLES MUTÉS
[Bargal <i>et al.</i> , 2006] Israël	Analyse du gène <i>GNPTAB</i> dans des familles atteintes	Clinique, radiologique, biochimique	21	11 hmz	10 dif
[Kudo <i>et al.</i> , 2006] É.-U.	Démontrer que la ML II et la ML III sont causées par des mutations du gène <i>GNPTAB</i>	ND	9	1 hmz 6 htz 1 / ind	8 dif 1 ind
[Tappino <i>et al.</i> , 2009] Italie	Analyse du gène <i>GNPTAB</i> chez des patients atteints de ML II et de ML III	Clinique, radiologique, biochimique	41	14 hmz 17 htz 1 / ind	20 dif 2 ind
[Encarnacao <i>et al.</i> , 2009] Portugal	Analyse des gènes <i>GNPTAB</i> et <i>GNPTG</i> chez des patients ML II et ML III	Biochimique	8	4 hmz 1 htz	6 dif
[Cathey <i>et al.</i> , 2010] É.-U.	Présenter une perspective globale de la ML II et de la ML III	Clinique, moléculaire, biochimique	32	5 hmz 13 htz	30 dif 1 ind
[Cury <i>et al.</i> , 2013] Brésil	Analyser le gène <i>GNPTAB</i> chez les patients ML II et ML III du Brésil	Biochimique	8	3 hmz 2 htz	5 dif 3 ind

Abréviations : Dif : différents; Hmz : homozygote; Htz : hétérozygote; ind : indéterminé ML II : mucopolidose de type II.

*Appellation protéique de la mutation *GNPTAB* : 3503_3504delTC.

Dans chacune de ces études, l'analyse du gène *GNPTAB*, lorsque réalisée chez un parent des patients atteints de ML II, a validé l'une des deux mutations retrouvées chez les patients.

Bargal et ses collaborateurs [2006] ont conclu que les outils moléculaires tels que le séquençage permettent maintenant la détection des porteurs dans les familles à risque et fournissent une option de diagnostic préimplantation pour les couples à risque.

Suite à leurs résultats, Cury et ses collaborateurs [2013] ont conclu que l'analyse du gène *GNPTAB* devrait débiter par l'exon 19, où se situe la mutation c.3503_3504delTC, optimisant ainsi l'investigation et réduisant les coûts.

Paik et ses collaborateurs [2005] ont conclu que l'identification des mutations responsables de la ML II et de la ML III devrait procurer des informations diagnostiques prénatales plus précises aux familles. En ce sens, Yang et ses collaborateurs [2017] ont démontré un diagnostic prénatal de ML II lors de 2 grossesses par le séquençage du gène *GNPTAB*.

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

Aucune étude visant à valider la performance analytique du séquençage de Sanger pour la détection de la mutation c.3503_3504delTC n'a été repérée.

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a fourni les analyses de séquences réalisées avec Mutation Surveyor du séquençage de la région d'intérêt du gène *GNPTAB* provenant de 2 patients exempts (annexe A) et de deux patients hétérozygotes avec la mutation c.3503_3504delTC (annexe B).

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la recherche de la mutation fondatrice c.3503_3504delTC du gène *GNPTAB* pour la ML II par séquençage Sanger. 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 3. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée par le demandeur ciblerait tous les individus avec des antécédents familiaux de ML II (dépistage et diagnostic prénatal) ainsi que les patients symptomatiques.
- L'analyse proposée a fait l'objet de 354 envois hors Québec en 2015-2016 à un coût moyen de 288 \$ par analyse. Le rapatriement de l'ensemble de ces tests est prévu dès la première année suivant un ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Selon l'opinion d'experts consultés, le nombre de tests réalisés une fois l'analyse introduite au *Répertoire* devrait être similaire au nombre d'analyses actuellement envoyées hors Québec.
- Selon la plus récente mise à jour du bilan démographique du Québec de l'Institut de la statistique du Québec, le taux d'accroissement de la population était de 0,61 % en 2015.
- Il est anticipé que 358, 361 et 363 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 199,90.

Tableau 3 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant la recherche de la mutation fondatrice pour la mucopolipidose de type II par séquençage Sanger

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : <u>sans</u> l'ajout de l'analyse permettant la recherche de la mutation fondatrice pour la mucopolipidose de type II au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	358	361	363	1 082
Coûts	101 908 \$	102 762 \$	103 332 \$	308 002 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse permettant la recherche de la mutation fondatrice pour la mucopolipidose de type II au <i>Répertoire</i>				
Analyses Sanger	358	361	363	1 082
Coûts	71 564 \$	72 164 \$	72 564 \$	216 292 \$
Impact net	-30 344 \$	-30 598 \$	-30 768 \$	-91 710 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			- 127 577 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			-81 515 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la recherche de la mutation fondatrice pour la ML II par séquençage Sanger pourrait générer une réduction de coûts d'environ 90 000 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Selon le demandeur, aucune modification significative de la prise en charge des patients n'est anticipée. Toutefois, compte tenu du fait que les délais pour obtenir les résultats de l'analyse pourraient être plus courts, lors de l'utilisation de l'analyse pour l'établissement d'un diagnostic prénatal, cela pourrait éventuellement avoir un impact sur le choix de poursuivre ou d'interrompre la grossesse.

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

Le comité de génétique de la Société des obstétriciens et gynécologues du Canada et le comité de pratiques cliniques du Collège canadien de généticiens médicaux ont conjointement émis des lignes directrices concernant le dépistage des maladies génétiques dans le contexte de planification des naissances.

Concernant la ML II, la ligne directrice est de revoir attentivement les antécédents familiaux sur 3 générations des couples originaires de régions où l'on retrouve cet effet fondateur. Lorsque les 2 partenaires sont identifiés porteurs d'une même condition récessive, le couple devrait être rapidement référé pour le conseil génétique, préférablement avant la conception ou aussitôt que possible durant la grossesse.

De façon générale, la ligne directrice recommande d'effectuer les analyses spécifiques afin de poser le diagnostic prénatal, en néonatalité ou les analyses post mortem spécifiques en pathologie ou à l'autopsie afin de déterminer le diagnostic et les risques de récives [Wilson *et al.*, 2016].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de la mutation responsable de la mucopolidose de type II au Saguenay-Lac-Saint-Jean

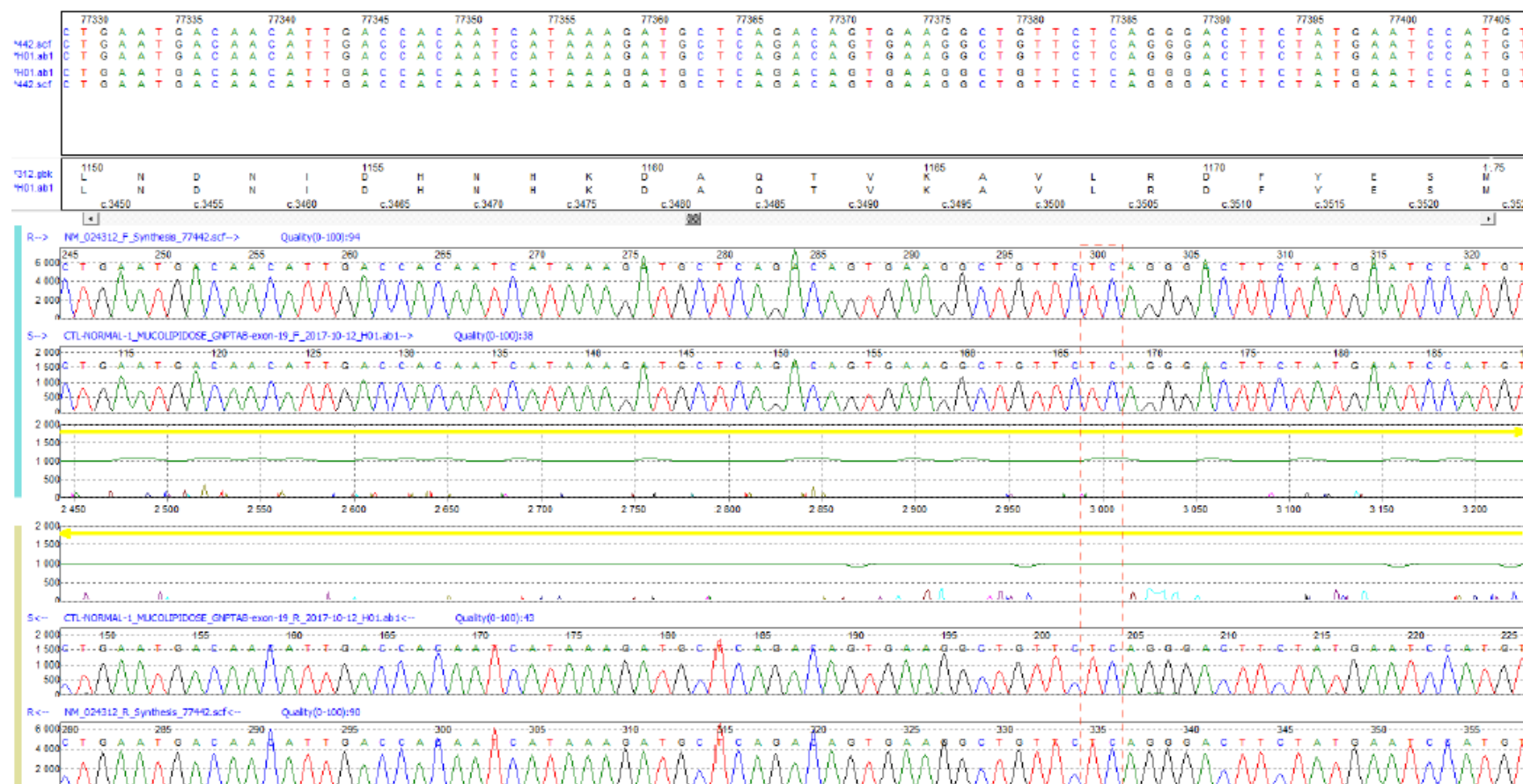
La recommandation de l'INESSS

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

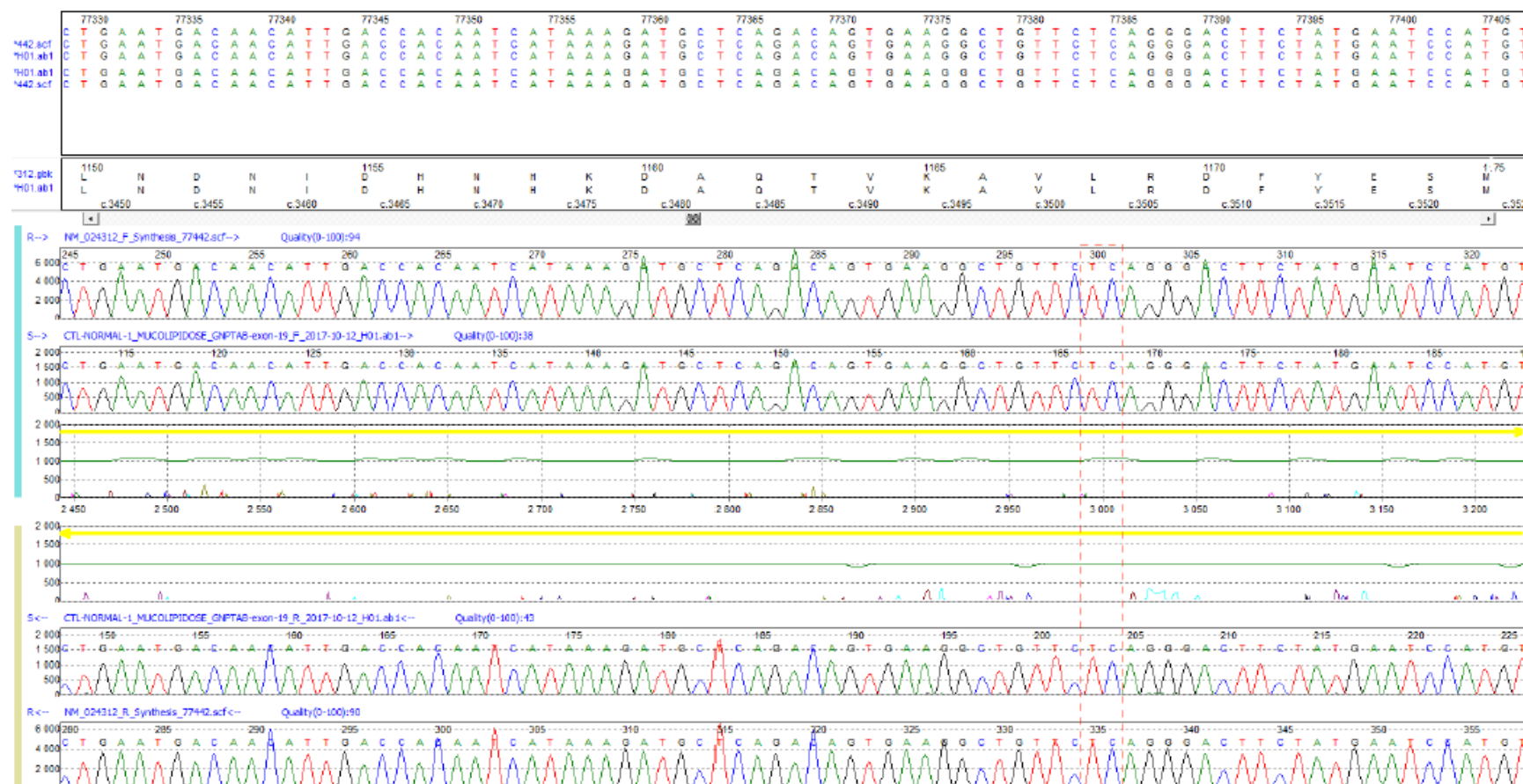
Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ L'utilité clinique de l'analyse dans certains contextes est reconnue.
- ✓ Le choix de la méthode (séquençage Sanger) est questionné notamment en raison de son coût.
- ✓ Le CSABM recommande au laboratoire demandeur de préciser les éléments suivants :
 - s'assurer que la perte allélique est examinée;
 - compléter le devis analytique avec un nombre suffisant d'échantillons.

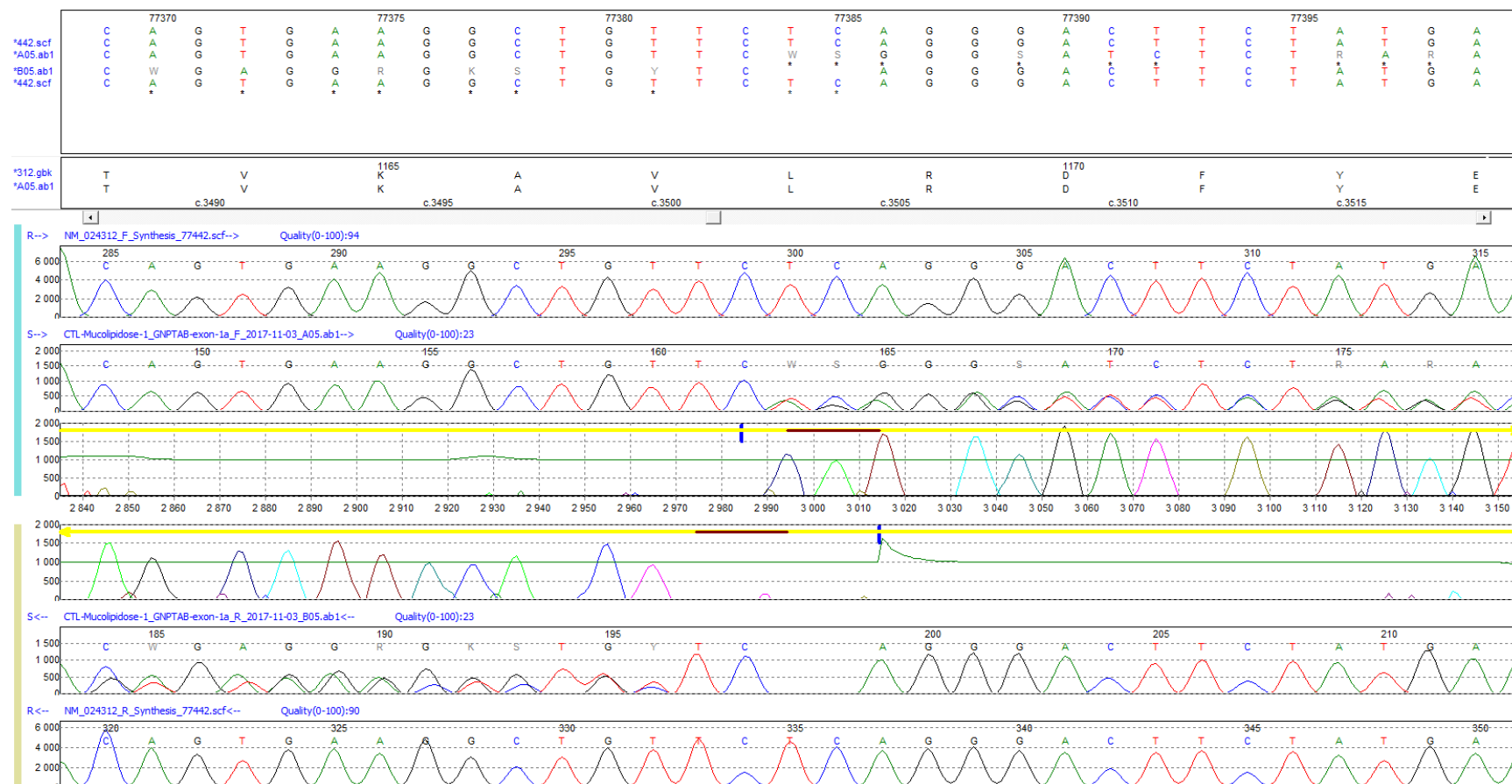
ANNEXE A Électrophorégrammes de la séquence contrôle du gène *GNPTAB* : c.3503_3504



