

OCTOBRE 2017

AVIS

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

Transmission au ministre : 3 août 2017
Publication officielle : 2 octobre 2017

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



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

Transmission au ministre : 3 août 2017
Publication officielle : 2 octobre 2017

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.

Anne Fortin, B. Pharm., M. Sc.

Catherine Gravel, M. Sc.

Geneviève Morrow, Ph. D.

Emmanuelle Tchekanda, Ph. D.

Repérage d'information scientifique

Caroline Dion, MBSI, *bibl. prof.*

Mathieu Plamondon, MSI

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, 2017

Bibliothèque et Archives Canada, 2017

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)

ISBN 978-2-550-79554-4 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2017

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 treize analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Québec, Qc : INESSS; 324p.

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

Vice-président

Lambert Busque, M.D., FRCPC

- Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Membres

Lorraine Caron, Ph. D.

- Consultante en éthique

Guy Fink, Ph. D.

- Biochimiste clinique, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

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

- Anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM

David Rosenblatt, M.D., FRCPC

- Pédiatre, généticien, Hôpital général de Montréal

Cédric Yansouni, M.D., FRCPC, DTM&H

- Microbiologiste infectiologue, Centre universitaire de santé McGill (CUSM)

Membre citoyen

Suzanne K. Bédard

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

LISTE DES ANALYSES

DÉTECTION DE L'ALLÈLE Q775X DU GÈNE <i>PALB2</i> PAR SÉQUENÇAGE DIRECT (RÉFÉRENCE - 2013.02.006R)	1
DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR ELISA (RÉFÉRENCE - 2015.04.01R)	26
PEPTIDE INTESTINAL VASOACTIF (RÉFÉRENCE - 2017.01.001)	53
DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-RÉCEPTEUR DE LA PHOSPHOLIPASE A ₂ (ANTI-PLA ₂ R) (RÉFÉRENCE - 2017.01.004A ET B)	71
DOSAGE DE L'ACTIVITÉ KININOGENASE (RÉFÉRENCE - 2017.01.005)	118
DOSAGE QUANTITATIF DU FACTEUR I (RÉFÉRENCE - 2017.01.006)	135
DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-FACTEUR H (RÉFÉRENCE - 2017.01.008)	154
DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION DU FACTEUR IX PAR MÉTHODE CHROMOGÈNE (RÉFÉRENCE - 2017.01.009)	181
DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION DU FACTEUR VIII PAR MÉTHODE CHROMOGÈNE (RÉFÉRENCE - 2017.01.010)	199
DOSAGE QUANTITATIF DE L'ÉCULIZUMAB PLASMATIQUE PAR MÉTHODE ELISA (RÉFÉRENCE - 2017.01.011)	233
DOSAGE DU COMPLÉMENT SC5B-9 (RÉFÉRENCE - 2017.01.012)	259
TITRATION D'ANTICORPS ANTI-C1-INHIBITEUR (RÉFÉRENCE - 2017.01.013)	283
DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-ADAMTS-13 (RÉFÉRENCE - 2017.01.014)	299

DÉTECTION DE L'ALLÈLE Q775X DU GÈNE *PALB2* PAR SÉQUENÇAGE DIRECT (RÉFÉRENCE - 2013.02.006R)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Centre universitaire de santé McGill (CUSM)
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 3 août 2017
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 2 octobre 2017

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 David Rosenblatt et le D^r François Rousseau 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 Sébastien Chénier (Médecin généticien, CHUS);
- D^{re} Rachel Laframboise (Médecin généticien, CHU de Québec).

1.4 Retour sur l'évaluation précédente

Le présent document est une réévaluation de l'analyse de détection de l'allèle Q775X du gène *PALB2* présentée dans l'avis intitulé *Cancer du sein et du pancréas – recherche de l'allèle Q775X du gène PALB2 par RFLP et recherche de mutations du gène PALB2 par HRM et séquençage direct* 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 lorsque des données supplémentaires deviendraient disponibles concernant les points suivants:

- utilité clinique;
- impact clinique des résultats sur le suivi des patients;
- performance analytique;
- présentation d'un algorithme décisionnel.

La version originale de la demande incluait la recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2* par RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), HRM (*High-Resolution Melting Assay*) et séquençage direct. Ces deux techniques (RFLP et HRM) ont toutefois été retirées de la présente demande. Seul le séquençage direct demeure.

2 RÉSUMÉ

La présence de l'allèle Q775X du gène *PALB2*, principalement retrouvé dans la population canadienne-française du Québec, est à l'origine d'une prédisposition familiale au cancer du sein. Cet allèle sera recherché chez les patientes atteintes d'une forme familiale de cancer du sein en absence de mutation des gènes *BRCA1-2*, ainsi que d'autres mutations familiales connues chez les personnes à risque apparentées au cas probant. Suite à une mise à jour de la littérature et à la réception de nouvelles données du centre demandeur, l'analyse de l'allèle Q775X fait l'objet d'une réévaluation.

Valeur diagnostique

Selon les données présentées dans l'avis d'évaluation publié en 2013, comparativement à une population témoin et en absence de mutations dans les gènes *BRCA1-2*, la fréquence de détection d'une mutation du gène *PALB2* variait entre 0 et 3 %. Notamment, la mutation Q775X a été détectée chez 0,7 % et 1,4 % des cas de cancer du sein diagnostiqués avant l'âge de 50 et 65 ans respectivement. Les données probantes retenues pour la présente évaluation ont montré la présence de 2 mutations tronquantes de *PALB2* (autres que la Q775X) dans 0,3 à 0,6 % des cas de cancer du sein.

Valeur pronostique et thérapeutique

Le risque de cancer du sein associé à certaines mutations tronquantes du gène *PALB2* dans un contexte de *BRCA1-2* sauvage varie de 2 à 11 fois selon les études. Les études retenues pour la présente évaluation ont rapporté un risque élevé de cancer du sein associé à certaines mutations tronquantes du gène *PALB2* (notamment, L531Cfs et W1038X). Les femmes porteuses de ces mutations pourraient être classées à risque élevé de cancer du sein, particulièrement si des antécédents familiaux sont présents. La survie à 10 ans était de 48 % chez les femmes porteuses d'une mutation tronquante de *PALB2* comparativement à 74,7 % chez celles qui en étaient dépourvues et à 72 % en présence du gène *BRCA1* muté. Une modification de la prise en charge a été recommandée pour une majorité de patientes porteuses d'une mutation de *PALB2*.

Validité analytique

Le laboratoire de diagnostic moléculaire-Centre universitaire de santé McGill-CUSM a mis au point un essai qualitatif de type Sanger permettant la détection des mutations spécifiques du gène *PALB2* identifiant précisément la mutation Q775X dans la population canadienne-française.

Impacts budgétaires

Les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2* sont estimés à environ 190 000 \$ pour le total des trois premières années.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

Les lignes directrices du National Comprehensive Cancer Network (NCCN) incluent le gène *PALB2* parmi les gènes à étudier pour les cancers du sein et de l'ovaire à risque élevé d'être héréditaires. Toutefois, aucune recommandation formelle n'a été émise quant à l'analyse mutationnelle du gène *PALB2* en absence de mutations des gènes *BRCA1-2* dans un contexte où les antécédents familiaux suggèrent une forme héréditaire de cancer.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

L'analyse proposée par le demandeur possède deux volets :

- 1) Détection de l'allèle Q775X du gène *PALB2* chez les patientes atteintes d'une forme familiale de cancer du sein et pour lesquelles aucune mutation dans les gènes *BRCA1* et 2 n'a été détectée;
- 2) Recherche de toutes autres mutations familiales connues du gène *PALB2* chez les personnes apparentées au cas probant et à risque d'être porteuses.

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. Le logiciel Mutation Surveyor sera utilisé pour l'analyse des résultats.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les spécimens seront transmis par les services de conseil génétique de l'Hôpital général juif, de l'Hôpital Royal Victoria, du CHUM, du CHU de Québec et du CHUS. Les spécimens sont ensuite acheminés au laboratoire central de biologie moléculaire du CUSM (site Glen) où l'ADN sera extrait à partir du sang périphérique, amplifié et séquencé. Une validation technique sera réalisée par le scientifique en charge des analyses, suivie d'une validation médicale faite par le généticien. Le temps de réponse prévu est de deux semaines.

3.4 Société ou concepteur

Protocole maison

3.5 Homologation

Analyse maison non homologuée par Santé Canada ou la FDA.

3.6 Valeur pondérée : 142,25

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patientes ciblées par l'analyse proposée sont celles :

- ayant des antécédents familiaux établis pour le cancer du sein et/ou de l'ovaire et chez qui l'on soupçonne une forme héréditaire;
- qui sont d'origine canadienne-française (Q775X seulement et négatives au panel *BRCA1-2*);
- qui pourraient être porteuses d'une mutation familiale du gène *PALB2* les rendant à risque de développer la maladie.

4.2 Description de la maladie visée

En 2016, le cancer du sein était le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes au Canada. Selon les statistiques de la Société canadienne du cancer [2016], les Canadiennes présentent un risque de 11,7 % de développer un cancer du sein au cours de leur vie. En 2016, l'incidence du cancer du sein au Québec était estimée à 6 300 cas et le nombre de décès associés à celui-ci était estimé à 1 300. Le cancer de l'ovaire est plus rare. Les Canadiennes présentent un risque de 1,4 % de développer un cancer de l'ovaire au cours de leur vie. En 2016, l'incidence du cancer de l'ovaire au Québec était estimée à 700 cas et le nombre de décès associés à celui-ci était estimé à 420 [Société canadienne du cancer, 2016].

Entre 20 % et 30 % des cas de cancer du sein ont des antécédents familiaux et 5 à 10 % des cancers du sein s'expliquent par une anomalie génétique connue (Programme québécois de dépistage du cancer du sein)¹. Au Québec, environ 40 % des familles canadiennes-françaises comportant au moins trois cas de cancer du sein ou de l'ovaire sont porteuses d'une mutation pathogénique dans les gènes *BRCA1* ou *BRCA2* [Tischkowitz *et al.*, 2013; Cote *et al.*, 2012; Cavallone *et al.*, 2010]. D'autres gènes ont été associés à un risque à vie modéré de cancer du sein, notamment le gène *PALB2*.

PALB2 (*Partner and localizer of BRCA2*), interagit directement avec *BRCA1-2* et contribue au bon fonctionnement de la recombinaison homologue et au maintien de la stabilité du génome [Antoniou *et al.*, 2014]. *PALB2* est localisé sur le chromosome 16p12.1, contient 13 exons et code pour une protéine de 1 186 acides aminés. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement de la protéine *PALB2* (très souvent des mutations tronquantes) est à l'origine d'une prédisposition familiale au cancer du sein [Teo *et al.*, 2013], alors que les mutations homozygotes causent l'anémie de Fanconi [Buisson *et al.*, 2014; Tischkowitz *et al.*, 2013].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

D'après l'expertise externe, le nombre de cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire avec composante d'antécédents familiaux serait de 1 220 par année. Ce chiffre est estimé en calculant le nombre de femmes ayant reçu un diagnostic de cancer du sein multiplié par le pourcentage de cas ayant des antécédents familiaux ($6\,100 \times 0,2 = 1\,220$).

¹ Programme québécois de dépistage du cancer du sein (PQDCS) [site Web], disponible à : <http://sante.gouv.qc.ca/programmes-et-mesures-daide/programme-quebecois-de-depistage-du-cancer-du-sein-pqdcsc/>.

Toutefois, ce chiffre ne tient pas compte, entre autres, du nombre de cas qui ne seront pas référés ou qui ne désireront pas faire de test génétique. Également, aux 1 220 cas estimés par année, suivant l’algorithme d’investigation du demandeur, il faut soustraire tous les cas qui auront un résultat anormal à la première ligne d’investigation, soit le panel de mutations *BRCA1-2* spécifiques à la population canadienne-française ou juive-ashkénaze. Enfin, il faut ajouter un nombre supplémentaire de cas découlant de l’investigation familiale suite à l’identification d’un nouveau cas avec une mutation dans le gène *PALB2*.

Selon les données de volumétrie 2015-2016 pour le code 55170 (*BRCA1-2* panel de mutations canadiennes-françaises), 743 analyses ont été réalisées. De celles-ci, 517 ont été réalisées au CHUM et 226 au CUSM. La fréquence de positivité du panel de mutations canadiennes-françaises est de 15 %, donc 632 cas négatifs (85 %) seraient admissibles à l’analyse proposée. Selon le demandeur, en fonction du médecin traitant et des antécédents familiaux, l’analyse serait réalisée dans 70 % des cas totalisant ainsi 442 analyses.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic moléculaire des patientes atteintes de cancer du sein et/ou de l’ovaire avec antécédents familiaux s’inscrit dans un continuum de prise en charge bien établi. À ce jour, la détection des mutations du gène *PALB2* par séquençage de type Sanger est effectuée à l’extérieur du Québec, notamment chez Fulgent Diagnostic, Invitae Corporation, Ambry Genetics et City of Hope. Toutefois, le demandeur souhaite rapatrier cette analyse au Québec et effectuer la recherche de la mutation *PALB2* c.2323C>T (p.Q775X) suivant un résultat négatif du panel de mutations canadiennes-françaises des gènes *BRCA1* et 2 (voir algorithme décisionnel à l’annexe A).

4.5 Données médico-administratives

Cette analyse est actuellement effectuée à l’extérieur du Québec, parfois seule ou incluse dans un panel de gènes (tableau 1).

Tableau 1 Envois hors Québec pour l’analyse de *PALB2* (2013 à 2016)

	NOMBRE	COÛT
Séquençage du gène <i>PALB2</i> seulement		
2013-2014	9	9 015 \$
2014-2015	22	35 705 \$
2015-2016	3	1 151 \$
Séquençage du gène <i>PALB2</i> inclus dans un panel multigènes		
2013-2014	11	16 500 \$
2014-2015	37	58 950 \$
2015-2016	15	9 783 \$

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permet de compléter l'évaluation des patientes atteintes d'un cancer du sein et/ou de l'ovaire ayant des antécédents familiaux. Le rapatriement de l'analyse au Québec permettrait aussi une diminution des coûts.

L'analyse serait complémentaire à l'analyse des gènes *BRCA1-2* incluse dans le Répertoire sous les codes suivants :

- 55166 - Cancer du sein, cancer de l'ovaire; *BRCA1, BRCA2*; [TAAN, mutations juives-ashkénazes] (CUSM);
- 55168 - Cancer du sein, cancer de l'ovaire; *BRCA1, BRCA2*; (Mutation individuelle) (CUSM et CHUM);
- 55170 – Cancer du sein, cancer de l'ovaire; *BRCA1, BRCA2*; (Mutations canadiennes-françaises) (CUSM et CHUM).

4.7 Assurance qualité

L'analyse sera réalisée selon les normes internationales de contrôle de la qualité du Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) et du College of American Pathologists (CAP). Des contrôles de qualité seront réalisés à chaque étape de l'analyse, de la réception de l'échantillon jusqu'à l'émission du rapport. Pour chaque analyse, des échantillons témoins positifs et négatifs seront séquencés. Les résultats seront analysés en première instance par le personnel technique, puis par le scientifique responsable de l'analyse et finalement par le généticien.

Le laboratoire participe actuellement aux différents programmes de contrôle de la qualité du CAP en plus de participer aux programmes spécifiques pour le séquençage de Sanger : CAP/ACMG Molecular Genetics Sequencing SEC, SEC1. Ce programme évalue la partie pratique et l'interprétation des résultats du séquençage de Sanger.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Bref retour sur les données probantes présentées dans l'avis d'évaluation antérieur

L'avis d'évaluation publié en 2013 intitulé *Cancer du sein et du pancréas – recherche de l'allèle Q775X du gène PALB2 par RFLP et recherche de mutations du gène PALB2 par HRM et séquençage direct*, avait entre autres présenté l'association entre la fréquence de détection d'une mutation du gène *PALB2* et le cancer du sein (tableau 2). Selon ces données, comparativement à une population témoin saine et dans un contexte où les cas familiaux ne présentaient pas de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*, la fréquence de détection d'une mutation pathogénique du gène *PALB2* varie entre 0 et 3 %.

Tableau 2 Association positive entre la fréquence de détection d'une mutation de *PALB2* et la présence d'un cancer du sein

ÉTUDE	MUTATION DU GÈNE <i>PALB2</i>	FRÉQUENCE DE DÉTECTION N/N (%)		VALEUR DE P
		CANCER DU SEIN	TÉMOIN	
[Dansonka-Mieszkowska <i>et al.</i> , 2010]	R170fsX	4/648 (0,6 %)	1/1310 (0,08 %)	0,044
[Cao <i>et al.</i> , 2009]	Q251X, Q350fsX	3/360 (0,8 %)	0/864 (0 %)	0,025
[Erkko <i>et al.</i> , 2007]	L531fsX	3/113 (2,7 %)	6/2501 (0,6 %)	0,005
[Foulkes <i>et al.</i> , 2007]	Q775X	5/406 (0,7 %)	0/6442 (0 %)	0,003
[Rahman <i>et al.</i> , 2007]	G796X, A995fsX, N1039fsX, W1038X, Y1183X	10/923 (1,1 %)	0/1084 (0 %)	0,0004
[Southey <i>et al.</i> , 2010]	W1038X	5/1 403 (0,4 %)	0/764 (0 %)	< 0,0001

Par ailleurs, cinq études portant sur la recherche de mutations dans le gène *PALB2*, incluant la mutation Q775X, dans un contexte de cancer du sein et/ou de l'ovaire héréditaire dans la population canadienne-française avaient été retenues (tableau 3). Les résultats de ces études indiquent que les mutations du gène *PALB2* sont peu fréquentes et ne seraient pas impliquées dans une proportion substantielle de familles canadiennes-françaises à risque élevé de cancer du sein [Guenard *et al.*, 2010]. Selon Tischkowitz et ses collaborateurs [2013], la présence de la mutation Q775X confère un risque accru de cancer du sein dans la population canadienne-française au Québec. La contribution de celle-ci semble toutefois être moindre que celle attribuable aux mutations des gènes *BRCA1-2*. Toutefois, un jeune âge au diagnostic ainsi que des antécédents familiaux associés au cancer du sein suggèrent l'ajout de cette mutation délétère à celles actuellement recherchées afin de déterminer le risque de cancer du sein dans cette population unique.

Tableau 3 Identification des mutations pathogéniques de *PALB2* et leur distribution parmi les cas de cancer du sein héréditaires dans la population canadienne-française sans mutation connue de *BRCA1-2*

ÉTUDE	GROUPE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE <i>PALB2</i>			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION (%)	ANOMALIE FAUX SENS (allèle < 1 % seulement)	
[Foulkes <i>et al.</i> , 2007]	CS < 50 ans CS/CO familiaux	50	47 ans (24-65)	Séquençage direct complet et MLPA	Q775X (2,0 %)	0 cas	Q775X et CS; p = 0,003 G115V ou I76 et CS (ns)
	CS < 50 ans	356	43 ans (24-49)	PCR-RFLP + séquençage	Q775X (0,56 %)	G115V (0,28 %); I76V (0 %)	
	Témoins	6 448	s.o.		Q775X (0 %)	ND	
[Tischkowitz <i>et al.</i> , 2007]	Score BRCAPRO > 0.1*	48	ND	Séquençage direct complet	C77fsX99 (2,1 %)	Variants identifiés par Rahman 2007	ND
[Ghadirian <i>et al.</i> , 2009]	CS < 50 ans	564	ND	PCR allèle spécifique	Q775X (0,71 %)	s.o.	ND
	Témoins	6 433	s.o.		0 cas	s.o.	
[Guenard <i>et al.</i> , 2010]	CS/CO familiaux	96	49 ans (31-74)	Séquençage direct complet et MLPA	0 cas	D219G, V932M, L939W (0,5 %)	Variants identifiés et CS (ns)
	Femmes en santé	96	49 ans (30-72)		0 cas	0 cas	
[Tischkowitz <i>et al.</i> , 2013]	CS ≤ 65 ans CS/CO familiaux	71	46 ans (25-65)	PCR allèle spécifique	Q775X (1,4 %)	s.o.	ND

Abréviations : CO : cancer de l’ovaire; CS : cancer du sein; MLPA : amplification multiplex de sondes dépendant d’une ligature (de l’anglais, *multiplex ligation-dependent probe amplification*); ND : non déterminé; ns : non significatif; PCR : réaction d’amplification par polymérisation en chaîne (de l’anglais, *polymerase chain reaction*); RFLP : polymorphisme de longueur des fragments de restriction (de l’anglais, *restriction fragment length polymorphism*); s.o. : sans objet

* BRCAPRO : programme informatique qui permet de calculer la probabilité individuelle d’être porteur d’une mutation délétère de *BRCA1* et/ou de *BRCA2* sur la base des antécédents personnels et familiaux (1^{er} et 2^e degré) de cancer du sein et de l’ovaire [Parmigiani *et al.*, 1998].

Nouvelles études

Depuis la parution de l’avis d’évaluation de 2013, les données probantes publiées en lien avec la présence de mutations délétères du gène *PALB2* étaient majoritairement de nature pronostique. Parmi les études à visée pronostique retenues et présentées à la section 5.2, les données de fréquence de variants du gène *PALB2* en lien avec la présence d’un cancer du sein rapportées dans une de ces études [Cybulski *et al.*, 2015] sont présentées dans le tableau 4.

L’étude de cohorte prospective de Cybulski et ses collaborateurs [2015] visait entre autres à évaluer la fréquence de deux mutations récurrentes du gène *PALB2* (R170fs et Q60Rfs) chez des femmes polonaises avec ou sans cancer du sein.

Parmi les femmes ayant reçu un diagnostic de cancer du sein invasif, 116 des 12 529 femmes génotypées avec succès étaient porteuses de mutations tronquantes du gène *PALB2*, soit 0,93 % (IC95 % : 0,76 à 1,09) comparativement à 0,21 % (IC95 % :

0,08 à 0,34) chez 10 des 4 702 femmes de la cohorte témoin (tableau 4). La fréquence de détection attribuable à chacune des 2 mutations tronquantes chez les patientes atteintes de cancer du sein était également significativement supérieure à celle du groupe témoin.

Tableau 4 Fréquence de détection de mutations tronquantes du gène *PALB2* chez les femmes atteintes d'un cancer du sein

MUTATION DU GÈNE <i>PALB2</i>	FRÉQUENCE DE DÉTECTION N (%)		VALEUR DE P
	CANCER DU SEIN	TÉMOIN	
R170fs ou Q60Rfs	116 (0,93)	10 (0,21)	< 0,0001
R170fs	76 (0,61)	7 (0,15)	< 0,0001
Q60Rfs	40 (0,32)	3 (0,06)	0,0016

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

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; RC : rapport de cotes

5.2 Valeur pronostique

Les gènes qui prédisposent au cancer peuvent être catégorisés en fonction du risque relatif de développer la maladie qui leur est associée. Pour évaluer le risque de développer la maladie en fonction du temps, la recherche des antécédents familiaux de même que le suivi médical de plusieurs membres d'une même famille, porteurs ou non, atteints ou non, sont nécessaires. Malgré la rareté des cas de cancer du sein présentant une mutation du gène *PALB2* dans un contexte de *BRCA1* ou *BRCA2* sauvage, quelques études ont rapporté des données quant au risque de cancer du sein (tableau 5).

**Tableau 5 Risque de cancer du sein associé aux mutations délétères du gène *PALB2*
– données présentées dans l’avis d’évaluation de 2013**

ÉTUDE	MUTATIONS	MESURE DU RISQUE
[Rahman <i>et al.</i> , 2007]	G796X, A995fsX, N1039fsX, W1038X, Y1183X	RR : 2,3 (IC95 % : 1,4 – 3,9) p = 0,0025
[Erkko <i>et al.</i> , 2007]	L531fsX	RC : 3,94 (IC95 % : 1,5 – 12,1) p = 0,003 RCum à 70 ans : 40 % (IC95 % : 17 – 77)
[Heikkinen <i>et al.</i> , 2009]		RC : 11,03 (IC95 % : 2,65 – 97,78) p = 0,0001
[Southey <i>et al.</i> , 2010]	W1038X	RCum à 70 ans : 91 % (IC95 % : 44 – 100)
[Tischkowitz <i>et al.</i> , 2012]	Mutation délétère	Cancer du sein controlatéral RR : 5,3 (IC95 % : 1,8 – 13,2) p = 0,04

Abréviations : RC : rapport de cotes; RCum : risque cumulatif; RR : risque relatif

Depuis la parution de l’avis d’évaluation de 2013, trois études portant sur l’évaluation du risque de cancer du sein associé à la présence de mutations du gène *PALB2* ont été retenues [Southey *et al.*, 2016; Cybulski *et al.*, 2015; Antoniou *et al.*, 2014]. Toutefois, ces études n’étant pas constituées de cohortes canadiennes-françaises, l’analyse de la mutation Q775X n’était pas considérée.

Risque de cancer du sein associé à la présence de mutations du gène *PALB2*

Antoniou et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une étude de cohorte multicentrique internationale dont l’objectif principal était d’estimer le risque de cancer du sein associé à la présence de mutations causant la perte de fonction du gène *PALB2*. L’étude a été réalisée chez des porteurs de mutations du gène *PALB2*, de diverses origines et générations avec des antécédents familiaux de cancer différents. Seules les familles ayant au moins un membre atteint de cancer du sein confirmé *BRCA1-2* négatif et présentant une mutation causant la perte de fonction du gène *PALB2* étaient admissibles à l’inclusion dans l’étude. Au total, 154 familles ont été incluses dans l’étude, regroupant 362 individus (311 femmes et 51 hommes) avec mutation du gène *PALB2*. Parmi ces individus, 229 femmes et 7 hommes étaient atteints d’un cancer du sein.

Les auteurs ont estimé le risque relatif de cancer du sein selon l’âge des femmes porteuses d’une mutation du gène *PALB2* et l’incidence annuelle moyenne. Comparativement à la population générale, le risque relatif moyen de cancer du sein chez les femmes porteuses de mutations *PALB2* est 8 à 9 fois plus élevé chez les moins de 40 ans, 6 à 8 fois entre 40 et 60 ans et environ 5 fois chez les 60 ans et plus.

Les auteurs ont également démontré que le risque cumulatif de cancer du sein est influencé par les antécédents familiaux de la personne porteuse d’une mutation du gène *PALB2* (tableau 6).

Tableau 6 Estimation du risque cumulatif de cancer du sein chez les femmes porteuses de mutations du gène *PALB2* en fonction des antécédents familiaux

ÂGE	RISQUE CUMULATIF (IC 95 %)				
	SANS CONSIDÉRER LES ANTÉCÉDENTS FAMILIAUX	MÈRE SANS CANCER DU SEIN À 50 ANS ET GRAND-MÈRE SANS CANCER DU SEIN À 70 ANS	MÈRE AVEC CANCER DU SEIN À 35 ANS	SŒUR ET MÈRE AVEC CANCER DU SEIN À 50 ANS	MÈRE ET GRAND-MÈRE MATERNELLE AVEC UN CANCER DU SEIN À 50 ANS
30 ans	0,4 (0,3 - 0,7)	0,3 (0,2 - 0,6)	0,8 (0,5 - 1,1)	0,9 (0,6 - 1,2)	0,7 (0,5 - 1,0)
40 ans	4 (3 - 6)	3 (2 - 5)	7 (5 - 10)	8 (6 - 11)	7 (5 - 9)
50 ans	14 (9 - 20)	13 (8 - 18)	23 (16 - 31)	27 (21 - 33)	22 (17 - 29)
60 ans	26 (19 - 35)	24 (18 - 33)	40 (31 - 51)	46 (38 - 54)	40 (32 - 48)
70 ans	35 (26 - 46)	33 (25 - 44)	52 (41 - 63)	58 (50 - 66)	51 (42 - 60)
80 ans	44 (34 - 55)	41 (32 - 53)	61 (50 - 72)	67 (59 - 75)	61 (51 - 69)

Source : [Antoniou *et al.*, 2014]

Les messages clés retenus de cette étude de cohorte sont les suivants :

- le risque cumulatif de cancer du sein à 50 ans est de 14 % (IC95 % : 9 à 20) et de 35 % (IC95 % : 26 à 46) à 70 ans sans tenir compte des antécédents familiaux;
- le risque de cancer du sein à 70 ans chez les porteuses de mutations *PALB2* passe de 33 % [IC95 % : 25 à 44] en l'absence d'antécédents familiaux de cancer du sein à 58 % [IC95 % : 50 à 66] en présence d'antécédents familiaux (2 parents de premier degré avec cancer du sein à 50 ans).

Les auteurs ont conclu que le niveau de risque associé aux mutations causant la perte de fonction du gène *PALB2* pourrait justifier l'ajout du gène *PALB2* aux tests génétiques actuellement réalisés pour l'évaluation du risque de cancer du sein, soit *BRCA1* et *BRCA2*.

L'étude multicentrique cas-témoin de Southey et ses collaborateurs [2016] avait pour objectif d'évaluer le risque relatif associé à 10 mutations rares dans les gènes *PALB2*, *CHEK2* et *ATM*, préalablement identifiés dans des études populationnelles cas – témoin. Concernant le gène *PALB2*, l'association au risque de cancer du sein de deux mutations tronquantes (p.L531Cfs; p.W1038X) et d'une mutation faux-sens (p.L939W)² a été analysée chez des femmes participant aux études regroupées par le Breast Cancer Association Consortium (BCAC). Le BCAC incluait 48 études cas-témoin populationnelles ou réalisées en milieu hospitalier dans lesquelles tous les cas avaient un cancer du sein invasif, soit :

- 37 études réalisées chez des femmes européennes (42 671 cas et 42 164 témoins);

² Concernant le gène *PALB2*, des 6 variants qui avaient été sélectionnés initialement, 3 (dont le variant Q775X) n'ont pas été considérés puisqu'ils n'ont pas pu être analysés au moyen de la plateforme de génotypage Illumina iSelect [Southey *et al.*, 2016]

- 9 études réalisées chez des femmes asiatiques (5 795 cas et 6 624 témoins);
- 2 études réalisées chez des femmes afro-américaines (1 046 cas et 932 témoins).

La mutation L531Cfs, détectée chez 35 cas et 6 témoins et la mutation W1038X, détectée chez 44 cas et 8 témoins, présentent une association significative avec le risque de cancer du sein comme il est indiqué dans les rapports de cotes (tableau 7). Pour ce qui est de la mutation L939W, détectée chez 150 cas et 145 témoins, aucune association avec un risque de cancer du sein n'a pu être mise en évidence.

Tableau 7 Sommaire des résultats du consortium Breast Cancer Association Consortium (BCAC) chez les femmes européennes (42 671 cas et 42 164 témoins)

MUTATIONS <i>PALB2</i>	FRÉQUENCE (%)		RC (IC95 %) TOUTES LES ÉTUDES	VALEUR P	RC † (IC95 %) CAS-TÉMOINS NON SÉLECTIONNÉS	VALEUR P †
	CAS*	TÉMOINS*				
L531Cfs	0,00082	0,00014	4,52 (1,90 - 10,8)	7,1 X 10 ⁻⁵	3,44 (1,39 - 8,52)	0,003
L939W	0,00352	0,00342	1,05 (0,83 - 1,32)	0,70	1,03 (0,80 - 1,32)	0,82
W1038X	0,00101	0,00019	5,93 (2,77 - 12,7)	6,9 X 10 ⁻⁸	4,21 (1,84 - 9,60)	1,2 X 10 ⁻⁴

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

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; RC : rapport de cotes (*odd ratio*)

* Proportion des sujets porteurs du variant

† Exclusion des femmes de cinq études ayant sélectionné les cas en se basant sur les antécédents familiaux ou la présence d'une maladie bilatérale et les sous- groupes de cas obtenus d'autres études (34 488 cas non sélectionnés et 34 059 témoins).

Les auteurs ont conclu que quelques mutations rares sont associées à un risque accru, cliniquement significatif, de cancer du sein. Notamment, les porteurs des mutations L531Cfs et W1038X pourraient être classés à risque élevé, particulièrement si d'autres facteurs de risque, tels que les antécédents familiaux, sont présents.

Survie globale et risque de décès associés à la présence de mutations du gène *PALB2*

Le pronostic du cancer du sein associé à la présence d'une mutation du gène *PALB2* a été évalué dans une étude de cohorte prospective de grande envergure menée par Cybulski et ses collaborateurs [2015]. Cette étude visait, entre autres, à évaluer la fréquence de deux mutations tronquantes récurrentes du gène *PALB2* chez des femmes polonaises avec ou sans cancer du sein (voir section 5.1, tableau 4) et, d'estimer le risque de cancer du sein et la survie à 10 ans des patientes atteintes qui présentaient une mutation du gène *PALB2*. La cohorte était constituée d'un groupe de 12 529 femmes (âge moyen : 53,5 ans; 18 - 92 ans) atteintes d'un cancer du sein et d'un groupe témoin de 4 702 femmes sans cancer (âge moyen : 53,0 ans; 20 - 94 ans). Les mutations R170fs et Q60Rfs ont été détectées par un essai TaqMan^{MC} suivi d'un séquençage Sanger de confirmation. La durée de suivi médiane était de 53,5 mois (étendue interquartile – IQR : 29,5 – 90,0).

Parmi les 116 femmes (0,93 %) qui présentaient une mutation du gène *PALB2*, le risque de cancer du sein avant l'âge de 50 ans était de 3,68 (IC95 % : 1,84 – 7,15) et de 4,90 (IC95 % : 2,53 – 9,49) à l'âge de 50 ans et plus. Le pronostic associé à la présence d'une

mutation du gène *PALB2* des patientes ayant un cancer du sein est présenté au tableau 8. Durant la période de suivi, deux fois plus de décès par cancer du sein sont survenus dans le groupe des femmes porteuses d'une mutation du gène *PALB2*, et ce, comparativement au groupe sans mutation des gènes *PALB2* ou *BRCA1* (33 % contre 16 %; $p < 0,0001$). La survie globale à 10 ans de ces dernières était de 48,0 % et était réduite à 32,4 % chez celles qui avaient une tumeur de 2 cm ou plus, comparativement à 72,0 % chez les patientes dont le gène *BRCA1* était muté. Après ajustement pour l'âge au diagnostic, la taille de la tumeur, le statut ganglionnaire, le statut des récepteurs hormonaux, *HER2* et la chimiothérapie, l'effet pronostique défavorable d'une mutation du gène *PALB2* persiste (RRI : 2,27). Par ailleurs, la survenue d'un cancer du sein controlatéral était moins fréquente chez les patientes qui présentaient une mutation du gène *PALB2* comparativement à une mutation du gène *BRCA1*. L'incidence cumulative à 5 ans de cancer du sein controlatéral associé à une mutation du gène *PALB2* a été estimée à 10 %.

Tableau 8 Fréquence de décès et survie globale associées à la présence d'une mutation du gène *PALB2*

PARAMÈTRE PRONOSTIQUE	<i>PALB2</i> MUTÉ	<i>PALB2</i> ou <i>BRCA1</i> NON MUTÉ	<i>BRCA1</i> MUTÉ	VALEUR DE P
Nombre de décès (%)	38/116 (33)	1 942/11 978 (16)	s.o.	< 0,0001
Survie globale à 10 ans	48,0 % (IC95 % : 36,5 – 63,2) RRI : 2,27 * (IC95 % : 1,64 – 3,15)	74,7 % (IC95 % : 73,5 – 75,8)	72,0 % (IC95 % : 66,5 – 77,9)	< 0,0001
Survie à 10 ans selon la taille de la tumeur	<u>≤ 2 cm</u> : 82,4 % (IC95 % : 66,0 – 100,0) <u>2,0 à 4,9 cm</u> : 32,4 % (IC95 % : 20,2 – 52,2) RRI : 7,04 (IC95 % : 2,47 – 20,07)	s.o.	s.o.	< 0,0001
Second cancer (controlatéral) (%)	11/115 (10)	246/9 640 (3)	64/383 (17)	s.o.†

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

Abréviations : RRI : rapport des risques instantanés (*hazard ratio*); s.o. : sans objet

* RRI ajusté pour l'âge au diagnostic, la taille de la tumeur, le statut ganglionnaire, le statut des récepteurs hormonaux, *HER2* et la chimiothérapie.

† La valeur statistique n'est pas mentionnée par les auteurs.

Les auteurs ont conclu que les femmes porteuses d'une mutation du gène *PALB2* sont à risque élevé d'un cancer du sein et pourraient présenter un risque plus élevé de décès attribuable au cancer du sein comparativement à celles qui en sont dépourvues. De plus, les auteurs recommandent qu'un suivi régulier soit offert aux femmes porteuses d'une mutation du gène *PALB2* afin de favoriser la détection précoce d'un cancer du sein.

Dans l'ensemble, les études parues après la publication de l'avis d'évaluation de 2013, bien qu'elles n'incluaient pas l'analyse de l'allèle Q775X, ont permis de confirmer l'effet pronostique défavorable de certaines mutations du gène *PALB2* et la contribution non négligeable des antécédents familiaux. De plus, il en ressort que le risque associé aux mutations causant la perte de fonction du gène *PALB2* pourrait justifier l'ajout du gène *PALB2* aux tests génétiques actuellement réalisés pour l'évaluation du risque de cancer du sein.

5.3 Valeur thérapeutique

L'ensemble des données rapportées à ce jour concernant la capacité de prédire la survenue d'un cancer du sein pour les cas porteurs d'une mutation connue du gène *PALB2* permet d'offrir un suivi plus personnalisé aux personnes atteintes, de même qu'un suivi accru des personnes à risque [Southey *et al.*, 2013].

Une étude observationnelle [Desmond *et al.*, 2015] a été retenue en lien avec la prise en charge des patientes suite à la détection de mutations délétères dans les gènes dont le risque de cancer héréditaire est établi. L'objectif de cette étude était de déterminer si la détection d'une mutation non-*BRCA1-2* pourrait influencer la prise en charge des patientes et si une évaluation familiale supplémentaire devait être considérée.