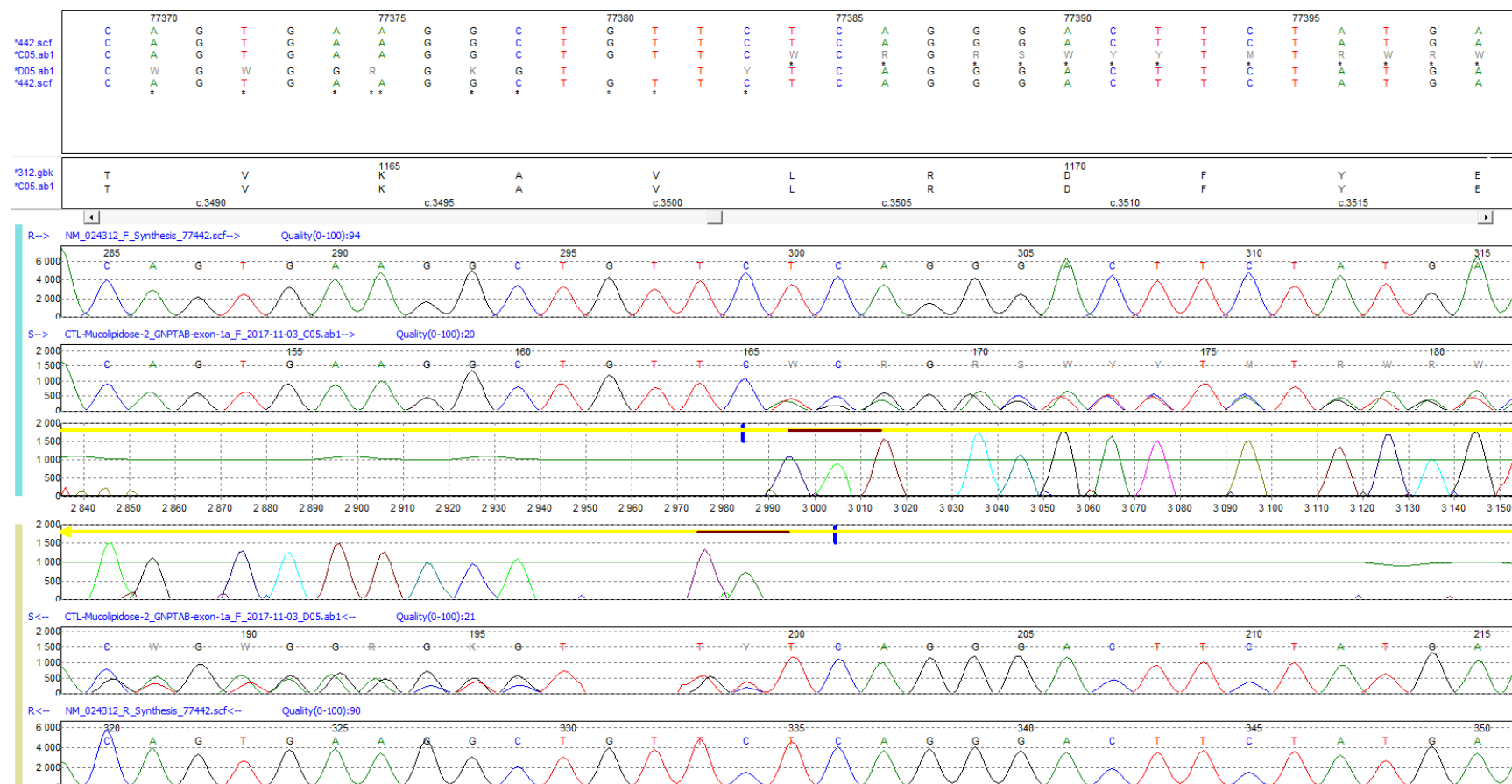
ANNEXE A (suite)



ANNEXE B Électrophorégrammes de la séquence hétérozygote *GNPTAB* : c.3503_3504delTC



ANNEXE B (suite)



RÉFÉRENCES

- Bargal R, Zeigler M, Abu-Libdeh B, Zuri V, Mandel H, Ben Neriah Z, et al. When Mucopolipidosis III meets Mucopolipidosis II: GNPTA gene mutations in 24 patients. *Mol Genet Metab* 2006;88(4):359-63.
- Cathey SS, Leroy JG, Wood T, Eaves K, Simensen RJ, Kudo M, et al. Phenotype and genotype in mucopolipidoses II and III alpha/beta: a study of 61 probands. *J Med Genet* 2010;47(1):38-48.
- Cury GK, Matte U, Artigalas O, Alegria T, Velho RV, Sperb F, et al. Mucopolipidosis II and III alpha/beta in Brazil: analysis of the GNPTAB gene. *Gene* 2013;524(1):59-64.
- De Braekeleer M. Hereditary disorders in Saguenay-Lac-St-Jean (Quebec, Canada). *Hum Hered* 1991;41(3):141-6.
- Encarnacao M, Lacerda L, Costa R, Prata MJ, Coutinho MF, Ribeiro H, et al. Molecular analysis of the GNPTAB and GNPTG genes in 13 patients with mucopolipidosis type II or type III - identification of eight novel mutations. *Clin Genet* 2009;76(1):76-84.
- Kudo M, Brem MS, Canfield WM. Mucopolipidosis II (I-cell disease) and mucopolipidosis IIIA (classical pseudo-hurler polydystrophy) are caused by mutations in the GlcNAc-phosphotransferase alpha / beta -subunits precursor gene. *Am J Hum Genet* 2006;78(3):451-63.
- Liu S, Zhang W, Shi H, Yao F, Wei M, Qiu Z. Mutation Analysis of 16 Mucopolipidosis II and III Alpha/Beta Chinese Children Revealed Genotype-Phenotype Correlations. *PLoS One* 2016;11(9):e0163204.
- Otomo T, Muramatsu T, Yorifuji T, Okuyama T, Nakabayashi H, Fukao T, et al. Mucopolipidosis II and III alpha/beta: mutation analysis of 40 Japanese patients showed genotype-phenotype correlation. *J Hum Genet* 2009;54(3):145-51.
- Paik KH, Song SM, Ki CS, Yu HW, Kim JS, Min KH, et al. Identification of mutations in the GNPTA (MGC4170) gene coding for GlcNAc-phosphotransferase alpha/beta subunits in Korean patients with mucopolipidosis type II or type IIIA. *Hum Mutat* 2005;26(4):308-14.
- Plante M, Claveau S, Lepage P, Lavoie EM, Brunet S, Roquis D, et al. Mucopolipidosis II: a single causal mutation in the N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase gene (GNPTAB) in a French Canadian founder population. *Clin Genet* 2008;73(3):236-44.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(12):5463-7.
- Tappino B, Chuzhanova NA, Regis S, Dardis A, Corsolini F, Stroppiano M, et al. Molecular characterization of 22 novel UDP-N-acetylglucosamine-1-phosphate

transferase alpha- and beta-subunit (GNPTAB) gene mutations causing mucopolipidosis types IIalpha/beta and IIIalpha/beta in 46 patients. *Hum Mutat* 2009;30(11):E956-73.

Wilson RD, De Bie I, Armour CM, Brown RN, Campagnolo C, Carroll JC, et al. Joint SOGC-CCMG Opinion for Reproductive Genetic Carrier Screening: An Update for All Canadian Providers of Maternity and Reproductive Healthcare in the Era of Direct-to-Consumer Testing. *J Obstet Gynaecol Can* 2016;38(8):742-62 e3.

Wraith JE. Mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *Handb Clin Neurol* 2013;113:1723-9.

Yang M, Cho SY, Park HD, Choi R, Kim YE, Kim J, et al. Clinical, biochemical and molecular characterization of Korean patients with mucopolipidosis II/III and successful prenatal diagnosis. *Orphanet J Rare Dis* 2017;12(1):11.

DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES ENTÉROPATHOGENES BACTÉRIENS PAR PCR MULTIPLÈXE (RÉFÉRENCE - 2017.01.007A)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine.

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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, l'expert consulté est :

- **D^r Christian Lavallée**, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont.

2 RÉSUMÉ

La détection des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe a pour objectif d'identifier les agents étiologiques des diarrhées sanglantes ou chroniques. Cette analyse « maison » (ou LDT, de l'anglais *Laboratory Developed Test*) n'est pas encore prête à être mise en service, c'est-à-dire qu'elle est encore à l'étape de la planification. Les étapes nécessaires à la validation clinique et analytique de l'analyse seront entreprises par le centre demandeur uniquement à la suite d'un avis favorable de l'INESSS concernant l'utilité clinique de celle-ci. À terme, cette analyse permettrait la détection de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*, *Vibrio* et *Aéromonas*.

Selon le demandeur, cette analyse moléculaire permettrait notamment d'alléger le processus diagnostic, de diminuer le temps de réponse, d'identifier les causes infectieuses tout en évitant des examens plus invasifs, d'optimiser l'efficacité du laboratoire et de réduire le nombre ou la durée des traitements antibiotiques.

Une revue de la documentation scientifique a permis de recenser cinq études traitant de la détection d'entéropathogènes bactériens à l'aide d'une technique de PCR multiplexe en temps réel développé en laboratoire (LDT). Selon les résultats présentés, la PCR multiplexe est plus rapide et procure un taux de positivité significativement plus élevée que la culture conventionnelle. C'est une technique sensible, spécifique et robuste.

Pour le CHU Sainte-Justine, l'ajout de l'analyse pourrait générer une réduction de coûts d'environ 4 000 \$ à 25 000 \$ par année pour un total de 11 000 \$ à 76 000 \$ pour les trois premières années suivant son introduction. Advenant que l'analyse puisse être implantée pour répondre aux besoins de l'ensemble de la province, cela pourrait générer une réduction de coûts allant de 264 000 \$ à 1,7 M\$ par année pour un total de 792 000 \$ à 5,1 M\$ pour les trois premières années. La réduction des coûts dépend de la méthode de préparation des échantillons qui pourrait comporter ou non une étape d'extraction de l'ADN.

Selon l'Association of Public Health Laboratories (États-Unis), les tests moléculaires sont plus rapides, permettent de détecter simultanément plusieurs pathogènes, et procurent des données dans des délais cliniquement plus pertinents pour le clinicien et son patient. Ces analyses peuvent être plus économiques que les techniques microbiologiques classiques et requièrent moins de personnel. Selon le Public Health England, les méthodes moléculaires peuvent être supérieures aux méthodes conventionnelles et devraient être considérées lorsqu'elles sont disponibles.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Détection des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe. L'analyse aura pour objectif d'identifier les agents étiologiques des diarrhées sanglantes ou chroniques.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse « maison » (ou LDT, de l'anglais *Laboratory Developed Test*) sera développée advenant un avis favorable d'introduction au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* par l'INESSS et le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse consistera en l'amplification par PCR multiplexe en temps réel d'acides nucléiques spécifiques aux entéropathogènes bactériens suivants :

- *Salmonella*;
- *Shigella*;
- Bactéries productrices de Shiga-toxines;
- *Yersinia enterocolitica*;
- *Campylobacter*;
- *Vibrio* spp.;
- *Aéromonas* spp.

Cette analyse de biologie moléculaire serait développée afin d'être effectuée selon les mêmes protocoles que la PCR permettant de détecter la Shiga-toxine (vérotoxine) et la coqueluche (*Bordetella pertussis* et *B. parapertussis*), tous deux actuellement implantés dans différents centres serveurs.

Les résultats seraient de type qualitatif. L'analyse serait effectuée tous les jours de la semaine avec un temps de roulement d'environ 24 heures. Un délai de moins de 24 heures pourrait être envisagé pour les patients admis à l'urgence et pour les patients immunosupprimés.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les selles fraîches, acheminées au laboratoire du CHU Sainte-Justine en pot stérile, seraient ensuite :

- utilisées pour l'extraction d'ADN préalablement à la détection des bactéries entéropathogènes par amplification moléculaire (méthode d'amplification indirecte);

ou

- mises en culture dans un bouillon d'enrichissement puis soumises à la détection des bactéries entéropathogènes par amplification moléculaire (méthode d'amplification directe).

3.4 Société ou concepteur

Il s'agit d'une analyse « maison » qui sera développée localement.

Le demandeur propose d'élaborer le protocole en collaboration avec l'Eastern Health de Terre-Neuve-et-Labrador, qui ont déjà développé et implanté une PCR multiplexe en temps réel pour le diagnostic clinique des entéropathogènes.

3.5 Homologation

L'analyse proposée n'est pas homologuée par Santé Canada ou la Food and Drug Administration (FDA).

Il existe toutefois des troussees commerciales homologuées par Santé Canada permettant la détection d'entéropathogènes par PCR multiplexe (annexe A).

3.6 Valeur pondérée

Deux valeurs pondérées ont été soumises. La première inclut une étape préliminaire d'extraction de l'ADN. La seconde correspond à l'amplification directe des acides nucléiques bactériens à partir d'un bouillon d'enrichissement. Le choix de la méthode sera officialisé en fonction des résultats des études de validation analytique qui seront effectuées advenant un avis favorable d'introduction de cette analyse au *Répertoire*.

- Valeur pondérée avec extraction de l'ADN bactérien : 22,78
- Valeur pondérée sans extraction de l'ADN bactérien : 12,75

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients avec diarrhée chronique ou selles sanglantes.

4.2 Description de la maladie visée

La gastroentérite aiguë, accompagnée de diarrhées et de vomissements, est majoritairement de cause infectieuse, surtout virale, même si rarement identifiée. Elle touche principalement les enfants de moins de 5 ans. Parmi les autres agents infectieux possibles, on compte des bactéries et des parasites [Fletcher *et al.*, 2013].

La gastroentérite est une affection généralement bénigne, caractérisée par des selles plus liquides, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. Elle peut s'accompagner de sang ou de mucus dans les selles, de déshydratation, de fièvre et de céphalées. Les complications liées à la diarrhée varient selon l'agent causal. La principale complication est la déshydratation, qui peut s'accompagner d'un déséquilibre électrolytique et d'hypoglycémie. La malabsorption survient rarement, mais peut persister plusieurs semaines après l'infection [Fletcher *et al.*, 2013].

La diarrhée peut se présenter sous trois formes [Fletcher *et al.*, 2013] :

- Diarrhée aigüe aqueuse habituellement associée au *Vibrio cholerae* et au rotavirus, qui dure plusieurs jours et pose un risque de déshydratation pouvant être fatal, particulièrement chez les jeunes enfants, les personnes âgées et les patients immunosupprimés.
- Diarrhée aigüe sanglante habituellement causée par *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* entérohémorragique ou d'autres microorganismes pouvant mener à la déshydratation (dommages intestinaux, sepsie et malnutrition).
- Diarrhée persistante qui dure 14 jours ou plus et est habituellement associée à des parasites. La période diarrhéique peut être fatale, particulièrement chez les jeunes enfants, les personnes âgées et les patients immunosupprimés.

Maladies à déclarations obligatoires (MADO)⁹³

En 2015, 6 794 cas d'infections entériques ont été déclarés au Québec. Ces infections occupent le deuxième rang des maladies à déclaration obligatoire les plus fréquentes. La grande majorité est causée par des bactéries. En effet, les infections à *Campylobacter* représentent un peu plus du tiers des cas, alors que la salmonellose concerne un cas sur cinq.

Les épidémies de gastroentérites demeurent fréquentes, avec 401 épisodes déclarés en 2015. On soupçonne souvent des virus d'en être responsables. Elles touchent plus fréquemment des milieux comme les services de garde éducatifs à l'enfance, les écoles ou les milieux de soins et d'hébergement.

Les données sur les maladies entériques procurent cependant une image partielle de ces infections, car seulement une fraction d'entre elles sont déclarées.

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Selon le demandeur, le CHU Sainte-Justine effectue environ 2 150 cultures bactériennes de selles par année pour la gastroentérite aigüe. Le demandeur propose d'effectuer une PCR multiplexe sur tous les spécimens de selles transmis pour la recherche d'entéropathogènes bactériens. Par la suite, les échantillons positifs seraient mis en culture aux fins d'évaluation de la susceptibilité antimicrobienne et de surveillance de la santé publique.

Le taux de positivité des échantillons analysés par PCR multiplexe est estimé entre 5 % et 10 %. Le demandeur prévoit donc un total d'environ 2 150 PCR multiplexes et 200 cultures par année pour le CHU Sainte-Justine. Advenant un déploiement provincial, un total d'environ 146 000 PCR multiplexes et 13 600 cultures par année ont été estimées pour l'ensemble du Québec.

⁹³ Informations tirées du site du MSSS, disponible à l'adresse suivante : www.msss.gouv.qc.ca/statistiques/rapport-dnsp/index.php?choixEtab%5B%5D=4&choixSujet%5B%5D=20 (consulté le 15 septembre 2017).

4.4 Situation actuelle

Actuellement, selon les experts consultés⁹⁴, les entéropathogènes bactériens sont principalement détectés par culture. Le délai de réponse est de 4 à 7 jours et nécessite plusieurs géloses (annexe B) [Humphries et Linscott, 2015].

Les souches d'*E. coli* productrices de Shiga-toxines (ou STEC, de l'anglais *Shiga-toxin producing E. coli*), aussi connues sous le nom d'*E. coli* entérohémorragique (ECEH), sont recherchées de routine dans les selles au Québec. Quatre laboratoires désignés offrent une détection des Shiga-toxines par amplification PCR. Cette dernière est effectuée à partir d'un bouillon d'enrichissement sans extraction préalable des acides nucléiques. L'analyse est effectuée :

- de routine en présence de selles sanglantes;
- de routine chez les enfants de 5 ans et moins avec diarrhée;
- avec prescription médicale lorsqu'ECEH est suspectée.

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*. L'introduction de la PCR multiplexe en temps réel pour la détection des entéropathogènes bactériens pourrait remplacer en partie la culture de selles (code 40263). Les données médico-administratives relatives à l'introduction de cette analyse sont détaillées dans la section 6 (analyses d'impacts budgétaires).

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, les avantages cliniques du développement d'une PCR multiplexe pour la détection des entéropathogènes bactériens sont les suivants :

- Faciliter le transfert de certaines analyses vers les centres serveurs en améliorant le temps de réalisation (actuellement de 4 à 7 jours pour les cultures de selles) sans perte de sensibilité de détection.
- Identifier une cause infectieuse chez certains patients tout en évitant des examens plus invasifs.
- Limiter les coûts d'analyses par PCR multiplexe en évitant d'avoir recours à une trousse commerciale plus coûteuse.
- Optimiser l'efficacité du laboratoire en cessant les cultures systématiques de toutes les selles et nécessitant plusieurs géloses.
- Diminuer le temps de réponse pour ainsi permettre une meilleure prise en charge des patients avec pathologies gastro-intestinales entériques comme les maladies intestinales inflammatoires (MII) et la maladie du

⁹⁴ Informations obtenues auprès du D^r Christian Renaud, pédiatre microbiologiste infectiologue au CHU Sainte-Justine (demandeur), D^r Jean Longtin, microbiologiste en chef au LSPQ-INSPQ et M. Hugues Charest, biologiste moléculaire au LSPQ.

greffon contre l'hôte, notamment en initiant le traitement d'immunosuppression plus rapidement.

- Alléger le processus diagnostique.
- Réduire le nombre ou la durée des traitements antibiotiques en absence d'entéropathogènes bactériens.

4.7 Assurance qualité

Le demandeur prévoit participer aux différents programmes de qualité du College of American Pathologists (CAP) et du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour lesquels il existe des échanges interétablissements et des contrôles de qualité.

5 DONNÉES PUBLIÉES

Une revue de la documentation scientifique a permis de recenser cinq études traitant de la détection d'entéropathogènes bactériens à l'aide d'une technique de PCR multiplexe en temps réel développée en laboratoire. De ces études, quatre présentent des données cliniques et de validation analytique [Van Lint *et al.*, 2016; Van Lint *et al.*, 2015; Barletta *et al.*, 2013; Wiemer *et al.*, 2011]. La cinquième étude présente uniquement des données de validation analytique [De Boer *et al.*, 2010]. Précisons que seules les études utilisant une plateforme ouverte⁹⁵, correspondant aux technologies que propose d'utiliser le demandeur, ont été retenues.

5.1 Valeur diagnostique

Des cinq études retenues, deux comparent la PCR multiplexe en temps réel à la culture bactérienne conventionnelle [Van Lint *et al.*, 2015; Wiemer *et al.*, 2011]. Deux autres études présentent un algorithme où la PCR multiplexe est utilisée en première ligne de détection et la culture est utilisée aux fins de confirmation, d'évaluation de la susceptibilité antimicrobienne et de surveillance de la santé publique [Van Lint *et al.*, 2016; De Boer *et al.*, 2010]. Le tableau 1 présente un sommaire de ces études.

⁹⁵ Ici, « plateforme ouverte » fait référence aux technologies accessibles qui permettent aux utilisateurs de développer de nouvelles applications dérivées, sans avoir obligatoirement recours aux chimies, réactifs, services ou appareils d'un fournisseur en particulier. Ces nouvelles applications pourront être effectuées sur d'autres plateformes ou technologies dites « ouvertes » qui ne proviennent pas nécessairement du même fournisseur.

Tableau 1 Études comparant la PCR multiplexe aux méthodes conventionnelles dans la détection des entéropathogènes bactériens

AUTEUR, ANNÉE (PAYS)	POPULATION (ÉCHANTILLONS, N)	PATHOGÈNES DÉTECTÉS	PLATEFORME (FOURNISSEUR)	COMPARATEUR	MULTIPLEXE C. CULTURE	
					TEMPS DE RÉPONSE	TAUX DE POSITIVITÉ, %
Van Lint 2015 (Belgique)	Symptômes de gastroentérite (1 687)	▪ <i>Salmonella</i> spp. ▪ <i>Shigella</i> spp./ECEI ▪ <i>Campylobacter jejuni</i> ▪ <i>Yersinia enterocolitica</i>	Rotor-Gene Q cycliser (Qiagen)	Culture conventionnelle	n.d.	10,1 c. 7,5 (p < 0,0001)
Wiemer 2011 (Allemagne)	Diarrhées (393)	▪ <i>Salmonella</i> spp. ▪ <i>Shigella</i> spp./ECEI ▪ <i>Campylobacter jejuni</i> ▪ <i>Yersinia</i> spp.	Rotor-Gene Q cycliser (Qiagen)	Culture conventionnelle	3 heures*	n.d.
Van Lint 2016 (Belgique)	Patients avec entérite bactérienne suspectée (7 008)	▪ <i>Salmonella</i> spp. ▪ <i>Shigella</i> spp./ECEI ▪ <i>Campylobacter jejuni</i> ▪ <i>Yersinia enterocolitica</i>	Rotor-Gene Q cycliser (Qiagen)	Culture conventionnelle	29 c. 73 heures (p < 0,001)	8,56 c. 4,98 (p < 0,0001)
de Boer 2010 (Pays-Bas)	Patients avec symptômes de gastroentérite infectieuse acquise en communauté ou en milieu hospitalier (28 185)	▪ <i>Salmonella enterica</i> ▪ <i>Shigella</i> spp./ECEI ▪ <i>Campylobacter jejuni</i> ▪ ECEH ou STEC ▪ <i>Giardia lamblia</i>	ABI 75000 Sequence Detection Systems (Applied Biosystems)	Méthodes conventionnelles (culture et microscopie)	n.d.	19,2 c. 6,4 (p < 0,001)

Abréviations : ECEI : *E. coli* entéro-invasive; ECEH ou STEC : *E. coli* entérohémorragique ou producteur de Shiga-toxine (vérotoxine); n.d. : non déterminée

*Obtention des résultats en 3 heures incluant la purification de l'ADN [Wiemer *et al.*, 2011].

5.1.1 L'étude de Van Lint et ses collaborateurs [2015]

Cette étude avait pour objectif de valider une PCR multiplexe en temps réel pour la détection de quatre bactéries entéropathogènes à partir d'échantillons de selles. Les bactéries ciblées incluaient *Salmonella* spp., *Shigella* spp./*E. coli* entéro-invasive (ECEI), *Campylobacter jejuni* et *Yersinia enterocolitica*. Au total, 1 687 échantillons cliniques de selles fraîches de patients atteints de gastroentérite ont été analysés par PCR multiplexe et culture conventionnelle.

Des 1 685 échantillons avec un résultat analysable⁹⁶, 170 (10,1 %) étaient positifs par PCR multiplexe comparativement à 127 (7,5 %) par culture conventionnelle ($p < 0,0001$). Une augmentation significative du taux de détection a notamment été observée pour *Campylobacter jejuni* et *Shigella* spp/ECEI (tableau 2).

Tableau 2 Comparaison du taux de détection de quatre entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe et culture conventionnelle

PATHOGENE	ÉCHANTILLONS POSITIFS, N (TAUX DE DÉTECTION, %)		VALEUR P
	PCR	CULTURE	
<i>Campylobacter jejuni</i>	129* (7,7)	96 (5,7)	< 0,0001
<i>Shigella</i> spp/ECEI	22 (1,3)	13 (0,8)	0,0039
<i>Salmonella</i>	19 (1,1)	16 (0,9)	0,25
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2 (0,1)	2 (0,1)	1
TOTAL	170 (10,1)	127 (7,5)	< 0,0001

Source : [Van Lint et al., 2015]

Abréviations : ECEI : *E. coli* entéro-invasive; PCR : réaction en chaîne par polymérase (de l'anglais *polymerase chain reaction*).

* Des 129 échantillons positifs pour *C. jejuni* par PCR multiplexe, 8 ont été considérés faux positifs puisqu'ils se sont avérés négatifs par la PCR individuelle de confirmation. Selon les auteurs, ceci pourrait être expliqué par une plus faible sensibilité de la PCR individuelle de confirmation comparativement à la PCR multiplexe (3 410 contre 87 CFU/ml, respectivement).

Les échantillons discordants ont été analysés par PCR individuelles en temps réel à l'aide d'amorces différentes de celles utilisées pour la PCR multiplexe. Des 47 échantillons positifs par PCR multiplexe et négatifs par culture, 38 ont été confirmés par la PCR monoplexe alors que les 9 autres (8 *C. jejuni* et 1 *Shigella*/ECEI) n'ont pas été confirmés. Ces 9 échantillons, qui ont présenté un cycle de quantification (Cq) élevé lors de la PCR multiplexe, correspondent à des charges bactériennes faibles.

Deux échantillons doubles positifs ont été détectés par PCR multiplexe. Un des échantillons était positif pour *Salmonella* et *Shigella*/ECEI et l'autre pour *Salmonella* et *Y. enterocolitica*. La culture conventionnelle n'a détecté aucun pathogène dans le premier

⁹⁶ Des 1 687 échantillons reçus, 2 n'ont pas été considérés dans l'analyse de comparaison pour cause d'inhibition persistante de la PCR multiplexe et d'absence de croissance en culture (culture négative) [Van Lint et al., 2015].

échantillon et uniquement *Salmonella* dans le second. Toutefois, la culture a permis d'identifier un échantillon double positif pour *C. jejuni* et *Y. enterocolitica* alors que la PCR multiplexe avait détecté uniquement *C. jejuni*. La souche d'*Y. enterocolitica* non détectée par la PCR multiplexe ni par la PCR monoplexe de confirmation a été investiguée et ne comportait pas le gène de virulence ciblé par les amorces PCR. La souche (biotype A) était de pathogénicité inconnue, car retrouvée chez des patients sains et des patients avec diarrhée. Au total, la culture a permis d'identifier 7 échantillons (0,4 %) positifs pour des espèces de *Campylobacter* non détectées par les réactions d'amplification multiplexes ou monoplexes.

Comparativement à la culture conventionnelle, la PCR multiplexe a permis d'augmenter la sensibilité de 78 à 100 % ($p < 0,0001$). La spécificité clinique était de 99,4 % pour la PCR multiplexe comparativement à 99,9 % pour la culture conventionnelle (tableau 3).

Tableau 3 Comparaison de la sensibilité et de la spécificité de la PCR multiplexe et de la culture conventionnelle pour la détection d'entéropathogènes bactériens

MÉTHODE DE DÉTECTION	SENSIBILITÉ, % (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ, % (IC95 %)
PCR multiplexe	100,0 (97,7 – 100,0)	99,4 (98,9 – 99,7)
Culture conventionnelle	78,3 (71,1 – 84,4)	99,9 (99,6 – 100,0)

Source : [Van Lint *et al.*, 2015]

Abréviations : IC95 % : Intervalle de confiance à 95 %; PCR : réaction en chaîne par polymérase (de l'anglais *polymerase chain reaction*).

Selon la conclusion des auteurs, la PCR multiplexe est un test rapide, sensible et à haut débit permettant l'identification des agents les plus fréquemment responsables des gastroentérites bactériennes.

5.1.2 L'étude de Wiemer et ses collaborateurs [2011]

L'objectif de cette étude était de valider une PCR multiplexe en temps réel utilisant des sondes d'hydrolyse permettant la détection simultanée des principales bactéries responsables de diarrhées, soit *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp./*E. coli* entéro-invasive et *Yersinia* spp. Au total, 393 échantillons de selles provenant de patients atteints de diarrhée, sans historique récent de voyage à l'extérieur, ont été analysés par PCR multiplexe et par culture conventionnelle.

Des 393 échantillons cliniques analysés, 201 (51 %) étaient positifs par culture, dont 173 positifs pour au moins une bactérie ciblée par les amorces de la PCR multiplexe. De ces derniers, 168 ont été correctement identifiés par PCR multiplexe. Sur les 5 échantillons cliniques positifs par culture et négatifs par PCR multiplexe (3 pour *Salmonella* spp. et 2 pour *C. jejuni*), 3 correspondaient à une inhibition de la réaction, pour un taux global d'inhibition de la PCR de 1,7 % (3 sur 173) et une sensibilité clinique globale de 99 % (tableau 4). Des 192 échantillons négatifs par culture, la PCR multiplexe

a permis de détecter 8 infections additionnelles, soit 2 par *Shigella*, 1 par *Salmonella* et 5 par *Campylobacter jejuni*.

Tableau 4 Sensibilité de la PCR multiplexe par rapport à la culture bactérienne

PATHOGÈNES	ÉCHANTILLONS POSITIFS, N		SENSIBILITÉ DU MULTIPLEXE, %
	CULTURE	PCR MULTIPLEXE	
Bactéries ciblées par la PCR multiplexe et la culture			
Salmonella spp.	74	71	96
Shigella spp./ECEI	8	8	100
Campylobacter jejuni	81	79	97,5
Yersinia spp.	10	10	100

Source : [Wiemer *et al.*, 2011]

Abréviation : ECEI : *E. coli* entéro-invasive

Selon la conclusion des auteurs, la PCR multiplexe en temps réel permet l'obtention rapide d'informations fiables pour la prise en charge clinique et épidémiologique de ces cas de diarrhée. Elle pourrait particulièrement être utile comme outil supplémentaire dans le diagnostic des entéropathogènes et la prise en charge des patients pour qui le temps est un facteur limitant.

5.1.3 L'étude de Van Lint et ses collaborateurs [2016]

Cette étude, qui fait suite à celle présentée précédemment [Van Lint *et al.*, 2015], avait pour objectif de développer un algorithme de diagnostic des principaux entéropathogènes bactériens. Dans un premier temps, une PCR multiplexe était effectuée sur tous les échantillons. Par la suite, une culture des échantillons positifs pour *Salmonella*, *Shigella*/EIEC ou *Yersinia enterocolitica* était effectuée aux fins d'évaluation de la susceptibilité antimicrobienne et de surveillance de la santé publique (étape non nécessaire pour *C. jejuni*). Au total, 7 008 échantillons de selles ont été analysés sur deux périodes distinctes de 12 mois. Au cours de la première période, le diagnostic était uniquement effectué par culture conventionnelle (n = 3 455), alors que dans la seconde période, la PCR multiplexe en temps réel était utilisée en combinaison avec une culture des échantillons positifs (n = 3 553). Les paramètres d'évaluation étaient le temps de réponse et le taux de détection entre la culture et la PCR multiplexe. Les auteurs ont également évalué l'effet du temps d'entreposage des échantillons sur la performance de la culture guidée par les résultats de la PCR multiplexe.

La PCR multiplexe a permis de diminuer significativement le temps de réponse par rapport à la culture conventionnelle (29 heures contre 73 heures; $p < 0,001$). Selon des calculs basés sur l'analyse de 3 500 échantillons par année, l'implantation de la PCR multiplexe pour les quatre pathogènes ciblés aurait permis de réduire le temps de travail de 13 heures par semaine, soit une réduction de plus de 11 minutes par échantillon. Le

taux global de positivité a également été amélioré de 72 % (4,98 % contre 8,56 %; $p < 0,0001$). Aucune co-infection n'a été détectée par culture conventionnelle alors que six ont été détectées par PCR multiplexe. Le tableau 5 présente la comparaison des taux d'échantillons positifs pour chacun des pathogènes ciblés.

Tableau 5 Comparaison des taux de positivité entre la culture conventionnelle et la PCR multiplexe

PATHOGÈNE	ÉCHANTILLONS POSITIFS, N (%)		VALEUR P
	CULTURE	PCR MULTIPLEXE	
<i>Salmonella</i> spp.	28 (0,81)	47 (1,32)	0,048
<i>Shigella</i> spp./ECEI	5 (0,14)	41 (1,15)	< 0,0001
<i>Campylobacter jejuni</i>	132 (3,82)	217 (6,11)	< 0,0001
<i>Yersinia enterocolitica</i>	6 (0,17)	5 (0,14)	NS
TOTAL	172 (4,98)	304 (8,56)	< 0,0001

Source : [Van Lint *et al.*, 2016]

Abréviations : ECEI : *E. coli* entéro-invasive; N : nombre; NS : non significatif

Suivant une période d'essai de l'algorithme de 12 mois, des cultures positives ont été obtenues dans 71,0 % des PCR multiplexes positives, dont 80,9 % pour *Salmonella*, 60,9 % pour *Shigella*/ECEI et 60,0 % pour *Y. enterocolitica*. Le nombre de cycles nécessaire à l'amplification des échantillons positifs par PCR multiplexe et négatifs par culture était significativement plus élevé que celui des échantillons avec une culture positive (valeur Cq moyenne de 25,5 contre 19,9; $p = 0,0003$). Selon les auteurs, les échantillons dont la charge bactérienne est plus faible sont plus susceptibles d'être négatifs en culture, ce qui suggère que la PCR multiplexe est plus sensible que la culture. Toutefois, les auteurs soulignent que la PCR peut détecter les acides nucléiques résiduels d'infections précédentes ou à la suite d'une antibiothérapie efficace et générer un résultat positif en l'absence de bactéries viables. Les résultats positifs avec un seuil de détection élevé (Cq élevé) doivent donc être interprétés avec précaution.

Les auteurs ont également évalué l'effet du temps d'entreposage des échantillons à 4 °C sur les taux de positivité des cultures. Pour ce faire, des échantillons de selles inoculées à l'aide de souches de référence pour *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia enterocolitica* ont été analysés. Le nombre de bactéries viables est demeuré stable 3 jours pour *Salmonella typhimurium* et 24 heures pour *Shigella boydii* (reconnue pour sa faible viabilité *in vitro*). À l'opposé, l'entreposage prolongé des échantillons contenant la bactérie *Yersinia enterocolitica* a eu un effet positif sur la récupération par culture, attribuable au fait qu'elle peut croître à des températures variant de -2 °C à 42 °C. En effet, un échantillon dilué 10 millions de fois (10^{-7}), négatif en culture avant l'entreposage, était positif au jour 3. Au jour 7, le nombre de bactéries viables avait encore augmenté.