Au total, 1 046 personnes chez qui une forme familiale de cancer du sein ou de l'ovaire était suspectée et dont l'absence de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* a été démontrée, ont été inclus dans cette étude. Parmi celles-ci, 83 % avaient des antécédents familiaux de cancer du sein et/ou de l'ovaire et 14 % n'étaient pas atteints de cancer. Une évaluation génétique de toutes les participantes a été réalisée à l'aide d'un panel multigénique avant de déterminer les actions cliniques possibles suite à l'identification d'une mutation dans un gène autre que *BRCA1/2*. Bien que plusieurs gènes aient été testés, seules les données concernant le gène *PALB2* sont présentées dans le tableau 9.

Les résultats ont démontré que les mutations les plus communes détectées étaient dans les gènes associés à une augmentation faible à modérée du risque de cancer du sein. Parmi les 1 046 participantes de l'étude, 8 étaient porteuses d'une mutation du gène *PALB2*. Une modification de la prise en charge était recommandée chez 5 d'entre elles et des analyses supplémentaires étaient recommandées pour 7 familles. Les auteurs ont conclu que l'analyse d'un panel de gènes pour l'évaluation du risque de cancer du sein et/ou de l'ovaire a permis de recommander une modification de prise en charge pour beaucoup plus de patientes que ne le ferait l'analyse des gènes *BRCA1/2* seulement.

Tableau 9 Antécédents de cancer et impact clinique chez les porteurs de variants du gène *PALB2*

PATIENT	VARIANT DÉTECTÉ	ANTÉCÉDENT PERSONNEL DE CANCER	ÂGE 1 ^{ER} DIAGNOSTIC DE CANCER	ANTÉCÉDENTS FAMILIAUX (PARENTS AU 1 ^{ER} , 2 ^E ET 3 ^E DEGRÉ)	CHANGEMENT PRISE EN CHARGE SUITE À LA DÉTECTION D'UN VARIANT <i>PALB2</i>	
					PATIENT	PARENT 1 ^{ER} DEGRÉ
Pt 35	W1038X	Non affecté	s.o.	Sein, vésicule biliaire, poumons, gorge, foie	Non	s.o.
Pt 36	R170X14	Sein	39 ans	Sein, mélanome, ovaire, colon	Non	Oui Dépistage ou mastectomie
Pt 37	W1038X	Sein	43 ans	Sein, leucémie	Non	Oui Dépistage ou mastectomie
Pt 38	c.2509G>T	Rectum	44 ans	Sein	Oui Mastectomie bilatérale	Oui Dépistage ou mastectomie
Pt 39	M723X21	Sein	39 ans	Poumon, sein, leucémie, cervical	Oui Mastectomie bilatérale	Oui Dépistage ou mastectomie
Pt 40	R414X	Sein	51 ans	Sein, poumon, colon, cerveau, Hodgkin	Oui Mastectomie bilatérale	Oui Dépistage ou mastectomie
Pt 41	c.509_510del	Sein (3 primaires)	52 ans	Sein	Oui Mastectomie bilatérale	Oui Dépistage ou mastectomie
Pt 42	c.481_482del	Sein (2 primaires)	49 ans	Neurosarcome, sein, poumon, vessie, Hodgkin	Oui Mastectomie controlatérale	Oui Dépistage ou mastectomie

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

Abréviations : CO : cancer des ovaires; CS : cancer du sein; Pt : patient; s.o. : sans objet

5.4 Validité analytique

Aucune étude touchant directement la validité analytique du séquençage *PALB2* n'a été retenue. Une description des nouvelles données analytiques utilisant la méthode de séquençage de Sanger par le demandeur pour la validation du test de détection de la mutation c.2323C>T (p.Q775X) du gène *PALB2* est présentée à la section 5.5.

5.5 Données fournies par le demandeur

Le laboratoire de diagnostic moléculaire (CMDL) du CUSM a mis au point le séquençage direct Sanger permettant la détection de mutations spécifiques du gène *PALB2* dont la mutation c.2323C>T (p.Q775X).

Validation de la méthode

La mise au point de la méthode de séquençage Sanger a été réalisée avec 2 échantillons positifs hétérozygotes pour la mutation p.Q775X, et 5 témoins négatifs. Ces échantillons positifs provenaient de familles dans lesquelles les mutations avaient été décrites par Foulkes et ses collaborateurs [2007].

Entre septembre 2015 et septembre 2016, 163 échantillons de patients ayant des antécédents familiaux de cancer du sein et/ou de l'ovaire ont été testés pour les mutations du gène *PALB2*. Parmi eux, 145 échantillons provenaient d'individus d'origine canadienne-française préalablement testés pour le panel de mutations *BRCA1-2* canadiennes-françaises qui s'est avéré négatif. Des 18 échantillons restants, 14 étaient fortement suspectés de présenter une mutation dans le gène *PALB2* et ont été testés pour la mutation Q775X. Les 4 autres échantillons provenaient de la même famille et ont été testés pour la mutation familiale T1042NX. Cette dernière mutation avait préalablement été identifiée chez un membre de la famille par le laboratoire Invitae aux États-Unis. Tous les échantillons ont été analysés en duplicata.

Analyse des résultats

Les paramètres appliqués pour la validation de résultats obtenus avec le séquençage Sanger ont été adaptés des recommandations du CMGS (Clinical Molecular Genetics Society) et sont :

- Valeur de qualité (Phred score) ≥ 20 pour l'ensemble des bases de la région d'intérêt lues dans les deux sens.
- Valeur de qualité (Phred score) ≥ 30 pour l'ensemble des bases de la région d'intérêt lues dans un seul sens.
- L'analyse des valeurs de qualité est complétée par l'inspection visuelle de la séquence.
- L'analyse des séquences et la comparaison avec la séquence de référence est réalisée à l'aide du logiciel Mutation Surveyor.
- Toutes les séquences sont analysées et révisées visuellement par deux personnes différentes.

Mutation c.2323C>T (p.Q775X)

Exemple de chromatogramme issu du séquençage Sanger d'un échantillon négatif (figure 1a) pour la présence de la mutation c.2323C>T (p.Q775X). Le pic normal de la position c.2323 correspond à une cytosine (pic bleu). Dans le cas d'une mutation hétérozygote, deux pics sont présents à la position c.2323 (figure 1b) : un pic bleu pour la cytosine (normal) et un pic rouge pour la thymidine (mutant).

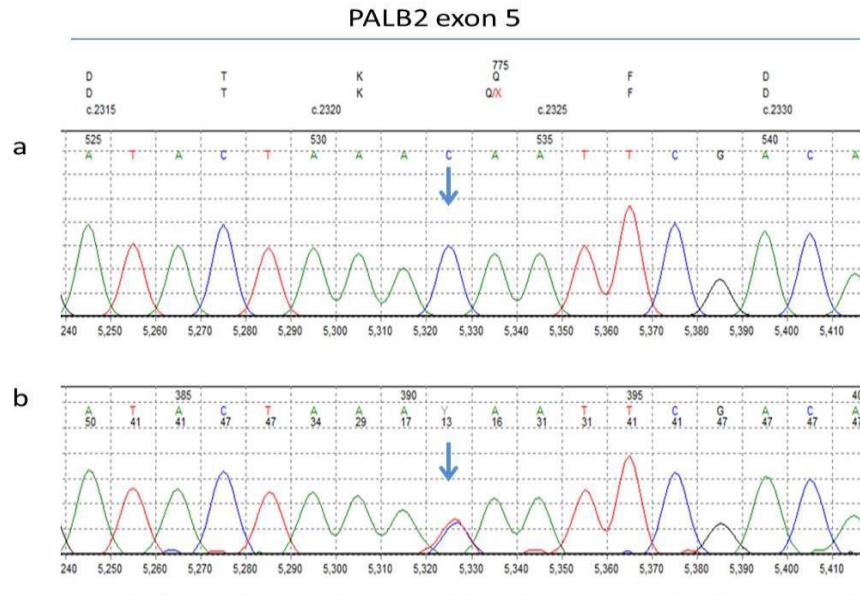


Figure 1 Chromatogramme de la mutation c.2323C>T (p.Q775X)

Mutation c.3124 dupA (p.T1042NX)

La mutation c.3124 dupA (p.T1042NX) est une insertion d'une adénine supplémentaire à la position c.3124. La figure 2 montre les résultats d'un échantillon normal avec une série d'adénines de la position c.3120 à c.3124, suivie d'une cytosine à la position c.3125 (Figure 2a). Dans le cas d'une mutation c.3124dupA, une adénine supplémentaire est présente à la position c.3125 à la place de la cytosine (figure 2b), causant un décalage d'une position par rapport à la séquence normale et une superposition des chromatogrammes des séquences de l'allèle normal et l'allèle mutant.

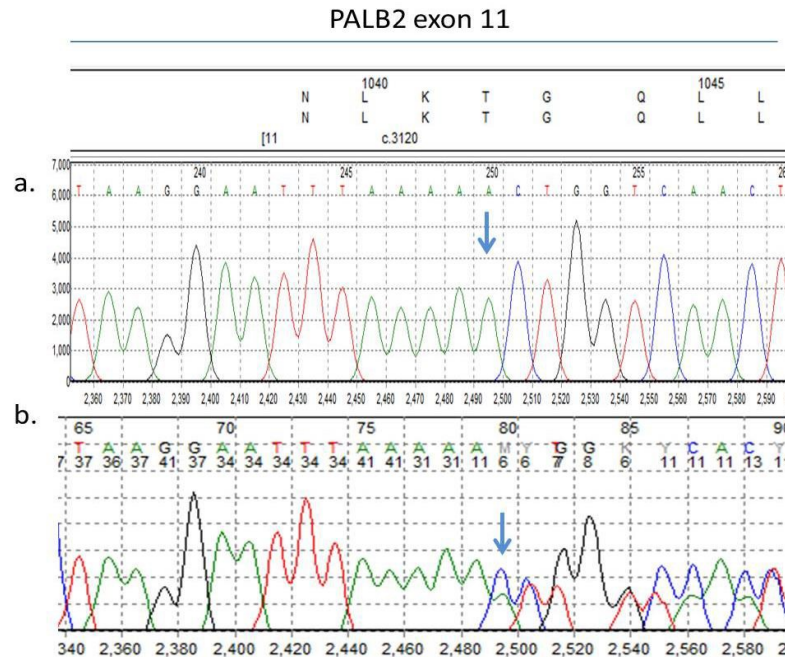


Figure 2 Chromatogramme de la mutation c.3124 dupA (p.T1042NX)

Mutation c.2323C>T (p.Q775X)

Entre septembre 2015 et septembre 2016, les demandeurs ont analysé 159 échantillons pour la mutation c.2323C>T (p.Q775X). Parmi eux, 145 échantillons avaient été préalablement testés pour des mutations du panel canadien-français de *BRCA1* et *BRCA2* au CMDL (avec un résultat négatif). Les 14 échantillons restants ont été testés seulement pour la mutation c.2323C>T (p.Q775X), mais provenaient de familles d'origine canadienne-française. Ils ont détecté 3 cas avec la mutation c.2323C>T (p.Q775X) : deux cas dans la cohorte des échantillons auparavant testés pour le panel canadien-français de *BRCA 1-2*, et un provenant des 14 échantillons testés seulement pour la mutation *PALB2* c.2323C>T (p.Q775X).

Mutation c.3124 dupA (p.T1042NX)

Cette mutation familiale a été détectée dans le laboratoire InVita. Le CMDL a testé quatre membres de la famille, deux hommes et deux femmes, pour déterminer la présence de la mutation. Nous avons retrouvé la mutation dans trois membres de la famille (deux femmes et un homme). Cette mutation a été rapportée comme pathogène par InVita.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* du test permettant la recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2* par séquençage chez les patientes canadiennes-françaises avec antécédents familiaux de cancer du sein. 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 :

- Le demandeur prévoit effectuer la recherche de la mutation *PALB2* 2323 C>T (Q775X) en 2e intention, soit à la suite d'un résultat négatif du panel de mutations canadiennes-françaises des gènes *BRCA1* et *BRCA2* (voir l'algorithme diagnostique à l'annexe A).
- En 2015-2016, selon les données de volumétrie du MSSS, 743 analyses pour le code 55170 qui correspond au panel de mutations canadiennes-françaises pour les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont été réalisées au Québec.
- Selon les données fournies par le demandeur, la fréquence de positivité du panel de mutations canadiennes-françaises est de 15 %.
- Considérant les antécédents familiaux et la pratique médicale, le test serait réalisé chez 70 % des cas admissibles à l'analyse.
- 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 québécoise était de 0,61 % en 2015.
- Ainsi, 447, 450 et 453 analyses seraient réalisées au cours des trois années suivant son ajout au *Répertoire*.
- 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 142,25.
- Le séquençage du gène *PALB2* a fait l'objet d'envois hors Québec au cours des dernières années. Bien que la recherche de l'allèle Q775X de ce gène par séquençage puisse être ajoutée au *Répertoire*, il pourrait tout de même y avoir des envois hors Québec pour la recherche d'allèles autres que le gène *PALB2*.
- Les coûts liés à la modification de la prise en charge des patientes avec une mutation *PALB2* c.2323 C>T (Q775X) n'ont pas été évalués.

Tableau 10 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2* par séquençage chez les patientes canadiennes-françaises atteintes de cancer du sein avec antécédents familiaux.

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre d'analyses anticipé	447	450	453	1 350
Coûts si introduction de l'analyse	63 586 \$	64 013 \$	64 439\$	192 038 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			172 834 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			211 241 \$

Ainsi, les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2* par séquençage chez les patientes canadiennes-françaises atteintes de cancer du sein avec antécédents familiaux sont estimés à environ 190 000 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les mutations pathogéniques du gène *PALB2* ont une pénétrance variable. Hormis quelques mutations dont la pathogénicité est sans équivoque, il est difficile, en ce qui concerne certains allèles rares, d'établir le lien causal sans étudier les antécédents familiaux d'un cas identifié et de rechercher la même anomalie parmi les autres cas atteints et parmi les personnes à risque. Relativement aux cas de cancer (sein, ovaire) pour lesquels la suspicion d'un lien héréditaire est élevée, l'exclusion d'une mutation fondatrice pour *PALB2* (Q775X, par exemple) n'exclut ni la présence d'une mutation autre du même gène ni la présence d'une mutation pathogénique dans un autre gène (*BRCA1/2*, *ATM*, *RAD51*, *TP53*, *CHEK2*, etc.). Il est donc à prévoir que la prise en charge de la patiente sera influencée par ses antécédents familiaux et personnels de cancer, son expérience et celle du clinicien ainsi que par la confirmation d'une mutation pathogénique du gène *PALB2*.

Les mutations du gène *PALB2* sont rares (variant de 0,1 % à 2,7 % selon les populations). Toutefois, pour certaines d'entre elles, le risque de cancer du sein est élevé et comparable à celui de la moyenne des mutations du gène *BRCA2*. Ainsi, pour les femmes et leurs parentés porteuses d'une mutation du gène *PALB2*, la détection de ces mutations peut s'avérer cliniquement importante en terme de risque associé mais également en terme d'options thérapeutiques [Southey *et al.*, 2013].

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

Le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) [2016] a émis des indications concernant les gènes à étudier pour les cancers du sein et de l'ovaire à risque élevé d'être héréditaires, notamment le gène *PALB2*. Par contre, le NCCN ne fait aucune recommandation formelle à savoir qu'une étude mutationnelle du gène *PALB2* devrait être réalisée advenant l'absence de mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans un contexte où les antécédents familiaux suggèrent une forme héréditaire de cancer.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de l'allèle Q775X du gène *PALB2* par séquençage direct

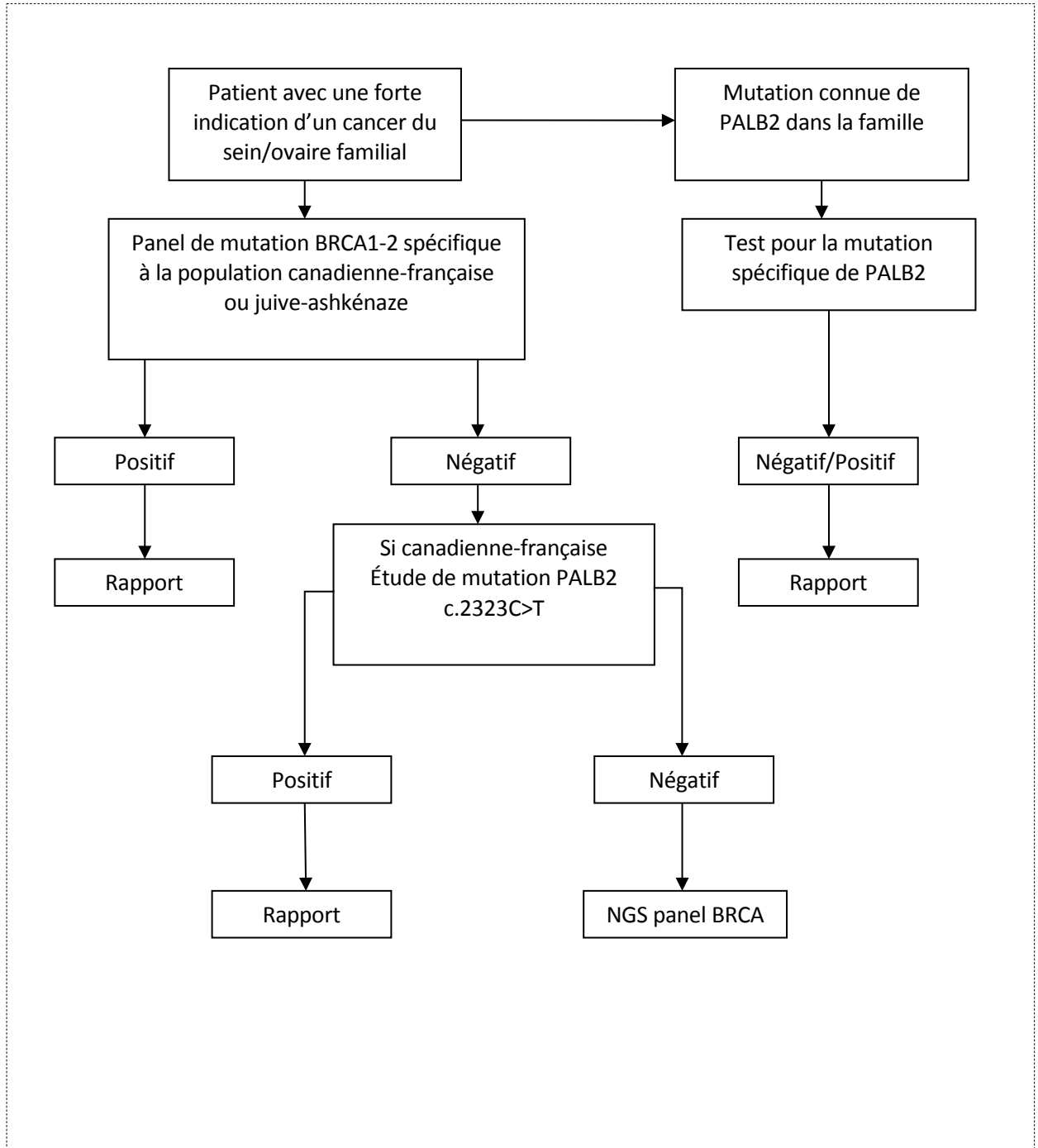
La recommandation de l'INESSS

- ☒ 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 de l'analyse au regard des données publiées et présentées en appui.
- ✓ Le comité recommande une introduction conditionnelle à l'obtention des données manquantes dans le rapport de validation présenté.

ANNEXE A : Algorithme d'analyses génétiques du cancer du sein et de l'ovaire avec antécédents familiaux proposé par le demandeur



RÉFÉRENCES

- Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkas K, Roberts J, et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med* 2014;371(6):497-506.
- Buisson R, Niraj J, Pauty J, Maity R, Zhao W, Coulombe Y, et al. Breast cancer proteins PALB2 and BRCA2 stimulate polymerase eta in recombination-associated DNA synthesis at blocked replication forks. *Cell Rep* 2014;6(3):553-64.
- Cao AY, Huang J, Hu Z, Li WF, Ma ZL, Tang LL, et al. The prevalence of PALB2 germline mutations in BRCA1/BRCA2 negative Chinese women with early onset breast cancer or affected relatives. *Breast Cancer Res Treat* 2009;114(3):457-62.
- Cavallone L, Arcand SL, Maugard CM, Nolet S, Gaboury LA, Mes-Masson AM, et al. Comprehensive BRCA1 and BRCA2 mutation analyses and review of French Canadian families with at least three cases of breast cancer. *Fam Cancer* 2010;9(4):507-17.
- Cote S, Arcand SL, Royer R, Nolet S, Mes-Masson A-M, Ghadirian P, et al. The BRCA2 c.9004G>A (E2002K) [corrected] variant is likely pathogenic and recurs in breast and/or ovarian cancer families of French Canadian descent. [Erratum appears in *Breast Cancer Res Treat* 2012;131(1):341]. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131(1):333-40.
- Cybulski C, Kluzniak W, Huzarski T, Wokolorczyk D, Kashyap A, Jakubowska A, et al. Clinical outcomes in women with breast cancer and a PALB2 mutation: A prospective cohort analysis. *Lancet Oncol* 2015;16(6):638-44.
- Dansonka-Mieszkowska A, Kluska A, Moes J, Dabrowska M, Nowakowska D, Niwinska A, et al. A novel germline PALB2 deletion in Polish breast and ovarian cancer patients. *BMC Med Genet* 2010;11:20.
- Desmond A, Kurian AW, Gabree M, Mills MA, Anderson MJ, Kobayashi Y, et al. Clinical actionability of multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer risk assessment. *JAMA Oncol* 2015;1(7):943-51.
- Erkko H, Xia B, Nikkila J, Schleutker J, Syrjakoski K, Mannermaa A, et al. A recurrent mutation in PALB2 in Finnish cancer families. *Nature* 2007;446(7133):316-9.
- Foulkes WD, Ghadirian P, Akbari MR, Hamel N, Giroux S, Sabbaghian N, et al. Identification of a novel truncating PALB2 mutation and analysis of its contribution to early-onset breast cancer in French-Canadian women. *Breast Cancer Res* 2007;9(6):R83.
- Ghadirian P, Robidoux A, Zhang P, Royer R, Akbari M, Zhang S, et al. The contribution of founder mutations to early-onset breast cancer in French-Canadian women. *Clin Genet* 2009;76(5):421-6.
- Guénard F, Pedneault CS, Ouellette G, Labrie Y, Simard J, Durocher F. Evaluation of the contribution of the three breast cancer susceptibility genes CHEK2, STK11, and PALB2 in non-BRCA1/2 French Canadian families with high risk of breast cancer. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010;14(4):515-26.

- Heikkinen T, Karkkainen H, Aaltonen K, Milne RL, Heikkilä P, Aittomäki K, et al. The breast cancer susceptibility mutation PALB2 1592delT is associated with an aggressive tumor phenotype. *Clin Cancer Res* 2009;15(9):3214-22.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Genetic/familial high-risk assessment: Breast and ovarian. Version 2.2017. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016. Disponible à : https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- Parmigiani G, Berry D, Aguilar O. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet* 1998;62(1):145-58.
- Rahman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A, Elliott A, et al. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2007;39(2):165-7.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(12):5463-7.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2016. Toronto, ON : SCC; 2016. Disponible à : <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2016-FR.pdf?la=fr-CA>.
- Southey MC, Goldgar DE, Winqvist R, Pylkas K, Couch F, Tischkowitz M, et al. PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: Data from COGS. *J Med Genet* 2016;53(12):800-11.
- Southey MC, Teo ZL, Winship I. PALB2 and breast cancer: Ready for clinical translation! *Appl Clin Genet* 2013;6:43-52.
- Southey MC, Teo ZL, Dowty JG, Odefrey FA, Park DJ, Tischkowitz M, et al. A PALB2 mutation associated with high risk of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010;12(6):R109.
- Teo ZL, Park DJ, Provenzano E, Chatfield CA, Odefrey FA, Nguyen-Dumont T, et al. Prevalence of PALB2 mutations in Australasian multiple-case breast cancer families. *Breast Cancer Res* 2013;15(1):R17.
- Tischkowitz M, Sabbaghian N, Hamel N, Pouchet C, Foulkes WD, Mes-Masson A-M, et al. Contribution of the PALB2 c.2323C>T [p.Q775X] founder mutation in well-defined breast and/or ovarian cancer families and unselected ovarian cancer cases of French Canadian descent. *BMC Med Genet* 2013;14:5.
- Tischkowitz M, Capanu M, Sabbaghian N, Li L, Liang X, Vallee MP, et al. Rare germline mutations in PALB2 and breast cancer risk: A population-based study. *Hum Mutat* 2012;33(4):674-80.
- Tischkowitz M, Xia B, Sabbaghian N, Reis-Filho JS, Hamel N, Li G, et al. Analysis of PALB2/FANCN-associated breast cancer families. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(16):6788-93.

DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR ELISA (RÉFÉRENCE - 2015.04.01R)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital Maisonneuve-Rosemont (HMR)

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017

1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Lambert Busque n'a pas participé aux délibérations et s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Avis de réévaluation

Le présent document est une réévaluation de l'avis transmis au ministre le 23 décembre 2016. L'avis initial suggérait une réévaluation lorsque des données supplémentaires sur les points suivants deviendraient disponibles :

- utilité clinique : les données probantes avaient été jugées insuffisantes pour recommander une utilisation à large échelle;
- une évaluation du National Institute for Health and Care Excellence de 2016 pouvait influencer favorablement la décision.

Considérant que les données allaient être disponibles prochainement et afin de ne pas pénaliser les patients qui ont besoin de ce test, le comité recommandait au MSSS de maintenir la possibilité que ce test soit réalisé hors Québec.

2 RÉSUMÉ

Lors de l'évaluation précédente, les résultats des études de Roblin et ses collaborateurs [Roblin *et al.*, 2014a; Roblin *et al.*, 2014b] montrent que chez les patients avec des maladies inflammatoires intestinales (MII) sous traitement d'entretien ou en perte secondaire de la réponse :

- Une concentration résiduelle inférieure à 4,9 µg/ml en l'absence d'anti-ADA prédit la réussite d'une intensification de la dose dans la majorité des cas;
- Une concentration résiduelle inférieure à 4,9 µg/ml en présence d'anti-ADA prédit l'échec d'une intensification de la dose dans la grande majorité des cas; une substitution d'anti-TNF ou un changement de classe thérapeutique devrait alors être envisagé.

Pour cette réévaluation, l'INESSS a retenu les résultats de plusieurs études qui ont démontré que :

- Les niveaux sériques résiduels d'ADA >7,5 µg/ml sont associés à la guérison de la muqueuse intestinale à long terme dans 50 % des cas avec MII; cette proportion augmente à 90 % si les niveaux sont supérieurs à 12 µg/ml [Ungar *et al.*, 2016];
- Les patients avec la maladie de Crohn qui atteignent la guérison de la muqueuse intestinale ont des niveaux résiduels moyens d'ADA plus élevés que ceux qui ne l'atteignent pas (11,7 µg/ml contre 7,5 µg/ml) [Morita *et al.*, 2016];
- Un niveau sérique seuil d'ADA de 9,4 µg/ml mesuré après 4 semaines de traitement à l'ADA (anti-ADA non-détectés) prédit la guérison de la muqueuse intestinale à court terme chez les patients atteints de colite ulcéreuse [Papamichael *et al.*, 2017].

Le test ELISA a été utilisé dans toutes les études retenues. Sa validité analytique et sa fiabilité ont été démontrées.

Le document publié en 2016 par le NICE intitulé *Therapeutic monitoring of TNF-alpha inhibitors in Crohn's disease (DG22)* conclut que les preuves sont insuffisantes pour recommander l'utilisation de routine à travers le NHS (National Health Services) des trousse ELISA relativement au suivi thérapeutique des anti-TNFα chez les personnes atteintes de la maladie de Crohn, et ce, malgré une promesse de valeur démontrée.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Essai immuno-enzymatique de type ELISA (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) avec résultat quantitatif pour l'adalimumab (ADA), et résultat semi-quantitatif pour la détection des anticorps anti-ADA. L'objectif est d'effectuer le suivi thérapeutique des patients traités avec ce médicament.

3.2 Description de la méthode

L'adalimumab (Humira^{MC}) est un anticorps monoclonal humain dirigé contre le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), une molécule pro-inflammatoire.

Lorsqu'il est conjugué à l'ADA, le TNF- α ne peut plus exercer son activité pro-inflammatoire. Toutefois, il est possible qu'une personne traitée avec ce type de médicament biologique développe une réponse immunitaire en cours de traitement, et ce, par la production d'anticorps anti-ADA.

La mesure quantitative du niveau sérique d'ADA présent dans l'échantillon est réalisée avec la trousse IDKmonitor^{MC} Adalimumab drug level, (Immundiagnostik AG). Il s'agit d'un essai ELISA de type sandwich qui consiste à permettre l'hybridation de l'ADA libre présent dans le sérum à un anticorps monoclonal spécifique anti-ADA préalablement fixé sur un support solide (micropuits). Les substances non liées sont ensuite enlevées par lavage. L'étape suivante d'incubation implique l'ajout d'un deuxième anticorps couplé à la peroxydase. Le tetramethylbenzidine (TMB) est utilisé comme substrat de la peroxydase. Finalement, une solution acide d'arrêt est ajoutée pour terminer la réaction enzymatique. La couleur change de bleu à jaune. L'intensité de la couleur jaune est directement proportionnelle à la concentration d'ADA libre sérique. Une courbe dose-réponse des unités d'absorbance par rapport à la concentration est générée, en utilisant des valeurs obtenues d'échantillons standards. La concentration d'ADA libre de l'échantillon à analyser est déterminée directement de cette courbe.

La mesure semi-quantitative des anticorps anti-ADA est réalisée avec la trousse ELISA Promonitor^{MC} - Anti-ADL (Progenika Biopharma S.A.). La procédure qui permet de quantifier les taux sériques d'anti-ADA libres est similaire à la précédente.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sont effectués dans les centres de prélèvement, dans les cliniques médicales ou sur les unités de soins des hôpitaux. Les échantillons sont acheminés au laboratoire associé ou directement au laboratoire de l'HMR. Le demandeur mentionne que les échantillons envoyés directement au laboratoire de l'HMR n'ont pas besoin d'être stabilisés et centrifugés car la stabilité de ceux-ci est très bonne [Perry *et al.*, 2015]. Par contre, si l'envoi s'effectue au laboratoire associé, l'échantillon est stabilisé et le sérum est préparé et congelé avant l'envoi à l'HMR. Les échantillons sont regroupés et analysés en groupe de façon à maximiser l'efficacité, mais toujours en respectant les délais requis par la clinique. Des analyses peuvent être effectuées en urgence (STAT) avec un délai de sortie du résultat en moins de 24 à 48 heures.

3.4 Société ou concepteur

La mesure quantitative des niveaux sériques d'ADA et d'anti-ADA présents dans l'échantillon sera réalisée avec les troussees IDKmonitor^{MC} Adalimumab drug level, (Immundiagnostik, Bensheim, Allemagne) et Promonitor^{MC} -Anti-ADL (Progenika Biopharma, Derio, Espagne).

3.5 Homologation

Les deux troussees sont homologuées par Santé Canada :

- IDKmonitor^{MC} : numéro d'homologation 94889;
- Promonitor^{MC} -Anti-ADL: numéro de licence Santé Canada 94465.

3.6 Valeurs pondérées : adalimumab : 53,88 et anticorps anti-adalimumab libres : 58,14.

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par la présente analyse sont ceux atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin (MII) traitée avec adalimumab, qui ne répondent pas au traitement ou qui ont cessé d'y répondre. L'indication principale de cette analyse est l'évaluation de l'absence ou de la perte de réponse thérapeutique chez les patients.

Secondairement, les patients avec des maladies rhumatoïdes et psoriasiques (polyarthrite rhumatoïde, arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire, spondylarthrite ankylosante, rhumatisme psoriasique, hidradénite suppurée et psoriasis) sont aussi visés.

4.2 Description des maladies visées

Les maladies intestinales inflammatoires (MII) comprennent notamment la maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU). Ce sont des maladies auto-immunes caractérisées par des périodes récurrentes d'exacerbations et de rémissions et dont les causes exactes demeurent inconnues. L'inflammation résulte d'une réponse immunitaire inappropriée et elle implique la libération de plusieurs médiateurs inflammatoires, dont le TNF- α [Silva-Ferreira *et al.*, 2016].

Les MII touchent des patients d'âge variable, mais elles débutent habituellement avant 30 ans, avec un pic d'incidence entre 14 et 24 ans. Elles peuvent avoir un second pic, moins important en incidence, entre 50 et 70 ans [Porter, 2014].

Selon les données cumulées entre 1998 et 2000 au Canada, l'incidence moyenne pour la MC et la CU était respectivement de 13,4 cas et 11,8 cas par 100 000 personnes-années [Fedorak *et al.*, 2010]. Le Québec figure parmi les provinces où le taux d'incidence de la MC est parmi les plus élevés au pays, soit 20,2 cas/100 000 personnes-années [Fedorak *et al.*, 2010; Lowe *et al.*, 2009].

Les données du recensement 2007-2008 indiquent que la prévalence de la MC et de la CU au Canada était respectivement de 374 et 456 cas par 100 000 habitants, parmi les plus élevées au monde. Au Québec, dans la même période, la prévalence de la MC était de 300 et d'environ 375 cas par 100 000 habitants pour la CU [Fedorak *et al.*, 2010].

Concernant la mortalité principalement attribuable à la MC et à la CU, des moyennes annuelles de 91 et de 44 décès ont été enregistrées au Canada entre 2009 et 2013, soit environ 0,06 % de tous les décès pendant la même période³.

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur mentionne que pour l'ensemble du Québec en 2016, ils ont effectué 286 analyses ADA et 61 analyses d'anti-ADA libres⁴. La proportion des analyses effectuées pour les patients de l'HMR était de 33 %.

Le demandeur estime que la volumétrie présentée plus haut pourrait être multipliée au minimum par 3 pour l'an 1. De plus, les gastroentérologues d'HMR estiment que la prescription des anti-TNF α se répartit comme suit : 60 % pour l'infliximab et 40 % pour l'ADA. Comme l'HMR a effectué 5 849 analyses de l'infliximab en 2016, un maximum de 3 900 tests pour l'ADA pourraient être effectués pour l'an 3.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, le dosage de l'ADA et des anticorps anti-ADA est réalisé hors réseau. Le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*) contient une analyse semblable pour la détection de l'infliximab (IFX) et des anticorps anti-IFX par ELISA (code : 30098). Les indications cliniques reconnues pour l'adalimumab par Santé Canada figurent à l'annexe A.

4.5 Données médico-administratives

Tableau 1 Nombre et coût des analyses envoyées hors Québec concernant le dosage de l'adalimumab et des anti-ADA pour les années 2013-2016

PÉRIODE	LABORATOIRE (ÉCHANTILLONS, N)	PRIX UNITAIRE, \$CAN	COÛT TOTAL ANNUEL, \$CAN
2015-2016	Gamma Dynacare (444) Université de Leuven (175) Autres (3)	275-295 44-142 142-1 779	149 382
2014-2015	Gamma Dynacare (89) Prometheus Lab (32) Université de Leuven (37) Autres (5)	118-295 414-1 692 44-88 85-497	73 649
2013-2014	Clinique Mayo (11) Gamma Dynacare (7) Prometheus Lab (54) Université de Leuven (21)	1 549 295 1 379-2 575 87	150 413

³ Statistique Canada, CANSIM – Tableau 102-0531 – Décès, selon la cause, chapitre XI : Maladies de l'appareil digestif (K00 to K93), le groupe d'âge et le sexe, Canada, annuel (2007-2011). Disponible à : <http://www5.statcan.gc.ca/cansim/home-accueil?lang=fra&p2=50&HPA> (consulté le 25 mai 2017).

⁴ Ces données sont issues d'un projet de recherche du centre demandeur dont un des objectifs était de décrire l'utilisation de la pharmacovigilance thérapeutique (de l'anglais therapeutic drug monitoring) de l'adalimumab dans le réseau public québécois.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, tous les agents biologiques, étant des molécules exogènes, peuvent produire une réaction immunologique chez le patient. Bien que la littérature rapporte souvent ce phénomène pour l'infliximab, la formation des anticorps anti-médicament est également rapportée pour l'ADA.

En plus de la pharmaco-résistance acquise, les effets secondaires liés à la médication et l'absence de réponse primaire sont des problèmes fréquemment rencontrés avec les agents anti-TNF. Ces agents possèdent une fenêtre thérapeutique étroite et ils sont dotés d'une grande variabilité interindividuelle. Par exemple, lorsque la concentration d'ADA dans l'organisme se situe sous un seuil minimal, une réponse thérapeutique adéquate ne peut être obtenue et des anticorps anti-ADA peuvent se développer. L'analyse proposée constitue donc un outil de pharmacovigilance favorisant l'optimisation et l'efficacité du traitement. Un algorithme de traitement est proposé par le centre demandeur et joint au présent avis à l'annexe B.

En cas d'absence ou de perte de réponse à l'ADA, l'analyse proposée permettrait d'optimiser le traitement au moyen d'une des actions cliniques suivantes :

- un changement de classe thérapeutique;
- une intensification du régime posologique (optimisation de la dose ou l'augmentation de la fréquence d'administration);
- un changement d'anti-TNF de la même classe.

Cela permettrait d'éviter la récurrence des maladies inflammatoires de l'intestin, d'ajuster la posologie, d'éviter une médication qui n'est plus efficace, de diminuer les visites à l'urgence, les consultations et les hospitalisations.

4.7 Assurance qualité

Selon le demandeur, un programme d'assurance qualité complet (documentation complète, contrôles de qualité internes et externes) est déjà mis en place. L'analyse fera partie de leur portée d'accréditation par Agrément Canada. Le laboratoire demandeur compte plusieurs technologues médicaux formés spécifiquement pour ces techniques et/ou plateformes analytiques. Deux niveaux de validation sont en place (validation technique et validation professionnelle par le biochimiste clinique responsable). Les analyses seront sous la responsabilité professionnelle d'un biochimiste clinique expérimenté et reconnu pour son expertise en TDM des anti-TNF α .