Selon les auteurs, la PCR multiplexe est une technique idéale lors de l'utilisation d'une approche syndromique pour le dépistage d'agents pathogènes. Elle permet de tester simultanément plusieurs pathogènes potentiellement responsables des symptômes non spécifiques de la gastroentérite, est plus sensible que la culture, et permet de diminuer la charge de travail de laboratoire en limitant les cultures aux échantillons avec PCR positif. Toutefois, la durée de conservation des échantillons avant la mise en culture affecte le taux de positivité de celle-ci, et ce, différemment selon l'espèce bactérienne. Selon les auteurs, afin d'éviter un échec de culture suivant un résultat PCR positif, il est impératif de réduire autant que possible le temps entre l'obtention du résultat PCR et la mise en culture.

5.1.4 L'étude de Boer et ses collaborateurs [2010]

Cette étude avait pour objectif d'évaluer une approche par criblage moléculaire (MSA, de l'anglais *Molecular Screening Approach*) pour la détection de cinq pathogènes entériques, incluant *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* productrice de Shiga-toxine (ECEH), *Shigella* spp./*E. coli* entéro-invasive (ECEI), ainsi que *Giardia lamblia*, en vue d'une utilisation de routine dans un laboratoire clinique de microbiologie. L'algorithme proposé consistait en deux PCR multiplexes suivi d'une culture (ou d'une recherche microscopique pour *Giardia*) effectuée uniquement sur les échantillons positifs ou sur ceux ayant présenté une inhibition de la réaction PCR. L'étude présente les résultats et l'expérience avec cet algorithme sur une période de 2 ans (2007 à 2008). Au total, 28 185 échantillons cliniques de selles provenant de patients suspectés de gastroentérites infectieuses acquises en communauté ou en milieu hospitalier, âgés de 0 à 104 ans (moyenne de 40 ans), ont été analysés. De ces échantillons, 13 974 ont été analysés par l'approche moléculaire et 14 211 par les méthodes conventionnelles.

Des échantillons analysés, 3 602 (12,8 %) ont été trouvés positifs par l'une ou l'autre des méthodes. Le taux de détection de l'approche moléculaire était significativement plus élevé, avec 2 689 (19,2 %) échantillons positifs contre 913 (6,4 %) pour les méthodes conventionnelles ($p < 0,001$). Le taux d'inhibition des PCR multiplexes a été établi à 1,8 %. Le taux de détection de toutes les bactéries ciblées a été significativement amélioré ($p < 0,001$) à l'exception de *Salmonella enterica* (tableau 6). Selon les auteurs, ceci pourrait être attribuable à l'utilisation d'un milieu d'enrichissement sélectif des salmonelles avant la mise en culture. Par conséquent, même de faibles charges de *S. enterica* peuvent être détectées par culture conventionnelle.

Tableau 6 Taux de positivité des échantillons de selles selon la méthode de détection employée

PATHOGENE	TAUX D'ÉCHANTILLONS POSITIFS, %		VALEUR P
	CULTURE (N = 14 211)	PCR MULTIPLEXE (N = 13 974)	
<i>Salmonella enterica</i>	3,1	3,0	0,66
<i>Shigella</i> spp./ECEI	0,2	1,4	< 0,001
<i>Campylobacter jejuni</i>	5,3	8,1	< 0,001
ECEH	0,2	1,9	< 0,001

Source : [De Boer et al., 2010]

Abréviations : ECEH : *E. coli* entérohémorragique productrice de Shiga-toxine (ou STEC, de l'anglais *Shiga-toxin producing E. coli*); ECEI : *E. coli* entéro-invasive

Parmi les raisons avancées par les auteurs pour expliquer l'augmentation du taux de positivité de la PCR multiplexe par rapport à la culture, il y a le fait que la PCR teste systématiquement tous les pathogènes visés alors que les demandes effectuées pour la culture d'entéropathogènes peuvent se restreindre à certaines bactéries. De plus, l'état non cultivable mais viable de *Campylobacter jejuni*⁹⁷ et la viabilité limitée de *Shigella* une fois à l'extérieur du corps humain peuvent compromettre la sensibilité de la culture.

Le taux de détection d'infections mixtes était plus élevé avec la PCR multiplexe qu'avec les méthodes conventionnelles (0,9 % contre 0,02 %). Des 130 (0,9 %) infections mixtes détectées par PCR multiplexe, 22 (16,9 %) ont été confirmées par les méthodes conventionnelles, alors qu'à elles seules, ces dernières n'en auraient détecté que 3 (0,02 %).

La performance de cette approche en deux temps variait notablement entre les différents agents pathogènes ciblés. La culture a permis de confirmer 89 % des *S. enterica* et 77 % des *C. jejuni* trouvés positifs par PCR multiplexe. Seulement 17 % à 18 % des échantillons positifs pour l'*E. coli* entérohémorragique productrice de Shiga-toxine (ECEH) et de *Shigella/E. coli* entéro-invasive (ECEI) ont été confirmés par culture. Selon les auteurs, ceci pourrait s'expliquer par une sensibilité et une spécificité sous-optimale des milieux de culture, une sensibilité accrue de la PCR par rapport à la culture et le fait qu'il n'y ait aucune méthode de routine pour la culture de l'ECEI.

Par ailleurs, la valeur médiane du cycle seuil (C_T) de détection des pathogènes des échantillons positifs confirmés par les méthodes conventionnelles était significativement

⁹⁷ *Campylobacter jejuni* comporte une morphologie vibrioïde (viable et cultivable) et une morphologie coccoïde (viable et non cultivable). Cette dernière est un état de dormance qui serait responsable d'une sous-estimation du nombre de bactéries viables lors des analyses microbiologiques, notamment lors des décomptes d'unités formatrices de colonie (UFC) sur gélose [Rollins 1986, Bovill 1997, Nogva 2000, Rudi 2004].

plus faible que celle des échantillons non confirmés par ces méthodes. Les auteurs ont souligné que de faibles quantités d'acides nucléiques bactériens dans des échantillons cliniques pourraient témoigner d'une infection passée ou asymptomatique.

Selon la conclusion des auteurs, cette étude a montré que les PCR multiplexes, utilisées de façon routinière dans un laboratoire de microbiologie clinique, permettent d'améliorer la performance des tests en termes de vitesse et de sensibilité de détection des entéropathogènes bactériens. L'étude montre également que la présence de ces pathogènes est fréquente dans les échantillons de selles, toutefois, la signification clinique de certains de ces résultats reste à établir.

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. Toutefois, il est évident que l'identification précise des entéropathogènes responsables de l'épisode diarrhéique au moyen de la technique proposée influence les décisions thérapeutiques, notamment concernant la pertinence de la prise d'antibiotiques.

5.4 Validité analytique

Les quatre études présentées précédemment comportaient des données de validation analytique [Van Lint *et al.*, 2016; Van Lint *et al.*, 2015; Wiemer *et al.*, 2011; De Boer *et al.*, 2010]. Une étude supplémentaire, portant uniquement sur la validation analytique d'une PCR en temps réel dans la détection des bactéries entériques, est également présentée [Barletta *et al.*, 2013].

5.4.1 Les études de Van Lint et ses collaborateurs [2015; 2016]

La spécificité des amorces utilisées pour la PCR multiplexe développée par Van Lint et ses collaborateurs [2015] a été vérifiée à l'aide du logiciel d'alignement de séquences BLAST (de l'anglais *Basic Local Alignment Search Tool*)⁹⁸. Les produits PCR obtenus à partir d'échantillons contrôles (inoculés avec des souches de référence) ont été analysés par électrophorèse afin de vérifier la taille des amplicons et séquencés par un établissement commercial. Les résultats de ces analyses ont démontré une concordance parfaite entre la taille et la séquence des produits obtenus et ceux attendus.

La limite de détection (ou LOD, de l'anglais *limit of detection*) de la PCR multiplexe a été déterminée à l'aide de dilutions séquentielles (1/10) d'échantillons de selles liquides inoculées à l'aide d'une unité formatrice de colonie (UFC) de chacun des agents pathogènes ciblés. Les UFC utilisées provenaient de souches de référence ATCC

⁹⁸ Logiciel disponible sur le site officiel du National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponible à l'adresse suivante : <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

(American Type Culture and Collection) cultivées sur gélose. Chacune des dilutions a été cultivée sur gélose afin de déterminer sa concentration (UFC/ml). Plusieurs fractions de chaque dilution ont ensuite été soumises à une extraction d'ADN suivi d'une amplification par la PCR multiplexe afin de vérifier si les différentes concentrations pouvaient être détectées. Dépendamment de la bactérie ciblée, la sensibilité analytique de la PCR multiplexe variait de 61 à 5 528 UFC/ml (tableau 7).

Tableau 7 Sensibilité analytique de la PCR multiplexe

PATHOGENE	LIMITE DE DÉTECTION, UFC/ML
<i>Campylobacter jejuni</i>	87
<i>Shigella sonnei</i>	61
<i>Salmonella typhimurium</i>	5 528
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1 306

Source : Van Lint [2015]

Abréviation : UFC : unité formatrice de colonie

La robustesse de la méthode PCR a été confirmée en évaluant la variabilité inter-échantillon (n = 12) de la méthode d'échantillonnage (ESwap) et la variabilité intra-essai par l'analyse d'une série d'échantillons positifs en triplicata. Le nombre de cycles d'amplification nécessaire à la détection de la bactérie ciblée (de l'anglais *quantitative cycle* ou Cq)⁹⁹ des PCR individuelles a été utilisé pour déterminer le coefficient de variation (CV) de la méthode. Tous les CV étaient inférieurs à 3,5 %, avec une valeur moyenne de 1,77 %. La variabilité était indépendante de l'organisme ciblé [Van Lint 2016].

L'étude de Wiemer et ses collaborateurs [2011]

La spécificité analytique de la PCR multiplexe développée par Wiemer et ses collaborateurs a été effectuée à l'aide de 137 souches et isolats bactériens caractérisés. Une spécificité de 100 % a été observée (absence de signaux faux positifs ou de réaction croisée).

La sensibilité analytique a été déterminée par dilutions séquentielles de souches de référence en phase logarithmique de croissance. Des aliquotes des dilutions bactériennes (500 µl) ont ensuite été cultivées sur gélose et le nombre de UFC/ml a été déterminé. D'autres aliquotes ont été utilisées pour inoculer des échantillons de selles de volontaires en santé, l'ADN a été extraite puis soumis aux amplifications PCR. Aucune différence significative n'a été observée entre la sensibilité des PCR

⁹⁹ Pour les analyses de PCR en temps réel, les valeurs Cp (de l'anglais *crossing point*), C_T (de l'anglais *threshold cycle*) ou Cq (de l'anglais *quantification cycle*) sont utilisées afin de déterminer le nombre de cycles nécessaire à la détection de l'ADN ciblé. Elles correspondent au point auquel la courbe d'amplification de la PCR traverse la ligne de bruit de fond ou le cycle auquel la courbure de la courbe d'amplification est maximale.

individuelles et multiplexes selon le nombre de cycles d'amplification nécessaire à la détection de la bactérie ciblée (de l'anglais *threshold cycle* ou C_T).

La précision intra- et inter-essai a été évaluée par l'analyse du coefficient de variation (CV) du cycle seuil d'amplification (C_T) des contrôles positifs pour chacune des bactéries ciblées. Les données de sensibilité et de robustesse sont présentées au tableau 8. L'efficacité de la réaction s'élevait à 94 % pour *Salmonella* spp. et *Campylobacter jejuni* et 99 % pour *Yersinia enterocolitica* et *Shigella* spp.

Tableau 8 Sensibilité et précision analytique de la PCR multiplexe

PATHOGÈNE	LIMITE DE DÉTECTION, UFC/ML	PRÉCISION	
		INTRA-ESSAI	INTER-ESSAI
<i>Campylobacter jejuni</i>	$3,41 \times 10^3$	0,02	0,03
<i>Salmonella</i> spp.	$4,13 \times 10^4$	0,01	0,01
<i>Shigella</i> spp./ECEI	$2,83 \times 10^5$	0,02	0,01
<i>Yersinia enterocolitica</i>	$4,33 \times 10^5$	0,01	0,01

Source : Wiemer [2011]

Abréviations : ECEI : *E. coli* entéro-invasive; spp. : espèces; UFC : unité formatrice de colonie

L'étude de Barletta et ses collaborateurs [2013]

Cette étude avait pour objectif de développer et de valider un test PCR multiplexe en temps réel pour l'identification simultanée de 3 pathogènes entériques communs causant la diarrhée inflammatoire, soit *Salmonella* spp., *Shigella* spp. et *Campylobacter* spp. Pour ce faire, les auteurs ont utilisé 147 souches cliniques de référence précédemment identifiées par sérologie, analyses biochimiques et PCR en temps réel pour *E. coli* diarrhéogène. Ces références incluaient 25 *Salmonella*, 48 *Shigella*, 40 *Campylobacter* et 34 autres entéropathogènes comme contrôles négatifs (*Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus* et divers *E. coli*).

L'ADN utilisé pour la validation de la PCR multiplexe a été purifié de sous-cultures faites à partir de géloses congelées. La sensibilité analytique était de 97,5 % (39/40) pour *Campylobacter* et de 100 % pour *Salmonella* et *Shigella*. Une spécificité de 97,1 % a été obtenue, attribuable à une réaction croisée causant un faux positif pour *Shigella* (1/34).

La limite de détection (LOD) et l'efficacité de l'amplification ont été évaluées par l'analyse d'échantillons de selles (100 mg), provenant de volontaires en bonne santé, inoculés à l'aide d'aliquotes provenant de dilutions séquentielles de chacun des entéropathogènes ciblés (équivalent de 10^0 à 10^7 UFC). La PCR multiplexe a détecté la présence de *Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter* dans des concentrations variant de 10^3 à 10^7 UFC/g de selles. Selon l'analyse de la pente, l'efficacité de l'amplification a été évaluée à

100,3 %, 91,7 % et 99,0 % pour *Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter*, respectivement¹⁰⁰.

Afin d'évaluer la capacité du PCR multiplexe à détecter plusieurs pathogènes dans un même échantillon de selles, deux infections mixtes ont été simulées, soit une infection double (*Salmonella* et *Shigella*) et une triple (*Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter*). L'analyse des courbes de fusion (émission de fluorescence en fonction de la température) a révélé la présence d'un seul produit PCR par fluorophore et une absence de compétition entre les couples d'amorces.

Selon les auteurs, ce test est une méthode simple, rapide, sensible et peu coûteuse qui permet la détection simultanée de ces trois entéropathogènes. Les auteurs soulignent toutefois que ce type d'analyse comporte certaines limites. Tout d'abord, bien que les séquences ciblées proviennent de régions fortement conservées de gènes de virulence, les amorces utilisées pourraient ne pas détecter de nouvelles variantes de ces gènes et produire des faux négatifs. Deuxièmement, le présent test identifie également les *E. coli* entéro-invasives (ECEI) puisque ces dernières, tout comme les *Shigella*, comportent le gène *ipaH*. Le choix des amorces et la validation de leur spécificité sont donc des étapes déterminantes.

L'étude de Boer et ses collaborateurs [2010]

La spécificité et la sensibilité analytique de la PCR multiplexe développée par de Boer et ses collaborateurs a été évaluée à l'aide de 147 souches de référence incluant 33 *Salmonella* spp., 6 *Campylobacter* spp., 35 *E. coli* productrices de Shiga-toxine, 24 *Shigella* spp., 13 *E. coli* entéro-invasives, ainsi que 36 autres espèces intestinales non ciblées par le test afin d'évaluer la réactivité croisée. Une sensibilité et une spécificité de 100 % ont été observées. La limite de détection variait de 10^2 à 10^4 UFC/g de selles selon le pathogène ciblé.

La performance clinique de la PCR multiplexe a été évaluée à l'aide de 828 échantillons cliniques de selles dont certains ont été testés prospectivement et d'autres rétrospectivement. Au total, 278 échantillons ont été trouvés positifs par méthodes conventionnelles et 338 par PCR multiplexe. La sensibilité clinique de la PCR multiplexe par rapport aux méthodes conventionnelles était de 98,2 % (273/278), avec un taux d'inhibition de l'amplification PCR de 5 %.

¹⁰⁰ Une réaction efficace à 100 % génère une pente de -3,32. La valeur des pentes était de -3 315 (100,3 %), -3 538 (91,7 %) et -3 347 (99,0 %) pour *Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter*, respectivement [Barletta et al., 2013].

5.5 Données fournies par le demandeur

Aucune donnée provenant d'études de validation analytique n'a été fournie par le demandeur. En raison du coût élevé de ces études, le demandeur procédera à la validation seulement une fois l'aval du ministère reçu.

La validation sera effectuée au CHU Sainte-Justine en collaboration avec le LSPQ et possiblement les laboratoires de santé publique d'autres provinces (dont Terre-Neuve-et-Labrador) afin d'analyser environ 200 selles incluant une variété de pathogènes différents. Une comparaison de deux techniques de PCR en temps réel pour la détection des bactéries et des virus ciblés sera effectuée, soit celle développée au Laboratoire de microbiologie et de santé publique de Terre-Neuve-et-Labrador et la technique commerciale LightMix^{MC} (Roche).

Un plan préliminaire d'évaluation de la validité analytique a été élaboré et comporte les suggestions suivantes¹⁰¹ :

5.5.1 Optimisation de la technique d'extraction d'acides nucléiques

Comparaison de différentes techniques d'extraction d'acides nucléiques (ADN et ARN) en utilisant le système d'extraction automatisé Maxwell^{MC} de Promega pour déterminer quelle méthode permet d'obtenir la plus grande quantité d'acides nucléiques pour les dix virus et bactéries ciblés.