En attendant la disponibilité commerciale d'un programme externe de la qualité, le demandeur participera à un programme trimestriel d'échange inter-laboratoires avec 2 autres laboratoires offrant les analyses : Dynacare et le laboratoire du Dre Connie Prosser, Alberta Health Services, Laboratory Medicine & Pathology, Edmonton, Alberta.

Le programme consistera en un échange d'un minimum de 2 échantillons pour l'adalimumab et de 2 échantillons d'anti-ADA libres (pour un total d'au moins 8 échantillons) par trimestre.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

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

5.2 Valeur pronostique

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

5.3 Valeur thérapeutique

5.3.1 Maladies inflammatoires de l'intestin

Étude de Roblin et ses collaborateurs [2014]

Cette étude prospective observationnelle a évalué l'association entre la pharmacocinétique de l'ADA (mesure des concentrations résiduelles et des anti-ADA), la rémission clinique et la guérison de la muqueuse intestinale chez 40 patients atteints de MII (22 MC et 18 CU). Les patients répondant à un traitement d'induction à l'ADA ont reçu une thérapie de maintien. L'obtention d'une rémission clinique et d'une guérison des muqueuses a été évaluée à l'aide de critères cliniques et endoscopiques établis. Les échantillons sanguins ont été prélevés juste avant l'injection, de manière à déterminer la concentration résiduelle d'ADA et la présence d'anticorps anti-ADA, et ce, à l'aide d'une méthode ELISA. À la suite d'un traitement d'une durée moyenne de 10,7 mois, le taux de rémission clinique était de 33 % et le taux de guérison de la muqueuse intestinale était de 40 %. La médiane de la concentration résiduelle d'ADA mesurée juste avant l'injection était de 4,9 µg/ml (soit entre 1,6 µg/ml et 6 µg/ml). Des anticorps anti-ADA ont été détectés chez 9 patients (22,5 %) [Roblin *et al.*, 2014a].

La médiane des concentrations résiduelles d'ADA était significativement plus élevée chez les patients en rémission clinique que chez les patients avec une maladie active (6,02 µg/ml contre 3,2 µg/ml; $p = 0,012$). Ces valeurs étaient également plus élevées chez les patients avec guérison de la muqueuse intestinale que chez les patients sans guérison de la muqueuse (6,5 µg/ml contre 4,2 µg/ml; $p < 0,005$). Concernant les titres d'anticorps anti-ADA, aucune différence significative n'a été constatée.

L'analyse d'une courbe ROC a permis d'identifier la concentration seuil optimale d'ADA relativement à la prédiction d'une guérison des muqueuses (AUROC : 0,77; $p = 0,005$). L'absence de guérison des muqueuses a été associée à des valeurs résiduelles d'ADA inférieures à 4,9 µg/ml (rapport de vraisemblance : 4,3; sensibilité : 66 %; spécificité : 85 %). Tandis que pour la rémission clinique, l'analyse de la courbe ROC a identifié une concentration résiduelle d'ADA de 4,85 µg/ml (aire sous la courbe : 0,73; $p = 0,11$, rapport de vraisemblance : 2,5; sensibilité : 81 %, spécificité : 67 %). Une analyse multivariée a démontré que les concentrations résiduelles et la durée du traitement à l'ADA étaient des facteurs indépendamment associés à la guérison des muqueuses (risque relatif, RR : 0,62; IC95 % : 0,41 à 0,94; $p = 0,026$) et (RR : 0,82; IC95 % : 0,68 à 0,97; $p = 0,026$), respectivement.

En conclusion, une concentration résiduelle supérieure à 4,9 µg/ml d'ADA prédit une rémission clinique et une guérison des muqueuses intestinales, tandis que la présence d'anti-ADA prédit un manque de guérison de la muqueuse intestinale [Roblin *et al.*, 2014a].

Étude de Roblin et ses collaborateurs [2014b]

Roblin et ses collègues ont également réalisé une étude prospective unicentrique dont l'objectif principal était de déterminer si le suivi thérapeutique de l'ADA pouvait prédire la rémission clinique suivant une intensification de la dose pour la perte de réponse chez les patients avec MII [Roblin *et al.*, 2014b]. Au total, 82 patients ayant présenté une rechute clinique sous traitement standard (40 mg d'ADA aux deux semaines) ont été inclus dans l'étude et ont bénéficié d'une intensification de la dose (40 mg d'ADA par semaine). Une substitution par l'infliximab était permise chez les patients présentant une rechute malgré l'intensification de la dose d'ADA. Les paramètres de l'évaluation étaient la proportion des patients en rémission à 6 mois et à 1 an après une intensification de la dose ou une substitution par l'infliximab (chez 52 patients).

La concentration sérique résiduelle d'ADA et la présence d'anti-ADA ont été évaluées par ELISA à partir d'un échantillon sanguin prélevé juste avant l'administration d'une nouvelle dose (ADA ou IFX). À la suite des mesures sériques effectuées, la valeur prédictive d'une rémission clinique a été calculée dans trois groupes de patients (tableaux 2 et 3) :

- Groupe 1 : concentration résiduelle d'ADA > 4,9 µg/ml (n = 41) et anti-ADA détectables (10 d'entre eux);
- Groupe 2 : concentration résiduelle d'ADA < 4,9 µg/ml et anti-ADA non détectables (n = 24);
- Groupe 3 : concentration résiduelle d'ADA < 4,9 µg/ml et anti-ADA détectables (n = 17).

Tableau 2 Réponse clinique à l'intensification de la dose d'adalimumab en fonction des paramètres du suivi thérapeutique chez des patients atteints d'une MII récidivante

	GROUPE 1 N = 41*	GROUPE 2 N = 24	GROUPE 3 N = 17
INTENSIFICATION DE LA DOSE D'ADALIMUMAB N (%)			
Patients en rémission à 6 mois	12 (29,2)	16 (67)	2 (12)
Patients en rémission à 1 an	0 (0)	13 (52)	0 (0)
Patients sans rémission	15 (37)	2 (8)	10 (58)
Survie moyenne sans récurrence [†]	5 mois (± 2)	15 mois (± 5)	4 mois (± 3)

Source : [Roblin *et al.*, 2014b].

*10 patients avec anti-ADA détectables (aucune influence sur le taux de rémission).

[†]Temps entre l'optimisation de la dose et l'échec thérapeutique.

Tableau 3 Réponse clinique à la substitution de l'adalimumab par l'infliximab en fonction des paramètres du suivi thérapeutique chez des patients atteints d'une MII récidivante

	GROUPE 1 N = 29*	GROUPE 2 N = 8	GROUPE 3 N = 15
ÉCHEC DE L'INTENSIFICATION DE L'ADALIMUMAB : SUBSTITUTION PAR L'INFLIXIMAB N (%)			
Patients en rémission à 6 mois	2 (6,9)	2 (25)	12 (80)
Patients en rémission à 1 an	0 (0)	0 (0)	8 (55)
Patients sans rémission	20 (68)	4 (50)	2 (13)
Survie moyenne sans récurrence [†]	3 mois (± 2)	5 mois (± 3)	14 mois (± 7)

Source : [Roblin *et al.*, 2014b].

* 6 patients avec anti-ADA détectables.

[†] Temps entre la substitution de l'ADA par l'IFX et l'échec thérapeutique.

Ces résultats démontrent ce qui suit :

- une concentration résiduelle d'ADA > 4,9 µg/mL (groupe 1) est associée à un échec de traitement aux deux anti-TNF (ADA et IFX) dans la majorité des cas de perte de réponse à l'ADA; un changement de classe thérapeutique devrait être considéré;
- une concentration résiduelle d'ADA < 4,9 µg/mL sans présence d'anticorps anti-ADA (groupe 2) prédit une rémission clinique dans 67 % des cas à 6 mois et dans 52 % des cas à 1 an, et ce, après intensification de la dose d'ADA;
- une concentration résiduelle d'ADA < 4,9 µg/mL avec présence d'anticorps anti-ADA (groupe 3) prédit un échec dans 88 % des cas à 6 mois et dans 100 % des cas à 1 an, et ce, malgré une intensification de la dose d'ADA. Une substitution d'anti-TNF devrait alors être envisagée.

Selon la conclusion des auteurs, les concentrations sériques résiduelles d'ADA et d'anticorps anti-ADA peuvent avoir une influence sur la prise en charge des patients avec MII présentant une rechute en cours de traitement. De faibles concentrations résiduelles d'ADA en absence d'anticorps anti-ADA sont prédictives d'une réponse favorable à l'intensification de la dose d'ADA chez 67 % des cas. À l'inverse, une substitution à l'infliximab devrait être considérée chez les patients présentant à la fois de faibles concentrations résiduelles d'ADA et d'anticorps anti-ADA détectables [Roblin *et al.*, 2014b].

Étude de Yanai et ses collaborateurs [2015]

L'étude de cohorte rétrospective multicentrique de Yanai et ses collègues a été réalisée auprès de 247 adultes et enfants atteints d'une MII, traités avec un anti-TNF et suspectés d'une perte de la réponse. Elle avait pour but d'évaluer la corrélation entre la concentration résiduelle d'anti-TNF, l'apparition d'anticorps contre ces médicaments et l'issue des interventions réalisées dans cette population. Les mesures ont été effectuées par ELISA. Au total, 330 épisodes de perte de réponse ont été évalués, dont 142 uniquement pour l'ADA. La réapparition des symptômes de MII devait être

accompagnée d'une activité inflammatoire documentée (protéine C, calprotectine fécale, endoscopie ou imagerie) [Yanai *et al.*, 2015].

- Concernant la valeur prédictive d'une récurrence de l'activité inflammatoire, une analyse de type ROC a permis d'établir la concentration résiduelle optimale d'ADA à 3 µg/ml (AUROC : 0,79; sensibilité : 73 %; spécificité : 79 %; $p < 0,01$).
- Une intensification de la dose a été effectuée dans 52 des 142 épisodes de perte de réponse clinique à l'ADA (37 %). Une différence significative entre les concentrations résiduelles moyennes mesurées chez les patients avec réponse à l'intensification et ceux sans réponse a été observée (0,3 µg/ml contre 3,2 µg/ml, respectivement; $p < 0,01$). Toutefois, selon les auteurs, la valeur prédictive de la réponse à l'intensification de la dose d'ADA par l'intermédiaire d'une mesure de la concentration résiduelle demeure modeste (AUROC : 0,67; sensibilité $\approx$ 80 %; spécificité < 60 %; $p < 0,01$). Un chevauchement dans la distribution des mesures de la concentration résiduelle d'ADA entre les deux groupes pourrait expliquer cette situation.
- C'est à une valeur supérieure à 4,5 µg/ml que la concentration résiduelle d'ADA, au moment de la perte de réponse, prédit plus clairement un échec de l'intensification de la dose (spécificité : 90 %; VPP : 85 %; VPN : 39,5 %) et prédit, par le fait même, une réponse favorable à un traitement symptomatique sans modification spécifique de l'anti-TNF (spécificité : 75 %; VPP : 88 %; VPN : 26 %) ou à un changement de classe thérapeutique (spécificité : 100 %; VPP : 100 %; VPN : 74 %).
- Concernant les concentrations d'anticorps anti-ADA mesurées juste avant l'intensification de la dose ($n = 52$), un certain chevauchement des valeurs a également été constaté selon que l'intervention se soldait par une réponse ou non. Toutefois, un titre d'anticorps anti-ADA supérieur à 4 µg/ml-éq prédit un échec thérapeutique à court terme de l'intensification de la dose (spécificité : 90 %; VPP : 76 %; VPN : 75 %).

Selon la conclusion des auteurs, les concentrations résiduelles d'ADA et celles des anti-ADA peuvent guider les décisions thérapeutiques chez la majorité (2/3) des patients soupçonnés d'une perte de réponse au traitement. Toujours selon les auteurs, ces mesures sont particulièrement utiles pour identifier les patients nécessitant une intensification du traitement, le changement d'anti-TNF, le changement de classe thérapeutique ou le traitement symptomatique [Yanai *et al.*, 2015].

Étude d'Ungar et ses collaborateurs [2016]

Cette étude rétrospective avait comme objectif, entre autres, de définir la concentration sérique optimale d'ADA associée à l'atteinte et au maintien d'une guérison de la muqueuse intestinale chez 67 patients atteints de MII [Ungar *et al.*, 2016].

Les concentrations sériques d'ADA et d'anti-ADA ont été mesurées par ELISA. L'obtention d'une guérison des muqueuses a été évaluée à l'aide de critères endoscopiques établis.

Les patients avec une guérison endoscopique de la muqueuse (n = 22) présentaient des concentrations sériques d'ADA statistiquement supérieures par rapport à ceux présentant une inflammation active (6,2 µg/ml contre 3,1 µg/ml; p = 0,01).

L'analyse de la courbe ROC a permis de déterminer qu'une concentration sérique d'ADA de 7,1 µg/ml était associée à la guérison de la muqueuse, avec une spécificité de 85 % (AUROC : 0,7; p = 0,004; sensibilité : 32 %; VPP : 51 %; VPN : 72 %). La guérison de la muqueuse était présente chez 50 %, 75 % et 90 % des patients lorsque la concentration sérique d'ADA était supérieure à 7,5 µg/ml, 8 µg/ml et 12 µg/ml, respectivement.

Des anti-ADA ont été mis en évidence chez 37 patients. Aucune différence des taux de guérison des muqueuses des patients avec une concentration en ADA satisfaisante (> 4,9 µg/ml) n'a été observée en fonction de la présence ou de l'absence d'anti-ADA, et ce, contrairement aux données obtenues dans le groupe traité à l'IFX (non rapportées dans cet avis).

Les auteurs concluent qu'une concentration sérique d'ADA de plus de 7,1 µg/ml prédit la guérison de la muqueuse intestinale. Selon eux, l'intervalle de concentrations pouvant être considéré comme fenêtre thérapeutique se situe entre 8 µg/ml et 12 µg/ml. Cependant, la présence d'anti-ADA affectera le taux de guérison de la muqueuse intestinale, et ce, même chez les patients avec des niveaux sériques satisfaisants d'ADA [Ungar *et al.*, 2016].

Étude de Morita et ses collaborateurs [2016]

Cette étude rétrospective avait pour objectif d'évaluer l'association entre les concentrations sériques résiduelles d'ADA mesurées par ELISA et la guérison de la muqueuse intestinale chez 42 patients avec MC sous thérapie de maintien⁵ [Morita *et al.*, 2016].

L'activité endoscopique de la maladie était inversement associée aux concentrations sériques résiduelles d'ADA (p < 0,01). La guérison de la muqueuse intestinale a été observée chez 14 patients (33,3 %). Selon l'analyse univariée, les concentrations sériques résiduelles moyennes d'ADA chez les patients avec guérison de la muqueuse intestinale étaient significativement plus élevées que chez ceux sans guérison (11,7 µg/ml contre 7,5 µg/ml; p = 0,002). L'analyse de la courbe ROC a permis de déterminer qu'une concentration résiduelle de 7,9 µg/ml était associée à la guérison de la muqueuse intestinale avec une spécificité de 86 % (AUROC : 0,79 [IC95 % : 0,65 à 0,93]; p < 0,001; sensibilité : 69 %; RC : 13,5).

En conclusion, une association entre les concentrations sériques résiduelles d'ADA et la guérison de la muqueuse intestinale a été démontrée chez les patients avec la maladie de Crohn sous thérapie de maintien [Morita *et al.*, 2016].

Étude de Papamichael et ses collaborateurs [2017]

Cette étude rétrospective avait comme objectif d'évaluer l'association entre les concentrations sériques d'ADA pendant la période d'induction du traitement⁶ et la

⁵ 40 mg chaque 2 semaines, pour au moins 6 mois

⁶ 160 et 80 mg à la semaine 0 et 2 respectivement

guérison précoce de la muqueuse intestinale (GPMI) chez 43 patients avec CU modérée à grave. La majorité des cas (n = 38) avait échoué un traitement avec l'infliximab [Papamichael *et al.*, 2017].

L'évaluation endoscopique a été effectuée avant et après le traitement d'induction (semaines 8 à 14) selon des critères endoscopiques établis. L'optimisation du traitement a été définie comme étant l'augmentation de la dose de 40 mg à 80 mg ou la diminution de l'intervalle entre les doses, ou la combinaison de ces deux critères. Les niveaux sériques d'ADA et d'anti-ADA ont été mesurés par ELISA juste avant l'injection et aux semaines 2 ou 4.

Au total, 12 patients ont atteint la GPMI. À la semaine 4, la concentration sérique d'ADA chez les patients qui présentaient une GPMI était plus élevée par rapport à ceux sans GPMI (10,6 µg/ml contre 7,4 µg/ml; p = 0,014).

L'analyse de la courbe ROC a permis de déterminer qu'une concentration de 9,4 µg/ml d'ADA à la semaine 4 était associée à la GPMI avec une spécificité de 77 % (AUROC := 0,778; IC 95 % : 0,609 à 0,946); p = 0,014; sensibilité : 67 %; VPP : 50 %; VPN : 87 %). Cependant, l'analyse de la courbe ROC à la semaine 2 n'a pas permis de démontrer une telle association.

Selon l'analyse des quartiles des niveaux sériques d'ADA à la semaine 4, aucun patient avec des niveaux inférieurs à 5,1 µg/ml n'a présenté de GPMI, alors que ces proportions étaient de 22 %, 22 % et 56 % pour les concentrations se situant entre 5,1 et 8,5 µg/ml, entre 8,5 et 10,6 µg/ml et supérieures à 10,6 µg/ml, respectivement. L'impact des anti-ADA sur la GPMI n'a pu être évalué étant donné qu'aucun des patients positifs n'a présenté des niveaux sériques d'ADA détectables.

Selon l'analyse de régression multivariée, la présence d'une maladie sévère (saignement spontané, ulcération) en début de traitement (RC : 0,056; [IC95 % : 0,006 à 0,560]; p = 0,014) et un traitement antérieur à l'IFX (RC : 0,056; [IC95 % : 0,003 à 0,923]; p = 0,044) sont les seuls paramètres associés de façon indépendante à la guérison de la muqueuse à court terme (association négative). Toutefois, une concentration seuil minimale de 7,5 µg/ml d'ADA à la semaine 4 a également été identifiée comme variable prédictive indépendante d'une guérison de la muqueuse à court terme (RC : 23,2 [IC95 % : 1,7 à 324]; p = 0,019).

Selon la conclusion des auteurs, cette étude suggère que les concentrations sériques d'ADA mesurées après le traitement d'induction peuvent prédire l'atteinte ou non d'une guérison précoce de la muqueuse intestinale. L'optimisation préventive précoce de la dose d'ADA pourrait améliorer les résultats thérapeutiques [Papamichael *et al.*, 2017].

Maladies rhumatoïdes : l'étude de Kneepkens [2015]

Cette étude observationnelle prospective avait comme objectif d'évaluer l'association entre la réponse clinique et les niveaux sériques d'ADA et d'anti-ADA, mesurés par ELISA, chez 104 adultes avec spondylarthrite ankylosante (SA) [Kneepkens *et al.*, 2015].

Tous les patients ont commencé l'ADA en monothérapie, ou en combinaison avec un anti-inflammatoire non stéroïdien ou des médicaments immunomodulateurs. La dose

initiale était de 40 mg aux 2 semaines. La fréquence pouvait être optimisée au besoin. La réponse clinique a été évaluée au début du traitement et à chaque visite selon des critères cliniques établis spécifiques à la SA.

Après 24 semaines de traitement, la concentration sérique médiane d'ADA était de 9,7 µg/ml (3,9 à 15,7 µg/ml) et variait de non détectable à 56,7 µg/ml chez les patients traités avec une dose de 40 mg à chaque semaine. Une réponse clinique a été observée chez 49 patients. Aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations sériques d'ADA des patients avec une réponse clinique par rapport à ceux sans réponse (12,0 contre 7,4 µg/ml, $p = 0,3$).

Des anti-ADA ont été détectés chez 13 patients après 12 semaines de traitement et chez 31 (27,0 %) après 24 semaines. Les concentrations sériques d'ADA étaient significativement plus élevées chez les patients sans anti-ADA par rapport aux patients avec anti-ADA (12,7 µg/ml contre 1,2 µg/ml; $p < 0,001$). Aucune différence significative n'a été observée entre les proportions de patients avec anti-ADA du groupe ayant présenté une réponse par rapport à ceux n'ayant pas répondu au traitement (28,6 % contre 25,5 %; $p = 0,56$).

Selon les auteurs, les concentrations sériques d'ADA présentent une importante variabilité parmi les patients et semblent être influencées par la présence d'anti-ADA. Cependant, certains patients ont présenté une amélioration clinique malgré de faibles concentrations sériques d'ADA. La personnalisation de ce traitement dispendieux est particulièrement importante dans la prise en charge de la SA, où les options de traitement sont limitées [Kneepkens *et al.*, 2015].

Psoriasis : L'étude de Manriquez [2017]

Cette étude prospective de cohorte avait notamment comme objectif d'évaluer l'association entre la concentration sérique d'ADA, la présence d'anti-ADA et l'efficacité clinique d'un traitement d'ADA à long terme⁷ chez 11 patients atteints de psoriasis modéré à grave [Manriquez et Alsina-Gibert, 2017].

Les niveaux sériques résiduels d'ADA et les anti-ADA ont été mesurés par ELISA. Les échantillons sanguins et l'évaluation clinique ont été faits dans les 24 heures précédant l'administration d'ADA. La réponse clinique, mesurée à toutes les visites, a été évaluée à partir des critères établis et spécifiques pour le psoriasis. La réponse a été catégorisée en fonction de la visite précédente (amélioration, aucun effet ou dégradation) et en fonction du pourcentage d'amélioration depuis le début du traitement : < 75 %, 75 à 90 % et > 90 % d'amélioration. Ces catégories ont été comparées selon les concentrations sériques d'ADA et d'anti-ADA.

Les résultats n'ont montré aucune association entre les concentrations sériques d'ADA et la réponse clinique ($p > 0,05$). Aucun patient n'a développé d'anti-ADA [Manriquez et Alsina-Gibert, 2017].

⁷ Les patients ont reçu un traitement d'induction standard (160 mg au début de la thérapie, 80 mg après 2 semaines et ensuite 40 mg aux 2 semaines pour 48 semaines).

5.4 Validité analytique

Étude de Fabris et ses collaborateurs [2015]

Cette étude rétrospective avait comme objectif de comparer les performances analytiques de trois ELISA commerciaux (IDKmonitor^{MC}, Promonitor^{MC} et Lisa-Traker^{MC}) conçus pour détecter les anti-ADA [Fabris *et al.*, 2015].

Au total, 40 patients avec polyarthrites inflammatoires chroniques (âge moyen 54 ± 11 ans) ont été recrutés. Ce groupe comportait des patients ayant répondu à un traitement à l'ADA ($n = 9$), des patients n'ayant pas répondu ou en perte de réponse ($n = 14$), ainsi que des patients ayant présenté un échec du traitement dans le passé (cas rétrospectifs, $n = 17$). Les échantillons sériques ont été récoltés avant l'injection d'ADA ou après la discontinuation de ce dernier.

Chez les 9 patients avec réponse à la thérapie, le dosage des anti-ADA s'est avéré négatif avec les trois essais. Des 14 patients qui n'ont pas répondu à l'ADA et qui étaient toujours sous traitement au moment du test, 12 ont obtenu des résultats concordants avec les 3 essais. Dans le groupe de 17 patients rétrospectifs qui n'ont pas répondu à l'ADA, 10 présentaient des résultats concordants entre les 3 tests [Fabris *et al.*, 2015].

L'étude de Llinares-Tello [2012]

En 2012, Llinares-Tello et ses collègues ont évalué la performance analytique de deux essais ELISA Promonitor^{MC} relativement au suivi thérapeutique de l'ADA et au dosage des anti-ADA chez 48 patients recevant le médicament. La variabilité inter et intra-essai a été évaluée sur une période de trois jours différents en réalisant l'analyse des mêmes échantillons en duplicata. La linéarité a été évaluée en effectuant des dilutions sériées d'un échantillon de référence. Les résultats sont résumés au tableau 4.

Tableau 4 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA et des anti-ADA par ELISA

ANALYTE	LOD	PRÉCISION (CV)		LINÉARITÉ (R ²)
		INTRA-ESSAI	INTER-ESSAI	
ADA	0,4 µg/ml	7,2 % à 9,5 %	11,9 % à 13,7 %	0,990 à 0,993
Anti-ADA	ND			

Source : Llinares-Tello *et al.*, 2012.

Abbréviations : ADA : adalimumab; anti-ADA : anticorps anti-adalimumab; CV : coefficients de variation; LOD : *limit of detection*.

L'étude de Ruiz-Arguello [2013]

En 2013, Ruiz-Arguello et ses collègues ont réalisé une étude qui avait pour objectif d'analyser la corrélation entre les trousses Promonitor^{MC} et un essai réalisé au Sanquin Blood Supply Diagnostic Service des Pays-Bas, entre autres relativement au dosage sérique de l'ADA et des anti-ADA. Sanquin utilise un ELISA standard pour doser l'ADA et un RIA pour les anti-ADA [Ruiz-Arguello *et al.*, 2013].

Au total, 30 échantillons sériques enrichis artificiellement d'ADA et d'anti-ADA de manière à couvrir un large éventail de concentrations ont été utilisés, soit 0,001 à 5 µg/ml et 1 à 5000 AU/ml, respectivement. Le coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour étudier l'association entre les deux essais et la méthode de Bland-Altman pour évaluer la différence (biais) entre les mesures obtenues. Il a été démontré que Sanquin surestime la quantité d'ADA et entraîne une erreur systématique qui augmente lorsque la concentration sérique est supérieure à 2 µg/ml. Considérant l'essai Promonitor^{MC}, cette surestimation s'est avérée significativement plus faible (biais Sanquin : - 1,140 ± 2,713 contre biais Promonitor^{MC} : - 0,159 ± 0,488). Le taux de recouvrement obtenu avec la trousse Promonitor^{MC} est plus près des valeurs réelles (122 %) comparativement à Sanquin (214 %). Le tableau 5 présente d'autres données de validité analytiques pour les trousse Promonitor^{MC}.

Tableau 5 Données de validité analytique des trousse Promonitor^{MC}

ANALYTE	LLOQ	VALEUR SEUIL*	CORRÉLATION AVEC RIA
ADA	2,9 ng/ml	24 ng/ml	R ² = 0,986 (p < 0,0001)
Anti-ADA	3,7 AU/ml	3,5 AU/ml	R ² = 0,996 (p < 0,0001)

Source : Ruiz-Arguello *et al.*, 2013.

Abréviations : ADA : adalimumab; anti-ADA : anticorps anti-adalimumab; RIA : *radio immunoassay*; LLOQ : *lower limit of quantification*.

* Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

5.5 Données de validité analytique fournies par les fabricants des trousse

Les données de validité analytique fournies par le fabricant de la trousse IDKmonitor^{MC}-ADL et Promonitor^{MC}- Anti-ADL sont résumées aux tableaux 6 à 10.

Sensibilité analytique IDKmonitor^{MC}-ADL

La limite des blancs (LOB de l'anglais *limit of blank*) a été évaluée selon la directive du Clinical & Laboratory Standards Institute EP-17-A2 et a été établie à 2,3 ng/ml.

Spécificité IDKmonitor^{MC}-ADL

Aucune réactivité croisée n'a été observée avec d'autres protéines plasmatiques de même qu'avec les anticorps anti-infliximab ou anti-golimumab.

Tableau 6 Données de précision analytique relativement au dosage sérique de l'ADA par ELISA avec la trousse IDKmonitor^{MC}-ADL (24 essais)

ÉCHANTILLON	ADALIMUMAB (µg/ml)	PRÉCISION (CV %)
1	2,7	1,5
2	8,3	1,5
3	18,0	2,6

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Tableau 7 Données de reproductibilité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA par ELISA avec la trousse IDKmonitor^{MC}-ADL (10 essais)

ÉCHANTILLON	ADALIMUMAB (µg/ml)	PRÉCISION (CV %)
1	8,3	8
2	4,1	4
3	19,4	13
4	15,7	5
5	10,6	6
6	2,8	4

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Tableau 8 Données de recouvrement sur des échantillons enrichis artificiellement avec différentes concentrations d'adalimumab avec la trousse IDKmonitor^{MC}-ADL

ÉCHANTILLON	NON ENRICHI	ADALIMUMAB (µg/ml)	
		ENRICHI	MESURÉ
1	< LOB	13,0	13,1
	< LOB	6,0	7,1
	< LOB	3,0	3,5
2	< LOB	30,0	32,4
	< LOB	19,0	20,8
	< LOB	11,0	11,0

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Tableau 9 Données de recouvrement sur des échantillons dilués à différentes concentrations d'adalimumab avec la trousse IDKmonitor^{MC}-ADL

ÉCHANTILLON	DILUTION	ADALIMUMAB (µg/ml)	
		ATTENDU	MESURÉ
1	1 : 200		8,55
	1 : 400	4,28	4,24
	1 : 800	2,14	1,93
	1 : 1 600	1,07	0,93
	1 : 3 200	0,53	0,51
2	1 : 200		19,57
	1 : 400	9,59	10,44
	1 : 800	4,79	5,23
	1 : 1 600	2,40	2,53
	1 : 3 200	1,20	1,15
	1 : 6 400	0,60	0,63
	1 : 12 800	0,30	0,37
3	1 : 200		10,46
	1 : 400	5,23	5,55
	1 : 800	2,62	2,62
	1 : 1 600	1,31	1,26
	1 : 3 200	0,65	0,66
4	1 : 200		16,36
	1 : 400	8,18	8,72
	1 : 800	4,09	4,37
	1 : 1 600	2,05	2,03
	1 : 3 200	1,02	0,96
	1 : 6 400	0,51	0,53
5	1 : 200		14,55
	1 : 400	7,28	7,78
	1 : 800	3,64	3,88
	1 : 1 600	1,82	1,80
	1 : 3 200	0,91	0,90
	1 : 6 400	0,45	0,49

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Tableau 10 Données de validité analytique relativement au dosage sérique des anticorps anti-ADA par ELISA avec la trousse Promonitor^{MC}- Anti-ADL

ANALYTE	SENSIBILITÉ ANALYTIQUE* AU/ml	LLOQ AU/ml	VALEUR SEUIL [†] AU/ml	PRÉCISION (CV %)		CORRÉLATION AVEC RIA	LINÉARITÉ AU/ml
				INTRA	INTER		
Anti-ADA	3	3,7	10	6,6	6,6	R ² = 0,992	196 à 8,5

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Abréviations : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; LLOQ : *lower limit of detection*; RIA : *radio immunoassay*.

* La concentration la plus faible à laquelle le dosage des anti-ADA produit de façon constante un résultat positif ou égal à la valeur seuil.

† Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* des analyses permettant la détection de l'adalimumab (ADA) et des anti-ADA par ELISA. 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 11. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

Analyse de l'adalimumab (ADA)

- Cette analyse cible les patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin (MII), de maladies rhumatoïdes et de maladies psoriasiques traitées avec l'adalimumab, qui ne répondent pas au traitement ou qui ont cessé d'y répondre.
- Une augmentation soutenue du nombre d'analyses envoyées hors Québec a été observée depuis 2013-2014.
- En 2015-2016, 622 analyses (ADA et anti-ADA) ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 240 \$. Le rapatriement de l'ensemble de ces tests est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Le centre demandeur a réalisé 286 analyses pour l'ensemble du Québec en 2016. Il anticipe que 3 fois plus d'analyses pourraient être effectuées une fois celle-ci introduite au *Répertoire*.
- Ainsi, il est estimé que 860, 2 400 et 3 900 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années, respectivement.
- Cette analyse représenterait 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 53,88.

Analyse des anticorps anti-adalimumab (anti-ADA)

- Si les concentrations sériques en ADA sont inférieures à 5 µg/ml, l'analyse des anti-ADA sera effectuée, soit l'équivalent d'environ 20 % des analyses de concentration sérique d'ADA.
- Ainsi, il est estimé que 172, 480 et 780 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années, respectivement.
- La valeur pondérée de l'analyse des anti-ADA est de 58,14.

Tableau 11 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* des analyses permettant la détection de l'adalimumab et des anti-adalimumab par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout des dosages de l'ADA et des anti-ADA au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	800	1 100	1 300	3 200
Coûts	192 000 \$	264 000 \$	312 000 \$	768 000 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout des dosages de l'ADA et des anti-ADA au <i>Répertoire</i>				
Analyses de l'ADA	860	2 400	3 900	7 160
Coûts	46 337 \$	129 312 \$	210 132 \$	385 781 \$
Analyse des anti-ADA	172	480	780	1 432
Coûts	10 000 \$	27 907 \$	45 349 \$	83 256 \$
Impact net	-135 663 \$	-106 781 \$	-56 519 \$	-298 963 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			-345 300 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			-273 300 \$

Ainsi, l'ajout des analyses permettant de doser les concentrations sériques de l'ADA et des anti-ADA par ELISA pourrait générer une réduction de coûts de près de 300 000 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, en considérant les algorithmes de prise en charge présentés aux annexes B et C, il est anticipé qu'une réduction des coûts de traitement de l'ordre de 2 500 \$ par test pourrait être réalisée suivant l'introduction de cette analyse au *Répertoire*.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Différents enjeux sont soulevés dans la section suivante.

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

National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

Le document publié en 2016 par le NICE intitulé *Therapeutic monitoring of TNF-alpha inhibitors in Crohn's disease (LISA-TRACKER ELISA kits, IDKmonitor ELISA kits, and Promonitor ELISA kits) (DG22)*, conclut que:

- Les preuves sont insuffisantes pour recommander l'utilisation de routine à travers le NHS (National Health Services) des trousse ELISA mentionnées en titre relativement au suivi thérapeutique des anti-TNF α chez les personnes atteintes de la maladie de Crohn (MC), et ce, malgré une promesse de valeur démontrée.
- Les laboratoires qui utilisent présentement les trousse ELISA mentionnées en titre pour le suivi thérapeutique des patients MC avec perte de réponse aux anti-TNF α devraient :
 - posséder une expertise spécialisée en interprétation d'essais immuno-enzymatiques, notamment de bien comprendre les facteurs techniques pouvant affecter les résultats d'un ELISA;
 - travailler étroitement avec le médecin demandeur ou traitant, en réseau, de manière à assurer une utilisation appropriée des analyses et une interprétation juste des résultats;
 - travailler avec les cliniciens de manière à cumuler prospectivement des données locales pour réaliser des audits ou pour transmettre à un registre existant.
- Davantage de recherche est nécessaire notamment sur les volets de la validité clinique et de l'efficacité des trousse ELISA mentionnées en titre relativement au suivi thérapeutique des patients MC qui répondent aux anti-TNF α .

Health Technology Assessment

Freeman et ses collaborateurs ont publié en novembre 2016, un rapport d'évaluation intitulé *Clinical effectiveness and cost-effectiveness of use of therapeutic monitoring of tumour necrosis factor alpha (TNF- α) inhibitors [LISA-TRACKER® enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits, TNF- α -Blocker ELISA kits and Promonitor® ELISA kits] versus standard care in patients with Crohn's disease: systematic reviews and economic modelling* [Freeman et al., 2016]. L'objectif principal était d'évaluer l'efficacité clinique et l'efficacité des tests ELISA dans le suivi thérapeutique de patients avec MC modérée à grave sous inhibiteurs du TNF- α par rapport au suivi standard.

Selon les auteurs, la variété des valeurs seuils de concentration sérique des inhibiteurs du TNF α observées dans les études reflète l'absence d'une valeur seuil validée.

- Les valeurs seuils dépendent du type de test utilisé, du moment où le test est effectué, du médicament analysé, de la présence ou de l'absence d'anticorps dirigés contre le médicament et du marqueur clinique utilisé pour évaluer la réponse au traitement.

- La signification clinique des valeurs seuils du test est incertaine, étant donné que les sensibilités et les spécificités des analyses ont été optimisées différemment et la définition de la perte de réponse aux inhibiteurs du TNF α était différente selon les études.
- Le moment de l'évaluation des patients et de la réalisation du test ELISA, qui ont été décrites de façon insuffisante dans les études, pourraient avoir un impact additionnel sur la variabilité des concentrations seuils d'inhibiteurs du TNF α .

Toujours selon les auteurs, plus de recherche doit être menée pour répondre aux questions suivantes :

- Comment la mesure des inhibiteurs du TNF α et leurs anticorps par ELISA varie comparativement au test RIA ou à d'autres méthodes ?
- Quelles sont les différences cliniquement significatives de performance entre les tests ELISA, RIA et HMSA⁸ ?
- Quel est le meilleur temps pour mesurer les concentrations sériques d'inhibiteurs du TNF α et ses anticorps et la fréquence des mesures ?
- Quelle est l'efficacité clinique et le coût-efficacité du suivi de patients adultes et pédiatriques atteints de la MC sous traitement d'inhibiteurs du TNF α ?

En conclusion, étant donné le manque d'évidences, notamment la rareté des études comparatives, il est difficile de tirer des conclusions définitives sur l'efficacité clinique des tests destinés à effectuer le suivi des patients traités avec les inhibiteurs du TNF α [Freeman *et al.*, 2016].

Le consensus du Groupe de Toronto pour la colite ulcéreuse

Ce groupe canadien d'experts a élaboré des lignes directrices pour la prise en charge des patients souffrant de colite ulcéreuse légère à grave. Les auteurs ont entre autres conclu que le suivi thérapeutique des patients sous inhibiteurs du TNF α doit être utilisé, lorsque disponible, afin de guider les décisions thérapeutiques, et ce, particulièrement pour les patients avec une perte secondaire de la réponse. Les auteurs ne font pas mention quant à l'utilisation d'une technique particulière [Bressler *et al.*, 2015].