5.5.2 Limite de détection

Comparaison de la limite de détection des deux techniques en utilisant des échantillons de selles inoculés avec des quantités connues des bactéries ciblées. Des souches références obtenues de l'American Type Culture and Collection (ATCC) pourront aussi être mises à contribution au besoin. La reproductibilité analytique sera intrinsèquement évaluée au cours du processus de détermination de la limite de détection qui consiste à effectuer les analyses de manière répliquée.

5.5.3 Vérification analytique

Évaluation de la sensibilité et la spécificité des deux techniques en testant vingt échantillons positifs pour chacun des dix microorganismes ciblés, incluant des co-infections. Ces échantillons seront soit des échantillons cliniques positifs identifiés par la technique utilisée actuellement au laboratoire (culture bactérienne) ou des échantillons de selles négatifs dans lesquels des quantités connues des microorganismes ciblés auront été ajoutées.

La spécificité analytique sera intrinsèquement évaluée au cours du processus de validation puisque tous les entéropathogènes analysés sont systématiquement testés par toutes les paires d'amorces. Après cette validation analytique, la technique offrant la meilleure performance sera choisie pour une étude prospective.

¹⁰¹ Informations tirées d'une communication officielle transmise à l'INESSS, en date du 15 juin 2017, par le demandeur, D^r Christian Renaud.

5.5.4 Étude prospective

Étude comparative de la technique de PCR en temps réel choisie avec la technique utilisée actuellement au laboratoire (culture bactérienne et PCR Shiga-toxine) sur toutes les analyses demandées en bactériologie pendant 3 mois (ce qui représente environ 500 échantillons). Tous les résultats discordants seront analysés par la seconde technique de PCR en temps réel. Un résultat sera considéré positif s'il est positif par au moins deux techniques.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* du test permettant la détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe au CHU Sainte-Justine. 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'experts¹⁰². L'évaluation des coûts est présentée au tableau 9. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- La détection moléculaire des entéropathogènes bactériens, telle que proposée par le demandeur, ciblerait tous les patients avec une diarrhée chronique ou des selles sanglantes.
- L'analyse serait utilisée en 1^{re} intention en remplacement de la culture de selles (code : 40 263). Seuls les cas positifs de *Salmonella* et *Shigella*, Shiga-toxine (vérotoxine) seraient confirmés par culture de selles pour les programmes de surveillance de santé publique. La fréquence de positivité est estimée entre 5 % à 10 %.
- Par ailleurs, il est possible qu'une inhibition de la réaction enzymatique se produise au cours de l'analyse PCR proposée. Ainsi, les analyses pour lesquelles un tel scénario est observé devront nécessairement être effectuées en culture de selles. Cela représente environ 3 % des analyses PCR multiplexe.
- Dans les situations où la culture de selles sera réalisée, la recherche d'isolats suspects sera effectuée dans tous les cas (codes : 40 126 et 40 127).
- La détection de Shiga-toxines produite par *Escherichia coli* (code : 45 040) à l'aide d'un TAAN serait remplacée (VP 13,4).
- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec.
- Ainsi, il est prévu que 2 150 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement.

¹⁰² Les experts sont D^r Christian Renaud, pédiatre microbiologiste infectiologue au CHU Sainte-Justine (demandeur), D^r Christian Lavallée, microbiologiste-infectiologue à l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (lecteur externe), D^r Jean Longtin, microbiologiste en chef au LSPQ-INSPQ et M. Hugues Charest, biologiste moléculaire au LSPQ.

- Deux valeurs pondérées sont proposées par le demandeur. La première inclut une extraction d'ADN bactérien et est estimée à 22,78, alors que la seconde est évaluée à 12,75 et n'inclut pas d'extraction d'ADN. Cette étape est plutôt remplacée par un bouillon d'enrichissement tel qu'effectué actuellement pour la PCR Shiga-toxine.
- La valeur pondérée de la culture de selles est de 12,3 pour l'année 2017-18.

Tableau 9 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe pour le CHU Sainte-Justine

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : <u>sans</u> l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe				
Analyses culture de selles (40 263)	2 150	2 150	2 150	6 450
Coûts	26 445 \$	26 445 \$	26 445 \$	79 335 \$
TAAN STEC (45040)	2 150	2 150	2 150	6 450
Coûts	28 810 \$	28 810 \$	28 810 \$	86 430 \$
Recherche isolats suspects (40 126 et 40 127)	215	215	215	645
Coûts	1 075 \$	1 075 \$	1 075 \$	3 225 \$
TOTAL	56 330 \$	56 330 \$	56 330 \$	168 990 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe à une valeur pondérée de 12,75				
Analyses PCR multiplexe	2 150	2 150	2 150	6 450
Coûts	27 413 \$	27 413 \$	27 413 \$	82 239 \$
Analyses culture de selles (40 263) Cas positifs et inhibition PCR	200	200	200	600
Coûts	2 460 \$	2 460 \$	2 460 \$	7 380 \$
Recherche isolats suspects (40 126 et 40 127)	200	200	200	600
Coûts	1 000 \$	1 000 \$	1 000 \$	3 000 \$
Impact brut	30 873 \$	30 873 \$	30 873 \$	92 619 \$
Impact net	-25 457 \$	-25 457 \$	-25 457 \$	-76 371 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			-80 148 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			-71 358 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe à une valeur pondérée de 22,78				
Analyses PCR multiplexe	2 150	2 150	2 150	6 450
Coûts	48 977 \$	48 977 \$	48 977 \$	146 931 \$
Analyses culture de selles (40 263) Cas positifs et inhibition PCR	200	200	200	600
Coûts	2 460 \$	2 460 \$	2 460 \$	7 380 \$
Recherche isolats suspects (40 126 et 40 127)	200	200	200	600
Coûts	1 000 \$	1 000 \$	1 000 \$	3 000 \$
Impact brut	52 437 \$	52 437 \$	52 437 \$	157 311 \$
Impact net	- 3 893 \$	- 3 893 \$	- 3 893 \$	-11 679 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			-12 446 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			-11 178 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe pourrait générer une réduction de coûts d'environ 25 000 \$ par année pour un total de 76 000 \$ pour les trois premières années, et ce, si l'extraction d'ADN n'est pas réalisée lors de la procédure. Toutefois, si une extraction d'ADN devait être nécessaire, la réduction de coûts serait moindre, soit d'environ 4 000 \$ par année pour un total de 11 000 \$ pour les trois premières années.

Advenant que l'analyse puisse être implantée pour répondre aux besoins de l'ensemble de la province, cela pourrait générer une réduction de coûts allant de 264 000 \$ à 1,7 M\$ par année pour un total de 792 000 \$ à 5,1 M\$ pour les trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les analyses moléculaires utilisant la PCR permettent de détecter de faibles quantités d'acides nucléiques, incluant celui d'organismes parfois non viables, produisant généralement plus de résultats positifs, mais d'une importance clinique incertaine (possibles faux positifs) [Freeman *et al.*, 2017; Van Lint *et al.*, 2016]. Toutefois, au Canada, la grande sensibilité de la PCR et le risque de faux positifs ne constitue pas un enjeu pour la détection des entéropathogènes. En effet, les microorganismes testés, qui sont parfois endémiques dans d'autres populations, ne font pas partie de la flore normale de la population locale et doivent être traités lorsqu'ils sont associés à des symptômes gastro-intestinaux graves. En limitant l'analyse aux patients présentant ces symptômes, le risque de faux positifs associé à une trop grande sensibilité de la méthode est négligeable¹⁰³.

Par ailleurs, bien que les séquences utilisées comme cibles sont généralement celles de régions fortement conservées de gènes de virulence, les amorces utilisées pourraient ne pas détecter de nouveaux variants de ces gènes et produire des faux négatifs [Barletta *et al.*, 2013]. Les experts responsables de ces analyses doivent donc pouvoir offrir des analyses supplémentaires en cas de résultats négatifs malgré des symptômes cliniques clairs comme la présence de sang dans les selles [Van Lint *et al.*, 2016]. De plus, aux fins de surveillance, de sécurité et de santé publique, il est impératif que les laboratoires cliniques poursuivent la soumission d'isolats et de souches d'organismes pathogènes aux autorités en santé.

¹⁰³ Information partagée par le Dr Yansouni, infectiologue au Centre universitaire de santé McGill, membre du Comité scientifique permanent des analyses de biologie médicale (CSABM) de l'INESSS (rencontre du 5 décembre 2017).

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

L'Association of Public Health Laboratories (APHL, États-Unis) a publié en 2015 une liste de faits et de recommandations pour les laboratoires cliniques et les agences de santé publique concernant l'utilisation des tests moléculaires indépendants de la culture dans le diagnostic des maladies entériques et d'origine alimentaire¹⁰⁴. Les faits suivants sont notamment mentionnés :

- Les tests moléculaires indépendants de la culture sont plus rapides et procurent des données dans des délais cliniquement plus pertinents pour le clinicien et son patient.
- Les analyses moléculaires sont basées sur une approche syndromique et permettent de détecter simultanément une large gamme de pathogènes qui, traditionnellement, requiert de multiples procédures microbiologiques.
- Les analyses moléculaires offrent de l'information sur les pathogènes qui ne sont pas cultivables comme *Cryptosporidium* et norovirus, ou des agents pour lesquels les cultures traditionnelles sont moins sensibles, complexes ou plus lentes.
- Ces analyses peuvent être plus économiques que les techniques microbiologiques classiques et requièrent moins de personnel.

Toutefois, l'APHL recommande entre autres de continuer d'obtenir et de soumettre les isolats de pathogènes responsables d'intoxication alimentaire aux autorités locales et régionales en santé. Si des isolats ne sont pas disponibles, suite à l'implantation de techniques moléculaires indépendantes de la culture, du matériel clinique (selles, bouillon) devrait pouvoir être soumis aux autorités.

Selon le Public Health England, diverses méthodes comportant des sensibilités et des spécificités variables sont disponibles pour l'analyse des matières fécales. Les méthodes moléculaires (p. ex. la PCR multiplexe) et les immunoessais enzymatiques (ELISA) peuvent être supérieurs aux méthodes conventionnelles et devraient donc être considérés lorsqu'ils sont disponibles, après validation, afin d'assurer une interprétation clinique appropriée [Public Health England, 2013].

L'American College of Gastroenterology (ACG) recommande la recherche de l'agent étiologique de la gastroentérite seulement chez les patients atteints d'une diarrhée modérée à sévère depuis plus de 7 jours et susceptibles de propager la maladie. Les approches technologiques favorisées sont les cultures bactériennes, la microscopie avec ou sans immunofluorescence et la détection antigénique. D'autres approches homologuées par la FDA peuvent toutefois être considérées en cas d'échec des approches traditionnelles [Riddle *et al.*, 2016].

¹⁰⁴ Information tirée du *CIDT fact sheet*, publié en 2015 par l'Association of Public Health Laboratories (APHL), disponible à l'adresse suivante : https://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/FS_CIDTFactSheet_Feb2015.pdf (consulté le 17 septembre 2017).

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection moléculaire des entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe

La recommandation de l'INESSS

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

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ L'utilité clinique de l'analyse est reconnue.

ANNEXE A : Trousses commerciales homologuées par Santé Canada pour la détection d'entéropathogènes bactériens par PCR multiplexe

TROUSSE (FOURNISSEUR)	NUMÉRO DE L'HOMOLOGATION (DATE)	ENTÉROPATHOGÈNES DÉTECTÉS (N)
xTAG ^{MC} Gastrointestinal Panel (GPP) (Luminex Molecular Diagnostic, Toronto, Canada)	88086 (18 janvier 2012)	Virus (3) : Adenovirus (40 et 41), Norovirus (GI et GII), Rotavirus A. Bactéries (9) : <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> et <i>C. lari</i>), <i>Clostridium difficile</i> toxine A/B, <i>Escherichia coli</i> O157, <i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC) LT et ST, <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> producteur de Shiga-toxines (STEC) stx1 et stx2, <i>Shigella</i> (<i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> et <i>S. dysenteriae</i>), <i>Vibrio cholerae</i> (gène de la toxine du choléra), <i>Yersinia enterocolitica</i> . Parasites (3) : <i>Giardia lamblia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Cryptosporidium</i> (<i>C. parvu</i> et <i>C. hominis</i>).
FilmArray ^{MC} Gastrointestinal (GI) Panel (BioFire Diagnostic, LLC Salt Lake City, États- Unis)	95822 (23 septembre 2015)	Virus (5) : Adénovirus F (40 et 41), Astrovirus, Norovirus (GI et GII), Rotavirus A, Sapovirus (I, II, IV et V). Bactéries (12) : <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> et <i>C. upsaliensis</i>), <i>Clostridium difficile</i> (toxine A et B), <i>Plesiomonas shigelloides</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> et <i>V. cholerae</i>), <i>E. coli</i> entéroaggrégative (EAEC), <i>E. coli</i> entéropathogène (EPEC), <i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC) lt et st, <i>E. coli</i> producteur de shiga-toxines (STEC) stx1 et stx2, <i>E. coli</i> O157, <i>Shigella/E. coli</i> entéroinvasive (EIEC). Parasites (4) : <i>Cryptosporidium</i> , <i>Cyclospora cayetanensis</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Giardia lamblia</i> .
BD Max Enteric Bacterial Panel (Geneohm Sciences Canada Inc., Québec)	93 543 (10 juillet 2014)	Bactéries (4) : <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp./ <i>E. coli</i> entéroinvasive (EIEC), <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> et <i>C. coli</i>), <i>E. coli</i> producteur de Shiga-toxines (STEC).
BD Max Extended Enteric Bacterial Panel (Geneohm Sciences Canada Inc., Québec)	99 000 (20 avril 2017)	Bactéries (8) : <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp./ <i>E. coli</i> entéroinvasive (EIEC), <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> et <i>C. coli</i>), <i>E. coli</i> producteur de Shiga-toxines (STEC), <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC), <i>Plesiomonas shigelloides</i> , <i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> et <i>V. cholerae</i>).
Rida Gene Bacterial Stool Panel (R-Biopharm AG, Darmstadt, Allemagne)	91 376 (23 mai 2013)	Bactéries (3) : <i>Salmonella</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., <i>Yersinia enterocolitica</i> .

ANNEXE B : Coproculture pour la detection de bacteries pathogenes à partir d'échantillons de selles

MÉDIUM	UTILITÉ ET COMMENTAIRES
Bouillon tout usage	
Bouillon Gram-négatif	Enrichissement sélectif des bâtonnets à Gram négatif, en particulier <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i> (sous-culture après 6 à 8 heures d'incubation), peut être utilisé pour le dosage d'ECEH par EIA
Bouillon au sélénite F	Enrichissement sélectif des bâtonnets à Gram négatif, en particulier <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i> (sous-culture après 18 à 24 heures d'incubation, peut inhiber la croissance de certaines espèces de <i>Shigella</i>)
Bouillon organisme-spécifique	
Eau peptonée alcaline	Enrichissement sélectif de <i>Vibrio</i> (sous-culture après 24 heures d'incubation).
Bouillon MacConkey	Enrichissement de <i>Yersinia enterocolitica</i> si incubé à 25 °C, peut être utilisé pour le dosage d'ECEH par EIA
Gélose tout usage	
Hektoen	Milieu sélectif des bâtonnets à Gram négatif, permet de différencier les fermenteurs de lactose (jaunes-oranges) des non-fermenteurs (bleus ou verts), la production de H ₂ S peut être détectée (précipité noir)
MacConkey	Milieu sélectif des bâtonnets à Gram négatif, permet de différencier les fermenteurs de lactose (roses) des non-fermenteurs (incolores)
Salmonella-shigella	Milieu sélectif des bâtonnets à Gram négatif, permet de différencier les fermenteurs de lactose (roses-rouges) des non-fermenteurs (incolores), la production de H ₂ S peut être détectée (précipité noir)
Xylose-lysine-désoxycholate	Milieu sélectif des bâtonnets à Gram négatif, permet de différencier les fermenteurs de lactose (jaunes) des non-fermenteurs (rouges), la production de H ₂ S peut être détectée (précipité noir)
Gélose hautement sélective/différentielle	
Sulfite de bismuth	Isolation de <i>Salmonella</i> , incluant <i>S. typhi</i> (noire)
Vert brillant	Isolation de <i>Salmonella</i> (rouge, rose ou blanche avec un halo rouge), inhibition de <i>S. typhi</i> et <i>S. paratyphi</i>
Gélose sang avec ampiciline	Isolation d' <i>Aeromonas</i>
Gélose sang Campy	Isolation de <i>Campylobacter</i>
CVA Campy	
Campylosel	
Charbon sélective	
Charbon Céfoxitine-désoxycholate	
Cefsulodine-Irgasan-Novobiocine	Isolation de <i>Yersinia enterocolitica</i> ou <i>Aeromonas</i> (centre rouge foncé et marge transparente)
CHROMagar <i>Salmonella</i>	Isolation de <i>Salmonella</i> (mauve-rose)
CHROMagar O157	Isolation d'ECEH sérotype O157 (mauve)
CHROMagar ECEH	Isolation des 6 ECEH les plus communes (mauves)
Cyclosérine-céfoxitine-jaune d'œuf/cyclosérine-céfoxitine-fructose	Isolation de <i>Clostridium difficile</i>

HardyChrom SS	Isolation de <i>Salmonella</i> (noire) et <i>Shigella</i> (bleue sarcelle)
Inositol-vert brillant-sels biliares	Isolation de <i>Plesiomonas shigelloides</i> (blanc à rose)
MacConkey avec sorbitol ou tellurite de potassium au céfixime	Isolation d'ECEH sérotype O157 (incolore)
Thiosulfate-citrate-sels biliares-sucrose	Isolation de <i>Vibrio cholera</i> (jaune), <i>V. parahaemolyticus</i> (verte) et inhibition de certaines <i>Vibrio</i>

Source : [Humphries et Linscott, 2015]

Abréviations : ECEH : *E. coli* entérohémorragique; EIA : immunodosage enzymatique (de l'anglais *enzyme immunoassay*)

RÉFÉRENCES

- Barletta F, Mercado EH, Lluque A, Ruiz J, Cleary TG, Ochoa TJ. Multiplex real-time PCR for detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella*. *J Clin Microbiol* 2013;51(9):2822-9.
- De Boer RF, Ott A, Kesztyus B, Kooistra-Smid AMD. Improved detection of five major gastrointestinal pathogens by use of a molecular screening approach. *Journal of Clinical Microbiology* 2010;48 (11):4140-6.
- Fletcher SM, McLaws ML, Ellis JT. Prevalence of gastrointestinal pathogens in developed and developing countries: systematic review and meta-analysis. *J Public Health Res* 2013;2(1):42-53.
- Freeman K, Tsertsivadze A, Taylor-Phillips S, McCarthy N, Mistry H, Manuel R, Mason J. Agreement between gastrointestinal panel testing and standard microbiology methods for detecting pathogens in suspected infectious gastroenteritis: Test evaluation and meta-analysis in the absence of a reference standard. *PLoS One* 2017;12(3):e0173196.
- Humphries RM et Linscott AJ. Laboratory diagnosis of bacterial gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 2015;28(1):3-31.
- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations - Gastroenteritis and Diarrhoea. Public Health England; 2013. Issue date: 23.12.13. Disponible à : https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/344110/S_7i1.pdf
- Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am J Gastroenterol* 2016;111(5):602-22.
- Van Lint P, De Witte E, De Henau H, De Muynck A, Verstraeten L, Van Herendael B, Weekx S. Evaluation of a real-time multiplex PCR for the simultaneous detection of *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp./EIEC, and *Yersinia enterocolitica* in fecal samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34(3):535-42.
- Van Lint P, De Witte E, Ursi JP, Van Herendael B, Van Schaeren J. A screening algorithm for diagnosing bacterial gastroenteritis by real-time PCR in combination with guided culture. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;85(2):255-9.
- Wiemer D, Loderstaedt U, von Wulffen H, Priesnitz S, Fischer M, Tannich E, Hagen RM. Real-time multiplex PCR for simultaneous detection of *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia* species in fecal samples. *Int J Med Microbiol* 2011;301(7):577-84.

DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES ENTÉROPATHOGENES VIRAUX PAR PCR MULTIPLÈXE (RÉFÉRENCE - 2017.01.007B)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge 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, l'expert consulté est :

- **D^r Christian Lavallée**, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont.

2 RÉSUMÉ

La détection des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe a pour objectif d'identifier les agents étiologiques des diarrhées chez les patients vulnérables tels que les immunosupprimés, les patients atteints de maladie intestinale inflammatoire (MII), les prématurés avec entérocolite nécrosante néonatale et les patients en contexte d'éclosion de gastro-entérites. Cette analyse « maison » (ou LDT, de l'anglais *Laboratory Developed Test*) n'est pas encore prête à être mise en service, c'est-à-dire qu'elle est encore à l'étape de la planification. Les étapes nécessaires à la validation clinique et analytique de l'analyse seront entreprises par le centre demandeur uniquement à la suite d'un avis favorable de l'INESSS concernant l'utilité clinique de celle-ci. À terme, cette analyse permettrait la détection des adénovirus 40/41 et totaux, du rotavirus, du norovirus, du sapovirus et de l'astrovirus.

Selon le demandeur, le regroupement de plusieurs analyses moléculaires permettrait notamment d'alléger le processus diagnostic, de diminuer le temps de réponse, d'identifier les causes infectieuses tout en évitant des examens plus invasifs, d'optimiser l'efficacité du laboratoire et de réduire le nombre ou la durée des traitements antibiotiques.

Une revue de la documentation scientifique a permis de recenser trois études traitant de la détection d'entéropathogènes viraux à l'aide d'une technique de PCR multiplexe en temps réel de type LDT. Selon les résultats présentés, la PCR multiplexe est plus simple, plus fiable et procure un taux de positivité significativement plus élevé que les techniques microbiologiques conventionnelles telles que la détection d'antigènes et la microscopie. Lorsque comparé aux analyses PCR individuelles, le multiplexage des tests n'a que peu ou pas d'effet sur les performances analytiques. Certains ont donné de meilleurs résultats par PCR multiplexe que par l'amplification individuelle des cibles moléculaires. Selon les résultats de validation analytique, la PCR multiplexe est une technique sensible, spécifique et robuste.

Pour le CHU Sainte-Justine, l'ajout de l'analyse pourrait générer une réduction des coûts d'environ 8 000 \$ par année pour un total de 24 000 \$ pour les trois premières années suivant son introduction. Advenant que l'analyse puisse être implantée pour répondre aux besoins de l'ensemble de la province, elle pourrait générer une réduction de coûts de près de 62 000 \$ par année pour un total de près de 185 000 \$ pour les trois premières années.

Selon l'Association of Public Health Laboratories (États-Unis), les tests moléculaires sont plus rapides, permettent de détecter simultanément plusieurs pathogènes, et procurent des données dans des délais cliniquement plus pertinents pour le clinicien et son patient. Ces analyses peuvent être plus économiques que les techniques microbiologiques classiques et requièrent moins de personnel. Selon le Public Health England, les méthodes moléculaires peuvent être supérieures aux méthodes conventionnelles et devraient être considérées lorsqu'elles sont disponibles. Au West of Scotland Specialist Virology Centre, afin de rationaliser le service d'analyses moléculaires, la plupart des

tests reposant sur une amplification PCR ont été multiplexés en fonction du syndrome ou du type d'échantillon. Ceci a permis d'améliorer la rapidité, le coût et le débit de tests en plus de simplifier les algorithmes d'analyses.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Détection des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe. L'analyse aura pour objectif d'identifier les agents étiologiques des diarrhées virales.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse « maison » (ou LDT, de l'anglais *Laboratory Developed Test*) n'est pas encore prête à être mise en service, c'est-à-dire qu'elle est encore à l'étape de la planification. Les étapes nécessaires à la validation clinique et analytique de l'analyse seront entreprises par le centre demandeur uniquement à la suite d'un avis favorable de l'INESSS concernant l'utilité clinique de celle-ci. Cette analyse qualitative consistera en l'amplification par PCR multiplexe en temps réel d'acides nucléiques spécifiques aux entéropathogènes viraux suivants :

- adénovirus 40/41 et totaux;
- rotavirus;
- norovirus;
- sapovirus;
- astrovirus.

Les résultats seraient de type qualitatif. L'analyse serait effectuée à tous les jours de la semaine avec un temps de roulement d'environ 24 heures. Un délai de moins de 24 heures pourrait être envisagé pour les patients admis à l'urgence et pour les patients immunosupprimés.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Un échantillon de selles fraîches, acheminé au laboratoire du CHU Sainte-Justine en pot stérile, serait utilisé pour l'extraction d'acides nucléiques préalablement à la détection des entéropathogènes viraux par amplification moléculaire.

3.4 Société ou concepteur

Il s'agit d'une analyse « maison » qui sera développée localement.

Le demandeur propose d'élaborer le protocole en collaboration avec l'Eastern Health de Terre-Neuve-et-Labrador, qui ont déjà développé et implanté une PCR multiplexe en temps réel pour le diagnostic clinique des entéropathogènes viraux et bactériens.

3.5 Homologation

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

Il existe toutefois des trousse commerciales homologuées par Santé Canada permettant la détection d'entéropathogènes par PCR multiplexe (annexe A).

3.6 Valeur pondérée : 45,17

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

La détection moléculaire des entéropathogènes viraux cible les patients vulnérables tels que les immunosupprimés avec diarrhée, les patients atteints de maladie intestinale inflammatoire (MII), les prématurés avec entérocolite nécrosante néonatale et les patients en contexte d'éclosion de gastro-entérites.

4.2 Description de la maladie visée

La gastro-entérite aiguë, accompagnée de diarrhées et de vomissements, est majoritairement de cause infectieuse, surtout virale, même si rarement identifiée. Elle touche principalement les enfants de moins de 5 ans. Parmi les autres agents infectieux possibles, on compte des bactéries et des parasites.

La gastro-entérite est une affection généralement bénigne, caractérisée par des selles plus liquides, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. Elle peut s'accompagner de sang ou de mucus dans les selles, de déshydratation, de fièvre et de céphalées. Les complications liées à la diarrhée varient selon l'agent causal. La principale complication est la déshydratation, qui peut s'accompagner d'un déséquilibre électrolytique et d'une hypoglycémie. La malabsorption survient rarement, mais peut persister plusieurs semaines après l'infection [Fletcher *et al.*, 2013].

La diarrhée peut se présenter sous trois formes [Fletcher *et al.*, 2013] :

- Diarrhée aiguë aqueuse habituellement associée au *Vibrio cholerae* et au rotavirus, qui dure plusieurs jours et pose un risque de déshydratation pouvant être fatal, particulièrement chez les jeunes enfants, les personnes âgées et les patients immunosupprimés.
- Diarrhée aiguë sanglante habituellement causée par *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* entérohémorragique ou d'autres microorganismes pouvant mener à la déshydratation (dommages intestinaux, sepsie et malnutrition).
- Diarrhée persistante qui dure 14 jours ou plus et est habituellement associée à des parasites. La période diarrhéique peut être fatale, particulièrement chez les jeunes enfants, les personnes âgées et les patients immunosupprimés.

Chez le jeune enfant (6 mois à 2 ans), les rotavirus sont la première cause de diarrhée. Ils provoquent souvent des épidémies hivernales extensives et sont responsables d'infections communautaires et nosocomiales. Chez l'adulte, les virus les plus souvent responsables de diarrhée sont les norovirus qui provoquent souvent des épidémies d'origine alimentaire ou hydrique. Les astrovirus sont également responsables de gastro-

entérites chez l'enfant, les personnes âgées et les immunosupprimés. Les adénovirus entériques sont responsables de gastro-entérites sans caractère saisonnier^{105 106 107}.

Maladies à déclarations obligatoires (MADO)¹⁰⁸

En 2015, 6 794 cas d'infections entériques ont été déclarés au Québec. Ces infections occupent le deuxième rang des maladies à déclaration obligatoire les plus fréquentes. La grande majorité est causée par des bactéries. En effet, les infections à *Campylobacter* représentent un peu plus du tiers des cas, alors que la salmonellose concerne un cas sur cinq.

Les épidémies de gastro-entérites demeurent fréquentes, avec 401 épisodes déclarés en 2015. On soupçonne souvent des virus d'en être responsables. Elles touchent plus fréquemment des milieux comme les services de garde éducatifs à l'enfance, les écoles ou les milieux de soins et d'hébergement.

Les données sur les maladies entériques procurent cependant une image partielle de ces infections, car seulement une fraction d'entre elles sont déclarées.

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Selon le demandeur, le CHU Sainte-Justine effectue annuellement environ 300 recherches antigéniques de rotavirus et d'adénovirus pour la gastro-entérite virale lors d'éclosions, ou fait appel au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) afin d'identifier la présence d'entéropathogènes viraux (environ 1 700 analyses en 2015). La totalité de ces analyses pourrait être effectuées par PCR multiplexe.

4.4 Situation actuelle

Selon les experts consultés¹⁰⁹, plusieurs centres effectuent la détection antigénique pour le rotavirus et l'adénovirus. Cette méthode comporterait toutefois une sensibilité discutable.

Certains centres font appel au LSPQ pour une détection d'entéropathogènes viraux par technique d'amplification des acides nucléiques (TAAN). Toutefois, les temps de réponse (deux à trois semaines) ne permettent pas d'assurer une prise en charge optimale des cas vulnérables et des épidémies.

¹⁰⁵ <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/viral-gastroenteritis/basics/risk-factors/con-20019350> (consulté le 6 novembre 2017).

¹⁰⁶ www.phac-aspc.gc.ca/fs-sa/fs-fi/norovirus-fra.php (consulté le 6 novembre 2017).

¹⁰⁷ <https://www.santemontreal.qc.ca/population/sante-de-a-a-z/gastroenterite-virale/> (consulté le 6 novembre 2017).

¹⁰⁸ Informations tirées du site du MSSS, disponible à l'adresse suivante :

www.msss.gouv.qc.ca/statistiques/rapport-dnsp/index.php?choixEtab%5B%5D=4&choixSujet%5B%5D=20 (consulté le 15 septembre 2017).

¹⁰⁹ Information obtenue auprès du D^r Christian Renaud, pédiatre microbiologiste infectiologue au CHU Sainte-Justine (demandeur), D^r Jean Longtin, microbiologiste en chef au LSPQ-INSPQ et M. Hugues Charest, biologiste moléculaire au LSPQ.

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 au CHU Sainte-Justine et au Québec, qui pourraient être remplacées par l'introduction de la PCR multiplexe permettant la détection d'entéropathogènes viraux.

Tableau 1 Portrait des analyses actuellement réalisées au CHU Sainte-Justine qui figurent au *Répertoire* et qui pourraient être remplacées par la détection d'entéropathogènes viraux par PCR multiplexe

CODE	ANALYSE*	VOLUMÉTRIE		VP	COÛTS (\$)	
		CHUSJ	QC		CHUSJ	QC
40 599	Adénovirus (Détection rapide sur spécimen clinique) (selles) (ELISA)	541	n. d.	16,6	8 981	n. d.
41 370	Rotavirus (détection rapide) (ELISA)	553	3 728	17	9 401	63 376
41 401	Virus spécimen gastro-intestinal (Culture cellulaire)	478	3 254	65	31 070	211 510

Abréviations : CHUSJ : CHU Sainte-Justine; ELISA : dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbant assay*); n. d. : données non disponibles; QC : province de Québec; VP : valeur pondérée

*Aucune analyse ne figure actuellement au *Répertoire* pour la détection de l'astrovirus, du norovirus et du sapovirus.

Il est également prévu par le demandeur que les analyses de détection du norovirus qu'il achemine annuellement au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) soient rapatriées à son établissement.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, les avantages cliniques du développement d'une PCR multiplexe pour la détection des entéropathogènes viraux sont les suivants :

- Faciliter le transfert de certaines analyses vers les centres serveurs en améliorant le temps de réalisation et la sensibilité de détection.
- Identifier une cause infectieuse chez certains patients tout en évitant des examens plus invasifs.
- Limiter les coûts d'analyses par PCR multiplexe en évitant d'avoir recours à une trousse commerciale plus coûteuse.
- Diminuer le temps de réponse pour ainsi permettre une meilleure prise en charge des patients avec pathologies gastro-intestinales comme les maladies intestinales inflammatoires (MII) et la maladie du greffon contre l'hôte, notamment en initiant le traitement d'immunosuppression plus rapidement.

- Alléger le processus diagnostic.
- Réduire le nombre ou la durée des traitements antibiotiques en présence démontrée d'entéropathogènes viraux.

4.7 Assurance qualité

Le demandeur prévoit participer aux différents programmes d'assurance qualité du College of American Pathologists (CAP) et du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour lesquels il existe des échanges interétablissements et des contrôles de qualité.

5 DONNÉES PUBLIÉES

Une revue de la documentation scientifique a permis de recenser trois études traitant de la détection d'entéropathogènes viraux à l'aide d'une technique de PCR multiplexe en temps réel développée en laboratoire [Bennett et Gunson, 2017; Jiang *et al.*, 2014; van Maarseveen *et al.*, 2010]. Précisons que seules les études utilisant une plateforme ouverte¹¹⁰, correspondant aux technologies que propose d'utiliser le demandeur, ont été retenues.

5.1 Valeur diagnostique

Parmi les études retenues, deux comparent la PCR multiplexe aux PCR individuelles pour la détection de virus gastro-intestinaux [Bennett et Gunson, 2017; Jiang *et al.*, 2014] et une étude compare la PCR multiplexe à l'utilisation de méthodes conventionnelles telles que l'ELISA (de l'anglais *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), le RPHA (de l'anglais *Reverse Passive Haemagglutination*) et la microscopie électronique [van Maarseveen *et al.*, 2010] (tableau 2).

¹¹⁰ Ici, « plateforme ouverte » fait référence aux technologies accessibles qui permettent aux utilisateurs de développer de nouvelles applications dérivées, sans avoir obligatoirement recours aux chimies, réactifs, services ou appareils d'un fournisseur en particulier. Ces nouvelles applications pourront être effectuées sur d'autres plateformes ou technologies dites « ouvertes » qui ne proviennent pas nécessairement du même fournisseur.

Tableau 2 Études comparant la PCR multiplexe aux méthodes conventionnelles dans la détection d'entérovirus chez les patients suspectés de gastro-entérite virale

AUTEUR, ANNÉE (PAYS)	ÉCHANTILLONS, N	PATHOGÈNES DÉTECTÉS	TECHNOLOGIE (FOURNISSEUR)	COMPARATEUR
Bennett [2016] (Royaume- Uni)	2 420	▪ Sapovirus ▪ Rotavirus A ▪ Adénovirus ▪ Astrovirus	ABI Prism ^{MC} 7500 SDS (Applied Biosystems)	PCR individuelles validées pour chacun des virus
Jiang [2014] (Chine)	812	▪ Norovirus I/II ▪ Sapovirus I/II/IV/V ▪ Rotavirus A ▪ Adénovirus 40/41 ▪ Astrovirus	CFX96 ^{MC} Real- Time PCR System (Bio-Rad)	PCR individuelles commerciales
van Maarseven [2010] (Pays-Bas)	1 570	▪ Norovirus I/II ▪ Sapovirus ▪ Rotavirus ▪ Adénovirus 40/41 ▪ Astrovirus	IQ5 ^{MC} et CFX96 ^{MC} Real- Time Detection System (Bio-Rad)	Détection d'antigènes (Vikia ^{MC} Rota/Adeno) et microscopie électronique

5.1.1 L'étude de Bennett et ses collaborateurs [2017]

Cette étude avait pour objectifs de développer et de valider une PCR multiplexe en temps réel pour la détection simultanée, à partir d'échantillons de selles, de quatre virus responsables de gastro-entérites (adénovirus, astrovirus, rotavirus et sapovirus). La performance de l'analyse multiplexe a été comparée à celle des PCR individuelles utilisées pour le diagnostic des gastro-entérites virales au West of Scotland Specialist Virology Centre (WoSSVC) depuis 12 ans (utilisées depuis 2004).