⁸ HMSA : homogenous mobility shift assay

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab par ELISA

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

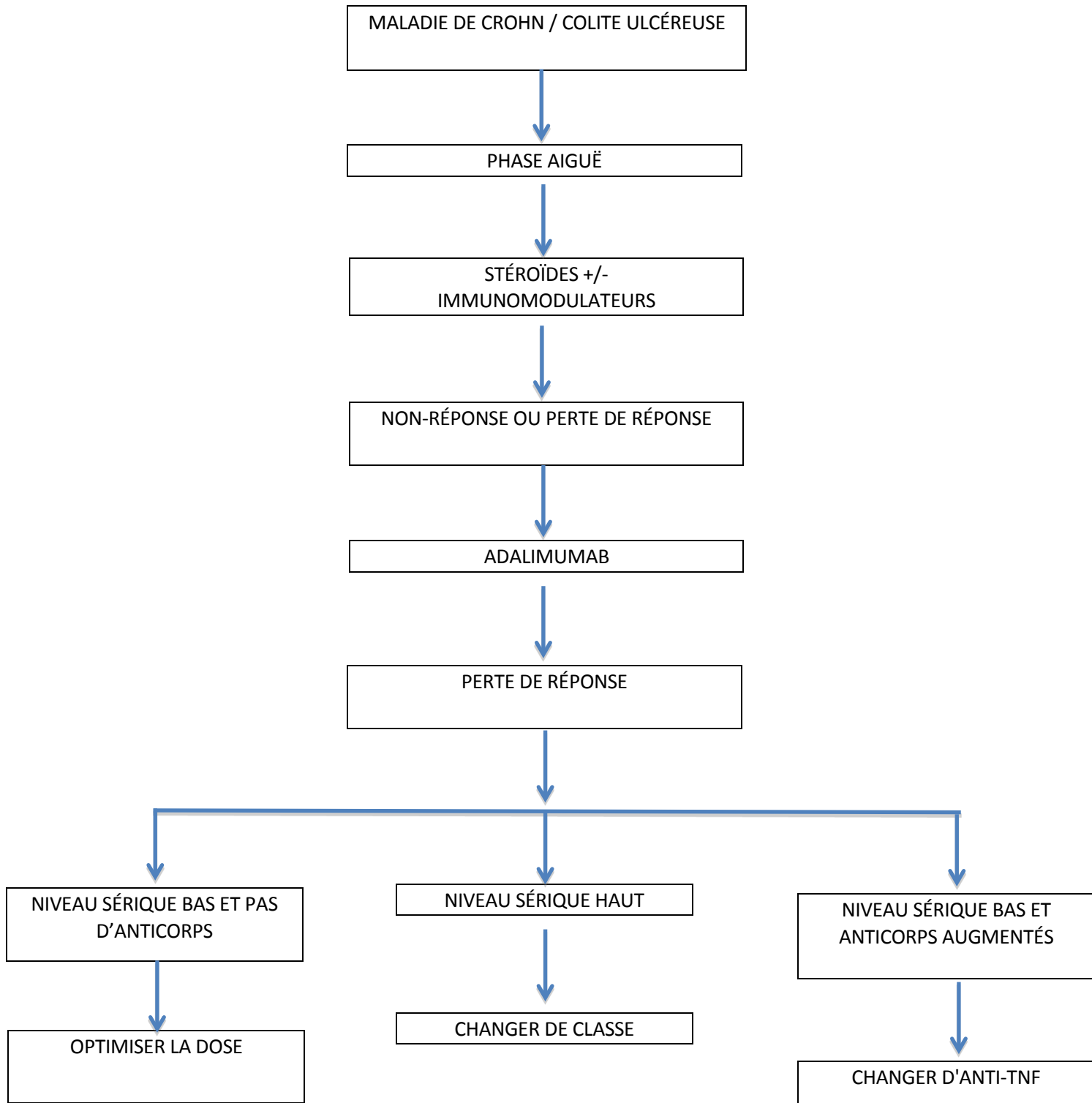
- ✓ L'analyse devrait être utilisée pour les patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin traitée avec l'adalimumab, qui ne répondent pas au traitement ou qui ont cessé d'y répondre.
- ✓ Les données locales de vérification de la trousse sont absentes. Le laboratoire demandeur doit fournir ces informations préalablement à sa désignation par le MSSS.
- ✓ La mise en place d'un système externe de contrôle de la qualité est également nécessaire.

ANNEXE A : Indications reconnues de l'adalimumab par Santé Canada et indications de paiement au Québec

L'adalimumab est un médicament d'exception au Québec, spécifiquement indiqué pour les maladies suivantes :

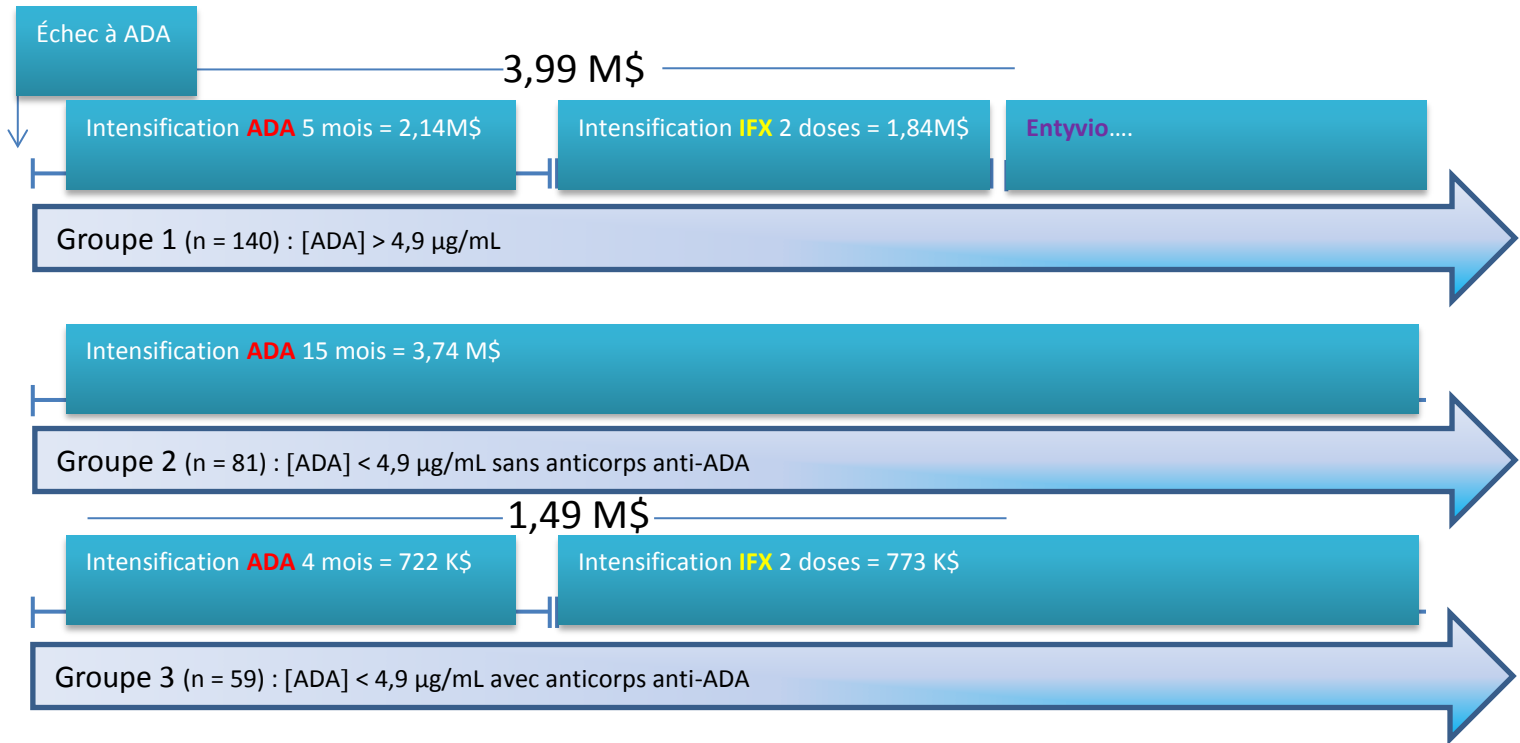
INDICATIONS RECONNUES PAR SANTÉ CANADA	INDICATIONS DE PAIEMENT RECONNUES AU QUÉBEC
Polyarthrite rhumatoïde	Polyarthrite rhumatoïde modérée ou grave
Rhumatisme psoriasique	Arthrite psoriasique modérée ou grave de forme rhumatoïde ou autre
Spondylarthrite ankylosante	Spondylite ankylosante modérée ou grave
Psoriasis	Psoriasis en plaques chronique grave
Maladie de Crohn	Maladie de Crohn modérée ou grave
Arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire	Autre indication thérapeutique (mesure du patient d'exception)
Colite ulcéreuse	

ANNEXE B : Algorithme de traitement optimal

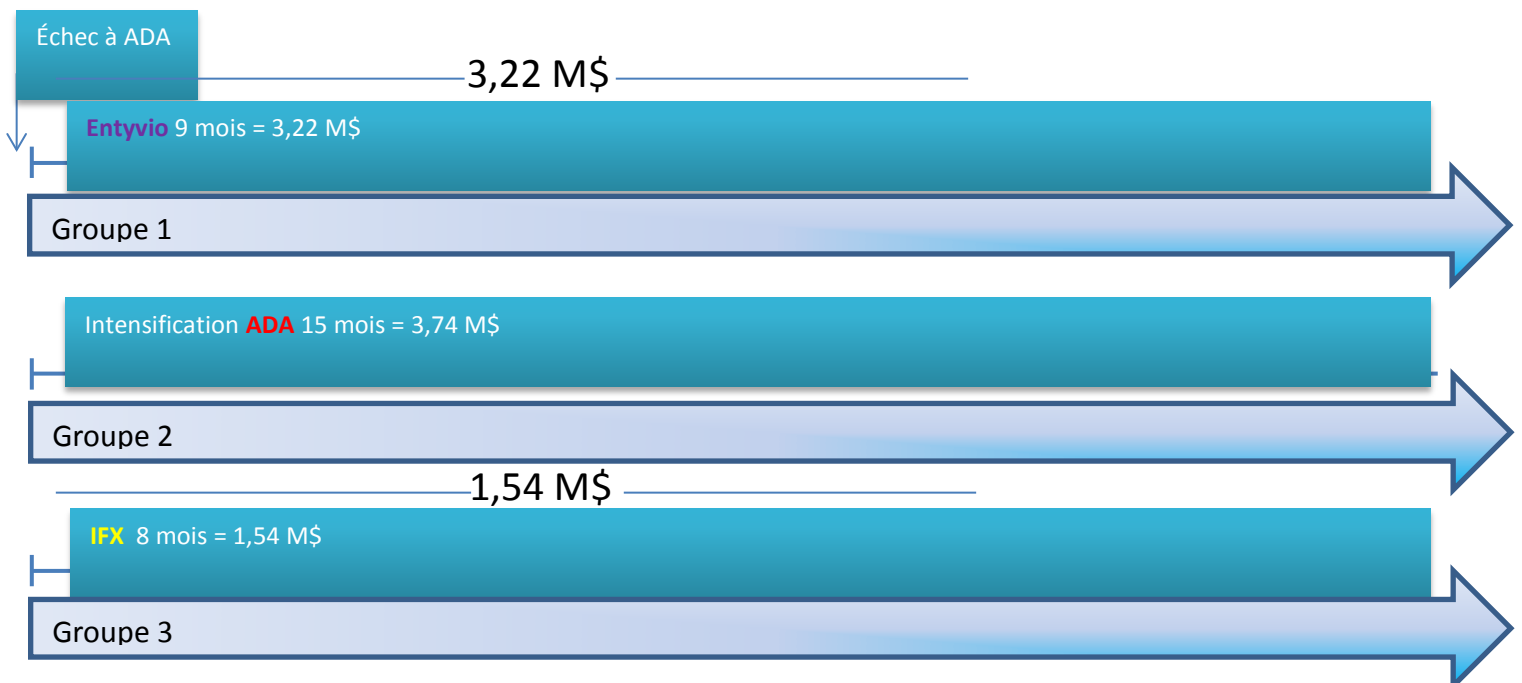


ANNEXE C : Algorithme de traitement

Sans l'introduction de l'analyse au Répertoire



Avec l'introduction de l'analyse au Répertoire



RÉFÉRENCES

- Bressler B, Marshall JK, Bernstein CN, Bitton A, Jones J, Leontiadis GI, et al. Clinical practice guidelines for the medical management of nonhospitalized ulcerative colitis: The Toronto consensus. *Gastroenterology* 2015;148(5):1035-58 e3.
- Fabris M, Pistis C, Zabotti A, Picco L, Curcio F, Tonutti E, De Vita S. The detection of anti-adalimumab antibodies in a series of inflammatory polyarthritis: Three ELISA methods compared. *Drug Metab Lett* 2015;9(2):132-7.
- Fedorak RN, Veldhuyzen van Zanten S, Bridges R. Canadian Digestive Health Foundation Public Impact Series: Gastroesophageal reflux disease in Canada: Incidence, prevalence, and direct and indirect economic impact. *Can J Gastroenterol* 2010;24(7):431-4.
- Freeman K, Connock M, Auguste P, Taylor-Phillips S, Mistry H, Shyangdan D, et al. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of use of therapeutic monitoring of tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) inhibitors [LISA-TRACKER(R) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits, TNF-alpha-Blocker ELISA kits and Promonitor(R) ELISA kits] versus standard care in patients with Crohn's disease: Systematic reviews and economic modelling. *Health Technol Assess* 2016;20(83):1-288.
- Kneepkens EL, Wei JC, Nurmohamed MT, Yeo KJ, Chen CY, van der Horst-Bruinsma IE, et al. Immunogenicity, adalimumab levels and clinical response in ankylosing spondylitis patients during 24 weeks of follow-up. *Ann Rheum Dis* 2015;74(2):396-401.
- Llinares-Tello F, de Salazar JR, Gallego JM, Soler GS, Ramirez CS, Heredia ES, Garcia JM. Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(10):1845-7.
- Lowe AM, Roy PO, B.-Poulin M, Michel P, Bitton A, St-Onge L, Brassard P. Epidemiology of Crohn's disease in Québec, Canada. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15(3):429-35.
- Manriquez J et Alsina-Gibert M. Determination of adalimumab and etanercept trough levels and drug antibodies in long-term psoriasis treatment: A single-centre cohort study. *Clin Exp Dermatol* 2017;42(1):14-20.
- Morita Y, Imaeda H, Nishida A, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, et al. Association between serum adalimumab concentrations and endoscopic disease activity in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31(11):1831-6.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Therapeutic monitoring of TNF-alpha inhibitors in Crohn's disease (LISA-TRACKER ELISA kits, IDKmonitor ELISA kits, and Promonitor ELISA kits). Londres, Angleterre : NICE; 2016. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/dg22>.
- Papamichael K, Baert F, Tops S, Assche GV, Rutgeerts P, Vermeire S, et al. Post-induction adalimumab concentration is associated with short-term mucosal healing in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2017;11(1):53-9.

- Perry M, Bewshea C, Brown R, So K, Ahmad T, McDonald T. Infliximab and adalimumab are stable in whole blood clotted samples for seven days at room temperature. *Ann Clin Biochem* 2015;52(Pt 6):672-4.
- Porter RS, réd. Le manuel Merck de diagnostic et de thérapeutique. 5^e éd. française. Paris, France : Éditions de médecine; 2014.
- Roblin X, Marotte H, Rinaudo M, Del Tedesco E, Moreau A, Phelip JM, et al. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014a;12(1):80-4 e2.
- Roblin X, Rinaudo M, Del Tedesco E, Phelip JM, Genin C, Peyrin-Biroulet L, Paul S. Development of an algorithm incorporating pharmacokinetics of adalimumab in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 2014b;109(8):1250-6.
- Ruiz-Arguello B, del Agua AR, Torres N, Monasterio A, Martinez A, Nagore D. Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med* 2013;51(12):e287-9.
- Silva-Ferreira F, Afonso J, Pinto-Lopes P, Magro F. A systematic review on infliximab and adalimumab drug monitoring: Levels, clinical outcomes and assays. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22(9):2289-301.
- Ungar B, Levy I, Yavne Y, Yavzori M, Picard O, Fudim E, et al. Optimizing anti-TNF-alpha therapy: Serum levels of infliximab and adalimumab are associated with mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14(4):550-7.e2.
- Yanai H, Lichtenstein L, Assa A, Mazor Y, Weiss B, Levine A, et al. Levels of drug and antidrug antibodies are associated with outcome of interventions after loss of response to infliximab or adalimumab. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13(3):522-30.e2.

PEPTIDE INTESTINAL VASOACTIF (RÉFÉRENCE - 2017.01.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHUM – Hôpital St-Luc
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Prosanto Chaudhury, (Chirurgien oncologue, CUSM);
- D^r André Bégin, (Chirurgien hépatobiliaire et pancréatique, CHUS).

2 RÉSUMÉ

Le peptide intestinal vasoactif (VIP de l'anglais *vasoactive intestinal peptide*) joue un rôle important dans la régulation de la motilité et de la fonction intestinale. Il est sécrété à des taux élevés (à partir de 200 pg/ml) par des VIPomes qui sont des tumeurs intra ou extra pancréatiques. Leur présence stimule la sécrétion d'eau et d'électrolytes dans l'intestin grêle en causant une diarrhée profuse ou sécrétoire accompagnée d'une hypokaliémie ou parfois d'une achlorhydrie. Celles-ci sont en majorité malignes malgré leur faible incidence s'évaluant à un cas sur 10 millions d'habitants.

Plusieurs rapports de cas évoquent l'utilisation de la concentration du VIP comme marqueur biologique indiquant la présence d'un VIPome, sa résection, ou même une récurrence de la tumeur après résection. Environ 90 % des cas d'augmentation anormale de la concentration du VIP sont associés à la présence d'une tumeur. La concentration de cette hormone est déterminée par un dosage radio-immunologique mettant en compétition l'hormone marquée et l'hormone non marquée du plasma pour un anticorps spécifique.

En moyenne, la concentration préopératoire de VIP de 410,7 pg/ml rapportée lors d'une étude de cas chez des patients atteints d'un VIPome passait à moins de 44,3 pg/ml après la résection de la tumeur. Un mois après la résection, la concentration moyenne était de 33 pg/ml chez les patients évalués.

Les lignes directrices du National Comprehensive Cancer Network recommandent l'analyse des concentrations plasmatiques du VIP et des électrolytes avant l'établissement d'un diagnostic de VIPome. Il est également conseillé de recourir à l'imagerie de routine afin d'identifier des tumeurs plus grandes ou des métastases.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

L'analyse quantitative du VIP par une technique radio-immunologique (RIA) a pour but de détecter un VIPome chez les patients qui en présentent les symptômes.

3.2 Description de la méthode

Le demandeur propose d'utiliser le test RIA de la compagnie Euro Diagnostica pour la détection du VIP dans le plasma humain.