Les résultats de 137 échantillons cliniques, analysés rétrospectivement par PCR multiplexe, ont été comparés à ceux précédemment obtenus avec les PCR individuelles de routine. Ces échantillons provenaient de patients de tous les groupes d'âge, mais principalement d'enfants et de personnes âgées. Selon les analyses individuelles, 35 échantillons étaient positifs pour l'adénovirus, 34 pour l'astrovirus, 35 pour le sapovirus et 33 pour le rotavirus. Tous ont été correctement identifiés par l'analyse multiplexe (concordance de 100 %). La plupart des échantillons avaient un C_T (nombre de cycles d'amplification nécessaire à la détection de l'ADN cible) comparable entre les deux approches.

Après 10 mois d'utilisation de la PCR multiplexe, en remplacement des PCR individuelles, le laboratoire avait analysé 2 420 échantillons de selles pour ces 4 virus. De

ces échantillons, 325 se sont avérés positifs. L'adénovirus était responsable de la majorité des positifs détectés (52 %), suivis du sapovirus (20 %), de l'astrovirus (16 %) et du rotavirus (12 %).

Selon la conclusion des auteurs, ces données mettent en évidence l'importance de rechercher ces pathogènes viraux. De plus, le multiplexage des analyses offertes au WoSSVC en fonction du type d'échantillons ou du syndrome a permis, selon les auteurs, de simplifier le service de routine et de réduire les coûts globaux par une diminution des investigations et de l'utilisation inutile d'antibiotiques. Aussi, cette façon de faire nécessiterait moins de personnel, de réactifs et réduirait l'utilisation des appareils, ce qui permettrait une gestion plus efficace des ressources [Bennett et Gunson, 2017; Gunson *et al.*, 2008].

5.1.2 L'étude de Jiang et ses collaborateurs [2014]

L'objectif de cette étude était de développer une PCR multiplexe en temps réel hautement sensible permettant de détecter simultanément 5 entérovirus, soit le norovirus I/II, le sapovirus I/II/IV/V, le rotavirus A, l'adénovirus 40/41 et l'astrovirus. Les paramètres de performance de la RT-PCR multiplexe ont été comparés à ceux de RT-PCR individuelles.

Au total, 812 échantillons cliniques de selles ont été analysés par la RT-PCR multiplexe et les résultats ont été comparés à ceux obtenus à l'aide des PCR individuelles commerciales (ZJ Bio-Tech, Chine). Parmi les 812 échantillons, 372 étaient positifs incluant 29 co-infections. Par rapport aux PCR individuelles, la sensibilité de la PCR multiplexe variait de 75 à 100 % et la spécificité de 99 à 100 % selon le virus ciblé. Le taux de corrélation entre les deux approches variait de 97,8 % à 100 %, avec un coefficient de corrélation (kappa) de 0,85 à 1,0 (tableau 3).

Tableau 3 Performances de la PCR multiplexe en temps réel par rapport aux PCR individuelles

VIRUS	RÉSULTAT DE LA PCR MULTIPLEXE	RÉSULTAT DE LA PCR MONOPLEXE		SENSIBILITÉ, %	SPÉCIFICITÉ, %	CONCORDANCE, %	VALEUR KAPPA
		Positif	Négatif				
Sapovirus	Positif	4	0	100,0	100,0	100,0	1,00
	Négatif	0	808				
Norovirus GI	Positif	6	0	75,0	100,0	99,7	0,85
	Négatif	2	804				
Rotavirus A	Positif	116	5	92,0	99,2	98,2	0,92
	Négatif	10	681				
Adénovirus	Positif	22	1	95,7	99,9	99,8	0,98
	Négatif	1	788				
Norovirus GII	Positif	190	6	94,0	99,0	97,8	0,94
	Négatif	12	604				
Astrovirus	Positif	8	1	88,9	99,9	99,8	0,88
	Négatif	1	802				

Source : [Jiang *et al.*, 2014]

Selon les auteurs, cette étude comporte une limitation majeure qui nécessitera une amélioration. Au total, 25 échantillons (2 norovirus GI, 10 rotavirus, 1 adénovirus et 12 norovirus GII) étaient positifs par PCR individuelles et négatifs par l'analyse multiplexe. Ceci serait attribuable à une dégradation des acides nucléiques avant leur analyse par la PCR multiplexe. Les auteurs mentionnent que plus d'échantillons cliniques seront collectés pour compléter la validation.

Selon la conclusion des auteurs, des méthodes de détection rapides et précises sont essentielles pour répondre aux épidémies de diarrhées virales et à la prise en charge des patients. Cette RT-PCR multiplexe a permis d'analyser plus de 90 échantillons en 3 heures. Selon les auteurs, cette méthode est simple, rapide, hautement sensible et spécifique. Elle peut être utilisée pour l'identification des agents pathogènes lors d'épidémies de maladies diarrhéiques virales et fournir les données pour les études épidémiologiques, en plus de permettre d'adapter les soins aux patients et de renforcer la santé publique.

5.1.3 L'étude de van Maarseven et ses collaborateurs [2010]

L'objectif de cette étude était de développer deux PCR multiplexes en temps réel afin d'améliorer le diagnostic simultané de cinq virus à partir d'échantillons de selles de patients suspectés de gastro-entérite virale. La validation clinique des PCR multiplexes a été effectuée rétrospectivement à partir de 239 échantillons reçus entre mars 2006 et février 2007. Une étude prospective a également été effectuée à partir de 1 570 échantillons cliniques transférés au laboratoire entre septembre 2007 et décembre 2009.

Les 239 échantillons rétrospectifs avaient été soumis à une détection antigénique de routine de l'adénovirus et du rotavirus (trousse commerciale Vikia^{MC} Rota/Adeno). Le taux de détection des pathogènes viraux était de 14 % avec la trousse Vikia^{MC} Rota/Adeno. Un aliquote conservé à -20 °C était disponible pour 218 des 239 échantillons. Le taux de détection était de 45 % avec les PCR multiplexes. Selon les auteurs, cette augmentation est principalement attribuable à l'inclusion du norovirus et de l'astrovirus dans les PCR multiplexes (non détectés par Vikia^{MC} Rota/Adeno), mais la sensibilité accrue des multiplexes aurait également contribué à cette augmentation, notamment pour l'adénovirus.

Au total, 8 échantillons positifs par Vikia^{MC} Rota/Adeno et négatifs par PCR multiplexes n'ont pu être confirmés par la PCR individuelle de confirmation ou par d'autres méthodes (culture, Rotalex^{MC}). Selon les auteurs, ces résultats mettent en doute la spécificité du test Vikia^{MC} Rota/Adeno telle que suggérée par les résultats d'autres études [Yan *et al.*, 2004; Rabenau *et al.*, 1998; Dennehy *et al.*, 1988]. Selon les auteurs, une dégradation des acides nucléiques est également possible pour ces échantillons rétrospectifs.

Sur les 1 570 échantillons prospectifs analysés à la suite de l'implantation du test, 486 (31 %) ont donné un résultat positif. De ces derniers, 23 (4,7 %) étaient positifs pour 2 virus et 2 (0,4 %) échantillons, provenant du même patient, étaient positifs

pour 3 virus. Le norovirus II était le plus fréquent (61,1 %), suivi par l'adénovirus (9,9 %), le rotavirus (9,3 %), l'astrovirus (6,0 %), le norovirus I (3,3%) et le sapovirus (0,4%).

Selon la conclusion des auteurs, ces deux PCR multiplexes en temps réel ont permis une amélioration significative du diagnostic des gastro-entérites virales. En effet, l'introduction de techniques plus sensibles permet d'augmenter significativement le taux de détection des virus entériques. Toutefois, la pertinence clinique des résultats positifs avec une valeur C_T élevée, suggérant une faible charge virale, reste à établir. Certaines études ont démontré la présence de pathogènes viraux dans des échantillons d'individus asymptomatiques, alors que les charges virales étaient plus élevées chez les patients symptomatiques [Amar *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2004; de Wit *et al.*, 2001].

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 premier de permettre le choix ou la modification d'un traitement. Toutefois, il est évident que l'identification précise des entéropathogènes responsables de l'épisode diarrhéique au moyen de la technique proposée influence les décisions thérapeutiques, notamment concernant la pertinence de la prise d'antibiotiques.

5.4 Validité analytique

5.4.1 L'étude de Bennett et ses collaborateurs [2017]

La spécificité analytique de la PCR multiplexe développée par Bennett et ses collaborateurs a été évaluée à l'aide d'un panel de 25 pathogènes communs¹¹¹. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Des témoins sans ADN (contrôles négatifs) ont également été testés pour s'assurer que l'analyse ne produisait pas de faux positifs.

¹¹¹ Incluant le virus de l'herpès humain (6 et 7), parvovirus B19, norovirus (GI et GII), entérovirus, paréchéovirus, cytomégalovirus, virus Epstein-Barr, virus de la rougeole, virus des oreillons, virus de la rubéole, influenza (A et B), influenza A H1N1, influenza A H1N1 H275Y, coronavirus (229E, OC43, NL63, HKU1), parainfluenza (1 à 4), rhinovirus, virus respiratoire syncytial (A et B), métapneumovirus humain (A et B), *Treponema pallidum* (syphilis), *Pneumocystis jirovecii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Clostridium difficile*, *Salmonella enteritidis*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum* et *Cyclospora*.

La sensibilité et la spécificité analytiques des deux approches ont également été comparées par l'analyse d'un panel du Quality Control for Molecular Diagnostic (QCMD)¹¹² comportant 9 échantillons de référence de norovirus, d'adénovirus, d'astrovirus, de rotavirus et de sapovirus. L'identification de tous les échantillons à une valeur C_T similaire suggère que la PCR multiplexe et les PCR individuelles comportent des sensibilités comparables.

Les limites de détection (ou LOD, de l'anglais *limit of detection*) de chacune des cibles de la PCR multiplexe ont été directement comparées à celles des PCR individuelles à l'aide d'une série de dilutions des contrôles positifs pour chacun des virus. Les LOD étaient comparables entre les deux approches. Une plus grande sensibilité a même été obtenue pour l'adénovirus et l'astrovirus avec la PCR multiplexe par rapport aux PCR individuelles (tableau 4).

Tableau 4 Comparaison de la sensibilité analytique (LOD) de la PCR multiplexe aux PCR individuelles

VIRUS	LIMITE DE DÉTECTION, DILUTION	
	PCR INDIVIDUELLES	PCR MULTIPLEXE
Adénovirus	10^{-3}	10^{-4}
Astrovirus	10^{-3}	10^{-5}
Rotavirus	10^{-5}	10^{-5}
Sapovirus	10^{-6}	10^{-5}

Source : [Bennett et Gunson, 2017]

La variabilité inter- et intra-essai a été évaluée par l'analyse de 3 contrôles positifs (charge virale forte, modérée et faible) pour chacun des virus, analysé 6 fois lors d'un même test (répétabilité) et 6 fois lors de tests indépendants (reproductibilité). Sur la base des faibles valeurs de CV obtenues (tableau 5), les auteurs suggèrent que le test est robuste même à des valeurs C_T plus faibles.

¹¹² Le QCMD est une organisation internationale à but non lucratif dont la mission est d'améliorer la qualité des diagnostics moléculaires grâce aux évaluations externes de la qualité, aux tests de compétence, et à d'autres services pour la qualité des analyses moléculaires. Informations tirées du site officiel du QCMD, disponibles à l'adresse suivante (consulté le 16 octobre 2017) : <https://www.qcmd.org/>

Tableau 5 Évaluation de la répétabilité (variabilité intra-essai) et de la reproductibilité (variabilité inter-essai) de la PCR multiplexe

ANALYSE	CHARGE VIRALE	ADÉNOVIRUS		ASTROVIRUS		ROTAVIRUS		SAPOVIRUS	
		C _T moyen	CV	C _T moyen	CV	C _T moyen	CV	C _T moyen	CV
Intra-essai	Forte	22,3	0,004 79	18,14	0,005 29	18,87	0,009 03	18,51	0,006 56
	Modérée	27,83	0,008 29	24,2	0,007 88	24,66	0,015 25	24,16	0,006 12
	Faible	33,93	0,018 47	34,13	0,010 37	34,6	0,008 87	30,75	0,011 06
Inter-essai	Forte	22,08	0,023 97	17,9	0,005 82	18,88	0,014 97	18,17	0,012 21
	Modérée	27,28	0,124 73	24,2	0,017 27	24,64	0,031 03	24,07	0,012 48
	Faible	34,29	0,017 35	32,14	0,148 54	31,8	0,021 64	30,67	0,013 64

Source : [Bennett 2016]

*La précision inter- et intra-essai a été évaluée par l'analyse du coefficient de variation (CV) du cycle seuil d'amplification (C_T) des contrôles positifs (charge virale forte, modérée et faible) pour chacun des virus ciblés.

Trois contrôles pour chacune des cibles ont été testés en triplicata sur 12 réactions afin de déterminer la linéarité de la méthode. Selon l'analyse de la pente des courbes standards (valeurs C_T en fonction de la quantité d'ADN de départ), l'efficacité de l'amplification a été évaluée à près de 100 % avec des pentes¹¹³ comprises entre -3,1 et -3,6.

Selon les auteurs, le multiplexage des quatre PCR n'a eu aucun effet négatif sur la performance de l'un ou l'autre des composants individuels. L'addition de cibles pour l'astrovirus et le rotavirus n'a pas entraîné de perte de sensibilité. En fait, certains ont donné de meilleurs résultats par PCR multiplexe que par PCR individuelle. L'analyse multiplexe s'est avérée spécifique par l'évaluation de panels de contrôles de qualité et d'agents pathogènes couramment rencontrés. De plus, la performance de l'analyse multiplexe a été déterminée par l'évaluation de la sensibilité analytique, de la linéarité et de l'efficacité, de la sensibilité et la spécificité clinique de l'analyse multiplexe.

5.4.2 L'étude de Jiang et ses collaborateurs [2014]

La spécificité analytique de cette PCR multiplexe a été évaluée par l'analyse de 18 espèces d'entéropathogènes¹¹⁴. Aucune réaction croisée n'a été observée (100 % spécificité) et les cinq virus ciblés ont été correctement identifiés par la PCR multiplexe.

Une étude de concordance a été effectuée (voir tableau 4, section 5.1.2). Le taux de corrélation entre les deux approches variait de 97,8 % à 100 % avec un coefficient de corrélation (kappa) de 0,85 à 1,0.

¹¹³ Une réaction efficace à 100 % génère une pente de -3,32 [Barletta et al., 2013].

¹¹⁴ Incluant *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, l'entérovirus humain 71 (maladie pieds-mains-bouche) et 10 échantillons sélectifs de virus entériques [Jiang et al., 2014].

La limite de détection a été de 10 copies/μl pour chacun des 5 virus recherchés. La reproductibilité a été évaluée par l'analyse d'échantillons en triplicata, avec un CV des valeurs C_T de 0,06 % à 2,3 %.

5.4.3 L'étude de van Maarseveen et ses collaborateurs [2010]

La spécificité théorique des amorces et des sondes utilisées pour les deux PCR multiplexes développées par van Maarseveen et ses collaborateurs a été vérifiée à l'aide du logiciel d'alignement de séquences BLAST (de l'anglais *Basic Local Alignment Search Tool*)¹¹⁵. Aucun site pouvant théoriquement mener au mauvais appariement des amorces et ainsi causer une amplification non spécifique n'a été détecté.

La spécificité analytique a été évaluée à l'aide d'un panel de 20 pathogènes (parasites, bactéries et virus)¹¹⁶ potentiellement présents dans les selles. Aucune amplification non spécifique n'a été observée.

La sensibilité des deux PCR multiplexes et des PCR individuelles a été évaluée à partir d'acides nucléiques viraux isolés d'échantillons positifs pour les virus ciblés. La LOD des PCR multiplexes a été comparée à celles des PCR individuelles par l'analyse, en quatre copies, d'une série de dilutions d'ADNc/ADN des virus d'intérêt. Une sensibilité comparable a été observée pour tous les virus à l'exception de l'adénovirus 41, dont la plus faible dilution (10^{-4}) a été amplifiée par la PCR individuelle uniquement (absence d'amplification dans la PCR multiplexe).

Deux contrôles internes ont été ajoutés aux échantillons cliniques afin de contrôler la procédure de purification des acides nucléiques et l'inhibition potentielle de la réaction d'amplification. Une inhibition de la réaction PCR a été observée chez 4,6 % des échantillons (11/239). Une dilution (1/10) a permis de remédier à l'inhibition pour 6 échantillons alors que 5 échantillons présentaient toujours une absence d'amplification, pour un total de 2,1 % d'inhibition non résolue.

¹¹⁵ Logiciel disponible sur le site officiel du National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponible à l'adresse suivante : <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

¹¹⁶ Incluant *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bienersi*, *Giardia lamblia*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* (O157) producteur de Shiga-toxine, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, parechovirus type 1, poliovirus type 1, coxsackievirus A24, entérovirus 71 et échovirus 13 [van Maarseveen et al., 2010].

5.5 Données fournies par le demandeur

Aucune donnée provenant d'études de validation analytique n'a été fournie par le demandeur. En raison du coût élevé de ces études, le demandeur procédera à la validation seulement une fois l'aval du ministère reçu, le cas échéant.

La validation sera effectuée au CHU Sainte-Justine en collaboration avec le LSPQ et possiblement les laboratoires de santé publique d'autres provinces (dont Terre-Neuve-et-Labrador) afin d'analyser environ 200 échantillons de selles incluant une variété de pathogènes différents. Les études de validation des PCR multiplexes visant la détection des entéropathogènes viraux et bactériens seront réalisées au même moment. Une comparaison de deux techniques de PCR en temps réel pour la détection des bactéries et des virus ciblés sera effectuée, soit celle développée au Laboratoire de microbiologie et de santé publique de Terre-Neuve-et-Labrador et la technique commerciale LightMix^{MC} (Roche).

Un plan préliminaire d'évaluation de la validité analytique a été élaboré et comporte les suggestions suivantes¹¹⁷ :

5.5.1 Optimisation de la technique d'extraction d'acides nucléiques

Comparaison de différentes techniques d'extraction d'acides nucléiques (ADN et ARN) en utilisant le système d'extraction automatisé Maxwell^{MC} de Promega pour déterminer quelle méthode permet d'obtenir la plus grande quantité d'acides nucléiques pour les entéropathogènes ciblés.

5.5.2 Limite de détection

Comparaison de la limite de détection en utilisant des échantillons de selles inoculés avec des quantités connues de virus. Des souches références obtenues de l'American Type Culture and Collection (ATCC) pourront aussi être mises à contribution au besoin. La reproductibilité analytique sera intrinsèquement évaluée au cours du processus de détermination de la limite de détection qui consiste à effectuer les analyses de manière répliquée.

5.5.3 Vérification analytique

Évaluation de la sensibilité et la spécificité de la technique en testant vingt échantillons positifs pour chacun des virus ciblés, incluant des co-infections. Ces échantillons seront soit des échantillons cliniques positifs identifiés par la technique utilisée actuellement au laboratoire, ou des échantillons de selles négatifs dans lesquels des quantités connues des microorganismes ciblés auront été ajoutées.

La spécificité analytique sera intrinsèquement évaluée au cours du processus de validation puisque tous les entéropathogènes analysés sont systématiquement testés par toutes les paires d'amorces.

¹¹⁷ Information tirée d'une communication officielle transmise à l'INESSS, en date du 15 juin 2017, par le demandeur, D^r Christian Renaud.

5.5.4 Étude prospective

Aucune étude prospective ne sera effectuée pour la recherche d'entéropathogènes viraux puisque la validation analytique sera principalement effectuée avec des échantillons cliniques de patients et compte tenu de la demande plus faible de cette analyse.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* du test permettant la détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe au CHU Sainte-Justine. 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'experts¹¹⁸.

L'évaluation des coûts est présentée au tableau 6. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- La détection moléculaire des entéropathogènes viraux, telle que proposée par le demandeur, ciblerait les infections entériques virales chroniques chez les patients immunosupprimés et permettrait l'identification des diarrhées virales chez les patients avec une maladie intestinale inflammatoire. Elle serait aussi réalisée chez les nouveau-nés prématurés avec une entérocolite nécrosante ainsi qu'en contexte d'éclosion virale.
- L'ajout de cette analyse au *Répertoire* permettrait le remplacement des tests utilisés pour la détection des adénovirus et des rotavirus par ELISA (codes 40599 et 41370, respectivement). Selon l'opinion d'experts, il est aussi anticipé que la moitié des cultures de selles virales (code 41401) serait remplacée.
- La détection des norovirus, des sapovirus et des astrovirus inclus dans la PCR multiplexe proposée par le demandeur ne figure pas au *Répertoire* et n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec en 2015-2016.
- Toutefois, il est prévu par le demandeur que les analyses de détection du norovirus qu'il achemine annuellement au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) soient rapatriées à son établissement. Cela représente près de 30 tests par année.
- Ainsi, il est estimé que 575 analyses seraient réalisées au CHU Sainte-Justine au cours des trois prochaines années, respectivement.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 45,17.

¹¹⁸ Les experts sont D^r Christian Renaud, pédiatre microbiologiste infectiologue au CHU Sainte-Justine (demandeur), D^r Christian Lavallée, microbiologiste-infectiologue à l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (lecteur externe), D^r Jean Longtin, microbiologiste en chef au LSPQ-INSPQ et M. Hugues Charest, biologiste moléculaire au LSPQ.

Tableau 6 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe au CHU Sainte-Justine

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : <u>sans</u> l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe				
Analyses adénovirus (40 599)	541	541	541	1 623
Coûts	8 981 \$	8 981 \$	8 981 \$	26 943 \$
Analyses rotavirus (41 370)	553	553	553	1 659
Coûts	9 401 \$	9 401 \$	9 401 \$	28 203 \$
Analyses culture virale selles (41 401)	480	480	480	1 440
Coûts	31 200 \$	31 200 \$	31 200 \$	93 600 \$
Total	49 582 \$	49 582 \$	49 582 \$	148 746 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe				
Analyses PCR multiplexe	575	575	575	1 725
Coûts	25 973 \$	25 973 \$	25 973 \$	77 919 \$
Analyse selles virales (41 401)	240	240	240	720
Coûts	15 600 \$	15 600 \$	15 600 \$	46 800 \$
Impact brut	41 573 \$	41 573 \$	41 573 \$	124 719 \$
Impact net	-8 009 \$	-8 009 \$	-8 009 \$	-24 027 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			-18 689 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			-35 214 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe pourrait générer une réduction de coûts d'environ 8 000 \$ par année pour un total de 24 000 \$ pour les trois premières années.

Advenant que l'analyse puisse être implantée pour répondre aux besoins de l'ensemble de la province, cela pourrait générer une réduction de coûts de près de 62 000 \$ par année, pour un total de près de 185 000 \$ pour les trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les analyses moléculaires utilisant la PCR permettent de détecter de faibles quantités d'ADN, incluant celui d'organismes parfois non viables, produisant généralement plus de résultats positifs, mais d'une importance clinique incertaine (possibles faux positifs) [Freeman *et al.*, 2017; Van Lint *et al.*, 2016]. Toutefois, au Canada, la grande sensibilité de la PCR et le risque de faux positifs ne constitue pas un enjeu pour la détection des entéropathogènes. En effet, les microorganismes testés, qui sont parfois endémiques dans d'autres populations, ne font pas partie de la flore normale de la population locale et doivent être traités lorsqu'ils sont associés à des symptômes gastro-intestinaux graves. En limitant l'analyse aux patients présentant ces symptômes, le risque de faux positifs associé à une trop grande sensibilité de la méthode est négligeable¹¹⁹.

Aussi, bien que les séquences utilisées comme cibles sont généralement celles de régions fortement conservées de gènes de virulence, les amorces utilisées pourraient ne pas détecter de nouveaux variants de ces gènes et produire des faux négatifs [Barletta *et al.*, 2013]. Les experts responsables de ces analyses doivent donc pouvoir offrir des analyses supplémentaires en cas de résultats négatifs malgré des symptômes cliniques clairs comme la présence de sang dans les selles [Van Lint *et al.*, 2016]. De plus, aux fins de surveillance, de sécurité et de santé publique, il est impératif que les laboratoires cliniques poursuivent la soumission d'isolats et de souches d'organismes pathogènes aux autorités en santé.

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

L'Association of Public Health Laboratories (APHL, États-Unis) a publié en 2015 une liste de faits et de recommandations pour les laboratoires cliniques et les agences de santé publique concernant l'utilisation des tests moléculaires indépendants de la culture dans le diagnostic des maladies entériques et d'origine alimentaire¹²⁰. Les faits suivants sont notamment mentionnés :

¹¹⁹ Information partagée par le Dr Yansouni, infectiologue au Centre universitaire de santé McGill, membre du Comité scientifique permanent des analyses de biologie médicale (CSABM) de l'INESSS (rencontre du 5 décembre 2017).

¹²⁰ Information tirée du *CIDT fact sheet*, publié en 2015 par l'Association of Public Health Laboratories (APHL), disponible à l'adresse suivante : https://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/FS_CIDTFactSheet_Feb2015.pdf (consulté le 17 septembre 2017).

- Les tests moléculaires indépendants de la culture sont plus rapides et procurent des données dans des délais cliniquement plus pertinents pour le clinicien et son patient.
- Les analyses moléculaires sont basées sur une approche syndromique et permettent de détecter simultanément une large gamme de pathogènes qui, traditionnellement, requiert de multiples procédures microbiologiques.
- Les analyses moléculaires offrent de l'information sur les pathogènes qui ne sont pas cultivables comme *Cryptosporidium* et norovirus, ou des agents pour lesquels les cultures traditionnelles sont moins sensibles, complexes ou plus lentes.
- Ces analyses peuvent être plus économiques que les techniques microbiologiques classiques et requièrent moins de personnel.

Selon le Public Health England, diverses méthodes comportant des sensibilités et des spécificités variables sont disponibles pour l'analyse des matières fécales. Les méthodes moléculaires (p. ex. la PCR multiplexe) et les immunoessais enzymatiques (ELISA) peuvent être supérieures aux méthodes conventionnelles et devraient donc être considérées lorsqu'elles sont disponibles, après validation, afin d'assurer une interprétation clinique appropriée [Public Health England, 2013].

L'American College of Gastroenterology (ACG) recommande la recherche de l'agent étiologique de la gastro-entérite seulement chez les patients atteints d'une diarrhée modérée à sévère depuis plus de 7 jours et susceptibles de propager la maladie. Les approches technologiques favorisées sont les cultures bactériennes, la microscopie avec ou sans immunofluorescence et la détection antigénique. D'autres approches homologuées par la FDA peuvent toutefois être considérées en cas d'échec des approches traditionnelles [Riddle *et al.*, 2016].

Au West of Scotland Specialist Virology Centre (WoSSVC), afin de rationaliser le service d'analyses moléculaires, la plupart des tests reposant sur une amplification PCR ont été multiplexés en fonction du syndrome ou du type d'échantillon. Ceci a permis d'améliorer la rapidité, le coût et le débit de tests en plus de simplifier les algorithmes d'analyses [Bennett et Gunson, 2017; Gunson *et al.*, 2008].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe

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 est reconnue.
- ✓ Cette analyse cible 2 situations particulières : personnes greffées et contexte d'éclosion.
- ✓ Les membres du comité émettent des réserves concernant la demande de hiérarchisation suprarégionale.

ANNEXE A : Trousses commerciales homologuées par Santé Canada pour la détection d'entéropathogènes par PCR multiplexe

TROUSSE (FOURNISSEUR)	NUMÉRO DE L'HOMOLOGATION (DATE)	ENTÉROPATHOGÈNES DÉTECTÉS (N)
xTAG ^{MC} Gastrointestinal Panel (GPP) (Luminex Molecular Diagnostic, Toronto, Canada)	88086 (18 janvier 2012)	Virus (3) : Adenovirus (40 et 41), Norovirus (GI et GII), Rotavirus A. Bactéries (9) : <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i>, <i>C. coli</i> et <i>C. lari</i>), <i>Clostridium difficile</i> toxine A/B, <i>Escherichia coli</i> O157, <i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC) LT et ST, <i>Salmonella</i>, <i>E. coli</i> producteur de Shiga-toxines (STEC) stx1 et stx2, <i>Shigella</i> (<i>S. boydii</i>, <i>S. sonnei</i>, <i>S. flexneri</i> et <i>S. dysenteriae</i>), <i>Vibrio cholerae</i> (gène de la toxine du choléra), <i>Yersinia enterocolitica</i>. Parasites (3) : <i>Giardia lamblia</i>, <i>Entamoeba histolytica</i>, <i>Cryptosporidium</i> (<i>C. parvu</i> et <i>C. hominis</i>).
FilmArray ^{MC} Gastrointestinal (GI) Panel (BioFire Diagnostic, LLC Salt Lake City, États- Unis)	95822 (23 septembre 2015)	Virus (5) : Adénovirus F (40 et 41), Astrovirus, Norovirus (GI et GII), Rotavirus A, Sapovirus (I, II, IV et V). Bactéries (12) : <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i>, <i>C. coli</i> et <i>C. upsaliensis</i>), <i>Clostridium difficile</i> (toxine A et B), <i>Plesiomonas shigelloides</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Yersinia enterocolitica</i>, <i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i>, <i>V. vulnificus</i> et <i>V. cholerae</i>), <i>E. coli</i> entéroaggrégative (EAEC), <i>E. coli</i> entéropathogène (EPEC), <i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC) lt et st, <i>E. coli</i> producteur de shiga-toxines (STEC) stx1 et stx2, <i>E. coli</i> O157, <i>Shigella/E. coli</i> entéroinvasive (EIEC). Parasites (4) : <i>Cryptosporidium</i>, <i>Cyclospora cayetanensis</i>, <i>Entamoeba histolytica</i>, <i>Giardia lamblia</i>.
FTD ^{MC} Viral Gastroenteritis (Fast Track Diagnostics Sch-Sur-Alzette, Luxembourg)	97 129 (15 juin 2016)	Virus (5) : Norovirus (GI et GII), Adenovirus, Astrovirus, Rotavirus, Sapovirus.

TROUSSE (FOURNISSEUR)	NUMÉRO DE L'HOMOLOGATION (DATE)	ENTÉROPATHOGÈNES DÉTECTÉS (N)
BD Max Enteric Bacterial Panel (Geneohm Sciences Canada Inc., Québec)	93 543 (10 juillet 2014)	Bactéries (4) : <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp./ <i>E. coli</i> entéroinvasive (EIEC), <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> et <i>C. coli</i>), <i>E. coli</i> producteur de Shiga-toxines (STEC).
BD Max Extended Enteric Bacterial Panel (Geneohm Sciences Canada Inc., Québec)	99 000 (20 avril 2017)	Bactéries (8) : <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp./ <i>E. coli</i> entéroinvasive (EIEC), <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> et <i>C. coli</i>), <i>E. coli</i> producteur de Shiga-toxines (STEC), <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC), <i>Plesiomonas shigelloides</i> , <i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> et <i>V. cholerae</i>).
Rida Gene Bacterial Stool Panel (R-Biopharm AG, Darmstadt, Allemagne)	91 376 (23 mai 2013)	Bactéries (3) : <i>Salmonella</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., <i>Yersinia enterocolitica</i> .

RÉFÉRENCES

- Amar CF, East CL, Gray J, Iturriza-Gomara M, Maclure EA, McLauchlin J. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26(5):311-23.
- Barletta F, Mercado EH, Lluque A, Ruiz J, Cleary TG, Ochoa TJ. Multiplex real-time PCR for detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella*. *J Clin Microbiol* 2013;51(9):2822-9.
- Bennett S et Gunson RN. The development of a multiplex real-time RT-PCR for the detection of adenovirus, astrovirus, rotavirus and sapovirus from stool samples. *J Virol Methods* 2017;242:30-4.
- de Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, Wannet WJ, Vinje J, van Leusden F, et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am J Epidemiol* 2001;154(7):666-74.
- Dennehy PH, Gauntlett DR, Tente WE. Comparison of nine commercial immunoassays for the detection of rotavirus in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1988;26(9):1630-4.
- Fletcher SM, McLaws ML, Ellis JT. Prevalence of gastrointestinal pathogens in developed and developing countries: systematic review and meta-analysis. *J Public Health Res* 2013;2(1):42-53.
- Freeman K, Tsertsvadze A, Taylor-Phillips S, McCarthy N, Mistry H, Manuel R, Mason J. Agreement between gastrointestinal panel testing and standard microbiology methods for detecting pathogens in suspected infectious gastroenteritis: Test evaluation and meta-analysis in the absence of a reference standard. *PLoS One* 2017;12(3):e0173196.
- Gunson RN, Bennett S, Maclean A, Carman WF. Using multiplex real time PCR in order to streamline a routine diagnostic service. *J Clin Virol* 2008;43(4):372-5.
- Jiang Y, Fang L, Shi X, Zhang H, Li Y, Lin Y, et al. Simultaneous detection of five enteric viruses associated with gastroenteritis by use of a PCR assay: a single real-time multiplex reaction and its clinical application. *J Clin Microbiol* 2014;52(4):1266-8.
- Kang G, Iturriza-Gomara M, Wheeler JG, Crystal P, Monica B, Ramani S, et al. Quantitation of group A rotavirus by real-time reverse-transcription-polymerase chain reaction: correlation with clinical severity in children in South India. *J Med Virol* 2004;73(1):118-22.
- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations - Gastroenteritis and Diarrhoea. Public Health England; 2013. Issue date: 23.12.13. Disponible à :

https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/344110/S_7i1.pdf

- Rabenau H, Knoll B, Allwinn R, Doerr HW, Weber B. Improvement of the specificity of enzyme immunoassays for the detection of rotavirus and adenovirus in fecal specimens. *Intervirology* 1998;41(2-3):55-62.
- Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am J Gastroenterol* 2016;111(5):602-22.
- Van Lint P, De Witte E, Ursi JP, Van Herendael B, Van Schaeren J. A screening algorithm for diagnosing bacterial gastroenteritis by real-time PCR in combination with guided culture. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;85(2):255-9.
- van Maarseveen NM, Wessels E, de Brouwer CS, Vossen AC, Claas EC. Diagnosis of viral gastroenteritis by simultaneous detection of Adenovirus group F, Astrovirus, Rotavirus group A, Norovirus genogroups I and II, and Sapovirus in two internally controlled multiplex real-time PCR assays. *J Clin Virol* 2010;49(3):205-10.
- Yan H, Nguyen TA, Phan TG, Okitsu S, Li Y, Ushijima H. Development of RT-multiplex PCR assay for detection of adenovirus and group A and C rotaviruses in diarrheal fecal specimens from children in China. *Kansenshogaku Zasshi* 2004;78(8):699-709.

**Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux**

Québec 

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