Le VIP est analysé par le dosage radio-immunologique compétitif à l'aide d'anticorps dirigés contre un conjugué VIP-albumine. Le VIP, présent dans les échantillons et les témoins, entre en compétition avec le VIP radioactif marqué à l'iode-125 (^{125}I) dans la liaison aux anticorps. La liaison du VIP marqué est inversement proportionnelle à celle du VIP présent dans les échantillons ou les témoins. Une incubation séquentielle sera effectuée afin d'accroître la sensibilité du dosage. Le VIP ^{125}I lié à l'anticorps est séparé de la fraction non liée par la technique de précipitation au polyéthylène glycol à double anticorps. La radioactivité des précipités est mesurée. L'antisérum utilisé dans cette trousse commerciale est dirigé contre la région C-terminale de la molécule de VIP.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Le prélèvement des échantillons sanguins est effectué à l'unité de soins de l'hôpital St-Luc ou dans un autre centre hospitalier. Les échantillons sont rapidement transférés au laboratoire de biochimie de l'hôpital St-Luc, où ils sont centrifugés. Le plasma est ensuite décanté et congelé jusqu'au moment de l'analyse. Les résultats de cette analyse sont obtenus après un délai de six semaines.

3.4 Société ou concepteur

Trousse commerciale : VIP (Vasoactive intestinal polypeptide) EURIA^{MC}, de la compagnie Euro Diagnostica.

3.5 Homologation

La trousse commerciale utilisée pour effectuer l'analyse n'a pas été homologuée par Santé Canada ni par la FDA. Toutefois, elle est conforme à l'ensemble des réglementations européennes auxquelles elle est soumise et est attestée par l'apposition d'un marquage CE (conformité européenne).

3.6 Valeur pondérée : 65,34

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par cette analyse sont ceux qui sont atteints :

- d'un VIPome ;
- d'une diarrhée sécrétoire chronique avec hypokaliémie (figure 1) (syndrome WDHA⁹).

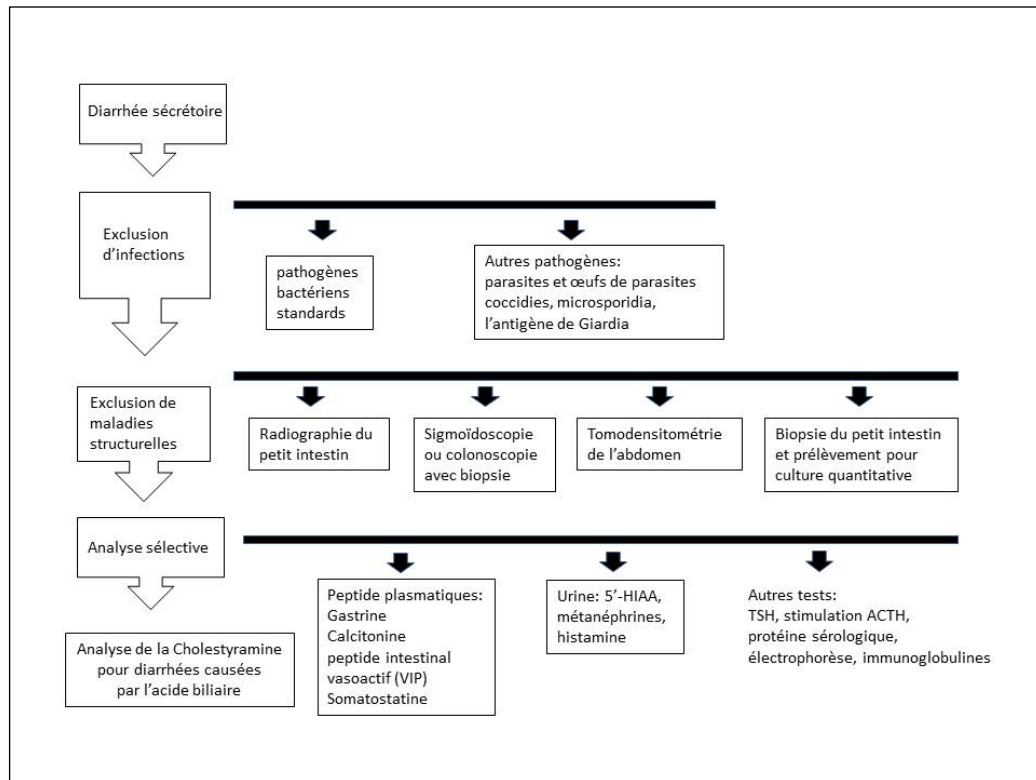


Figure 1 : Algorithme pour l'indentification étiologique de la diarrhée sécrétoire

Abréviations : ACTH (*Adenocorticotrophic hormone*) : Hormone adrénocorticotrope; 5'-HIAA: Acide 5'-hydroxy-indol-acétique de l'anglais *5'-Hydroxyindoleacetic acid* ; TSH (*thyroid-stimulating hormone*): Hormone pour stimulation thyroïdienne; VIP : peptide intestinal vasoactif traduit de l'anglais *vasoactive intestinal peptide*

Source : Diagramme adapté de [Schiller, 2004]

⁹ Le syndrome WDHA, de l'anglais Water Diarrhoea Hypokalemia and Achlorhydria syndrome, est caractérisé par la production d'un volume important de diarrhée hydrique conduisant à la déshydratation, l'hypokaliémie et l'achlorhydrie [Anderson et Bennett, 2016].

4.2 Description de la maladie visée

Le peptide intestinal vasoactif (VIP) est présent dans les neurones du système gastro-intestinal, et les neurones des systèmes nerveux central et périphérique. Il joue un rôle important dans la régulation de la motilité et de la fonction intestinale. En présence d'un VIPome, le VIP est sécrété à partir de 200 pg/ml (environ 60 pmol/l) et stimule la sécrétion d'eau et d'électrolytes dans l'intestin grêle en causant une diarrhée profuse avec hypokaliémie et excédant ainsi les capacités de réabsorption colique [NIH-NCI, 2015; Szymanowicz et al., 2011]. Il existe des VIPomes pancréatiques et extrapancréatiques incluant les ganglioneuroblastomes, les ganglioneuromes et les neuroblastomes [Smith et al., 1998; Bloom, 1978].

Cette tumeur survient à tout âge avec un pic d'incidence dans la quatrième décennie et est trois fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme. L'incidence annuelle des VIPomes est d'environ 1 cas pour 10 millions d'habitants de la population générale [Szymanowicz et al., 2011].

Chez les adultes, 90 % des VIPomes sont des tumeurs primaires du pancréas, tandis qu'elles sont le plus souvent localisées dans les glandes surrénales et les ganglions sympathiques chez les enfants. La plupart des VIPomes sont des tumeurs solitaires avec un diamètre moyen de 2 cm. En clinique, 70 % à 90 % des VIPomes sont malins et 60 % à 80 % de ces derniers ont déjà développé des métastases au moment du diagnostic [Anderson et Bennett, 2016]. Aux États-Unis, 5 % des VIPomes sont associés au syndrome héréditaire de néoplasie endocrinienne multiple de type 1 (NEM 1) [Ramage et al., 2012; Szymanowicz et al., 2011].

Dans le processus de traitement de patients atteints d'un VIPome locorégional, les niveaux sanguins de glucose sont stabilisés et le déséquilibre électrolytique (K^+ , Mg^{2+} , HCO_3^-) est ajusté, suivi d'un traitement anti-tumoral systémique, à base d'analogues à la somatostatine : des octréotides par voie intramusculaire ou des lanréotides par voie sous-cutanée [NCCN, 2017]. Toujours dans le cadre d'un traitement systémique, la chimiothérapie cytotoxique ainsi que les antinéoplasiques sont également adéquats au traitement des patients atteints de VIPomes. Selon la localisation distale de la tumeur ou sa présence dans la tête du pancréas, une pancréatectomie distale avec splénectomie ou une pancréatoduodénectomie est requise dans le cas échéant [NCCN, 2017].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime le nombre d'analyses à 120 par an pour les trois prochaines années au Québec. Le temps de réponse attendu est de six semaines.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Selon les experts consultés, la détermination de la concentration en peptide intestinal vasoactif permet de confirmer la présence d'un VIPome, sa résection, ou même une récurrence de cette tumeur après résection¹⁰. Même si le niveau sérique du VIP est élevé dans 90 % des cas de VIPome, une sécrétion normale de ce neuropeptide n'en exclut pas le diagnostic [Reindl et al., 2004]. Il est à noter que cette analyse est actuellement effectuée hors Québec. Le diagnostic d'un VIPome doit entre autres être confirmé par l'imagerie (endoscopie pancréatique endoluminale ou scintigraphie) et exclure la présence d'une néoplasie endocrinienne de type 1 (figure 1) [NCCN, 2017]. Un suivi du patient de trois à douze mois après la résection de la tumeur est requis, et inclut le contrôle des niveaux de marqueurs biochimiques tels que le VIP [NCCN, 2017].

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* (ci-après *Répertoire*). Les analyses envoyées hors Québec pour les années 2013 à 2016 sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 Analyses effectuées hors Québec pour déterminer la concentration plasmatique du peptide intestinal vasoactif

ANNÉES	NOMBRES D'ANALYSES	COÛT TOTAL (\$)	LABORATOIRES
2013 - 2014	29	3 590	MML, ISI
2014 - 2015	24	3 850	MML, HICL, ISI
2015 - 2016	22	2 500	MML, HICL

Abréviations : MML Mayo Medical Laboratories; HICL : Hospital In-Common Laboratories; ISI: Inter Science Institute
nd: non déterminé

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'introduction de cette analyse dans le *Répertoire* comblerait les besoins des envois hors Québec.

4.7 Assurance qualité

Selon le demandeur, des échantillons analysés dans les laboratoires Mayo (Mayo Medical Laboratories) seront également analysés localement en vue d'assurer l'obtention de résultats identiques.

¹⁰ Communication personnelle avec le D^r. André Bégin le 10 mai 2017.

5 DONNÉES PROBANTES

Afin d'évaluer l'utilité et la validité cliniques de la détection du VIP par la méthode RIA, les données présentées sont essentiellement issues de rapports de cas. En effet, la revue de la littérature n'a pas permis de repérer d'étude de cohorte contrôlée.

5.1 Valeur diagnostique

5.1.1 Association entre les diarrhées sécrétoires et la présence de VIPomes chez les adultes

Dans une étude prospective menée en 1978, Bloom et ses collaborateurs ont pour la première fois évaluée l'association entre la présence d'un VIPome et celle de diarrhées chroniques chez les patients admis dans un centre hospitalier sur une période de 5 années. Pour ce faire, une étude observationnelle a été menée sur 1 000 patients atteints de différentes formes de diarrhée. Les taux plasmatiques de VIP supérieurs à 60 pmol/l ou 200 pg/ml, indiquaient la présence d'une tumeur sécrétant cette hormone [Bloom, 1978].

Des 1 000 patients observés, les 39 dont les niveaux plasmatiques de VIP étaient élevés et accompagnés de diarrhée hydrique grave présentaient des tumeurs localisées dans le pancréas ou hors de celui-ci. Leur concentration en VIP variait entre environ 60 pmol/l et 300 pmol/l (200 pg/ml et 1 000 pg/ml) [Bloom, 1978]. Onze patients avaient des diarrhées graves malgré des taux plasmatiques de VIP normaux et l'absence des tumeurs, et trois autres présentaient des fluctuations de concentration plasmatique en VIP accompagnées de diarrhées intermittentes sans formation de tumeur (tableau 2) [Bloom, 1978].

Les auteurs concluent qu'une augmentation de la concentration en VIP demeure un indicateur de la présence d'un VIPome sous forme de tumeur pancréatique chez l'adulte ou de ganglioneuromes et ganglioneuroblastomes chez l'enfant. Ils soulignent également que les VIPomes représentent un faible pourcentage des causes potentielles de diarrhée chronique [Bloom, 1978].

Tableau 2 Niveaux plasmatiques de VIP chez les patients souffrant de diarrhées chroniques et ceux présentant des VIPomes.

PARAMÈTRES CLINIQUES	NOMBRE DE PATIENTS
Diarrhées chroniques	50
Concentration élevée de VIP en présence de VIPome	39
Concentration élevée de VIP en l'absence de VIPome	0
Présence de diarrhée chronique en l'absence de VIPome	11

Source : adapté de Bloom, 1978; Abréviation : VIP : peptide intestinal vasoactif.

Lors d'une étude rétrospective menée pendant une quinzaine d'années auprès des patients ayant développé des VIPomes, Smith et ses collaborateurs [1998] ont identifié 18 patients parmi lesquels 9 hommes et 9 femmes âgés de 23 ans à 74 ans étaient affectés d'une diarrhée sécrétoire, et deux autres patients ont développé des VIPomes associés à une néoplasie endocrinienne multiple de type 1. Le diagnostic de VIPome était basé sur l'augmentation des niveaux sérologiques de VIP qui variait de 15 à 5 975 pg/ml (tableau 3). En tout, 16 des 18 patients (89 %) ayant une diarrhée sécrétoire présentaient un VIPome [Smith *et al.*, 1998].

Les auteurs recommandent d'effectuer la vérification des taux plasmatiques de VIP pendant les épisodes symptomatiques, étant donné que les valeurs rapportées entre les épisodes de diarrhée sécrétoire sont souvent normales [Smith *et al.*, 1998].

De même, une étude rapportant 31 cas de patients atteints de diarrhée sécrétoire persistante et d'hypokaliémie a montré des concentrations préopératoires de VIP allant de 67,6 pg/ml à 2 100 pg/ml comme indicateur de la présence d'un VIPome (tableau 3) [Peng *et al.*, 2004]. Toutefois, des 31 cas de VIPomes rapportés, 28 (90 %) étaient de nature maligne et 3 étaient bénins. La détection du VIP était effectuée dans le sérum des patients.

Les auteurs soulignent l'importance de l'imagerie et des concentrations en VIP dans le diagnostic d'un VIPome [Peng *et al.*, 2004]. Le rapport de cas décrit par Song et ses collaborateurs [2009] a observé quatre cas de patients dont l'âge moyen était de 51,6 ans (écart-type : $\pm 8,6$). Tous étaient atteints de diarrhées chroniques accompagnées d'hypokaliémie sévère, persistante et irréversible. Les concentrations en VIP mesurées chez deux patients étaient 1 490 pmol/l et 390 pmol/l. Les résultats d'histopathologie ont confirmé une sécrétion plus élevée de VIP que des autres hormones présentes dans les tissus tumoraux (tableau 3) [Song *et al.*, 2009].

Selon les auteurs, la prise en compte des symptômes évocateurs d'un VIPome et la détermination des taux de VIP peuvent contribuer de manière efficace à poser un diagnostic dans les meilleurs délais [Song *et al.*, 2009].

Tableau 3 Niveaux plasmatiques de VIP chez les patients souffrant de diarrhées chroniques et ceux présentant des VIPomes.

PARAMÈTRES CLINIQUES	SMITH [1998] N = 18	PENG [2004] N = 31	SONG [2009] N = 4
Diarrhées sécrétoires	16	31	4
Concentration élevée de VIP /présence de VIPome	17	15	2
Absence de diarrhées chroniques / présence de VIPome	2*	n.d	s.o
Concentration normale de VIP/présence de VIPome	n.d.	15	2

Abréviations : n.d : non déterminée, s.o : sans objet; VIP : peptide intestinal vasoactif.

* : les deux patients avaient un VIPome associé à une néoplasie endocrinienne multiple de type 1.

Par ailleurs, un rapport de cas portant sur quatre patients a décrit une moyenne de concentration préopératoire en VIP de 683 pg/ml accompagnée de tumeurs chez tous les patients. Les caractéristiques des patients rapportées dans cette étude sont présentées dans le tableau 4 [Ghaferi *et al.*, 2008].

Tableau 4 Caractéristiques de patients atteints de VIPomes

CAS	GENRE / ÂGE	TAILLE DE LA TUMEUR* (cm)	TYPE DE CHIRURGIE	SYMPTÔMES	VIP (pg/ml)	TDD (mois)
1	Homme / 74 ans	14,5	PD, S	DA, HK, A, HC, D	293	17
2	Femme / 50 ans	4,5	PD, S, RH, BC	DA, HK, V, A, HC	770	96
3	Homme / 66 ans	5	PD, S, RH	DA, HK	169	68
4	Homme / 68 ans	14	PDD, S	DA, HK, HC, PP	1 500	22

Source : Adapté de Ghaferi et coll., 2008

* : Les tumeurs étaient détectées par tomodensitométrie.

Abréviations : A : achlorhydrie, BC : bloc coélique, DA : diarrhée aqueuse, HC : hypercalcémie, HK : hypokaliémie, PD : pancréatectomie distale, PDD : pancréatoduodénectomie, RH : résection hépatique, TDD : temps depuis diagnostic, S : splénectomie, v : vomissements.

5.1.2 Association entre les diarrhées sécrétoires et la présence de VIPomes chez les enfants

De l'étude réalisée par Bloom et ses collaborateurs [1978], 7 des 39 patients, dont quatre enfants, présentaient des tumeurs extrapancréatiques (ganglioneuromes et ganglioneuroblastomes).

L'étude de cas rapportée par Murphy et ses collaborateurs comportait 6 enfants âgés de 8 à 24 mois atteints de diarrhées prolongées. La concentration plasmatique de VIP déterminée chez quatre d'entre eux était au-dessus de la valeur normale (tableau 5). De plus, ces quatre enfants présentaient également une hypokaliémie. À cause du temps mis pour établir un diagnostic chez ces enfants, une période de un à dix mois pouvait s'écouler entre la première consultation et le diagnostic de VIPome dont ils étaient atteints [Murphy *et al.*, 2000].

Les auteurs concluent que les tumeurs sécrétant le VIP sont généralement révélées par des diarrhées prolongées ou sécrétoires accompagnées d'une augmentation des taux plasmatiques de VIP [Murphy *et al.*, 2000].

Tableau 5 Observations cliniques et temps requis pour un diagnostic de VIPome chez six enfants atteints de diarrhée sécrétoire

CAS	AGE DU PATIENT (MOIS)		DURÉE TOTALE DE LA DIARRHÉE (mois)	HYPOKALIÉMIE	CONCENTRATION DE VIP (pmol / l)
	À LA 1 ^{ÈRE} CONSULTATION	AU DIAGNOSTIC			
1	18	28	18	non	n.d.
2	12	16	6	oui	140
3	24	24	4	non	n.d
4	8	9	2,5	oui	130
5	16	26	16	oui	145
6	12	13	1,5	oui	153

Source : tableau adapté de l'article Murphy *et al.*, 2000

Abréviations : VIP : peptide intestinal vasoactif; n.d. : non déterminé.

* : Des six enfants présentés dans l'étude, des ganglioneuromes chez quatre enfants et des ganglioneuroblastomes chez deux enfants.

De même, une étude de cas présentant un garçon de 15 mois affecté de diarrhée hydrique persistante ou chronique et d'hypokaliémie avec une concentration sérologique en VIP anormale de 187 pg/ml a été rapportée. Un diagnostic final de tumeur sécrétant le VIP a été posé chez l'enfant [Huysentruyt, 2013].

Selon les auteurs, une diarrhée qui persiste chez un enfant après le jeûne constitue un indice pour un cas de diarrhée sécrétoire. Une détermination des niveaux plasmatiques de VIP et l'imagerie éviteraient au patient de subir des symptômes de la maladie sur une longue période, à cause d'un long temps d'investigation avant d'établir le bon diagnostic [Huysentruyt, 2013].

5.2 Valeur pronostique

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

5.3 Valeur thérapeutique

5.3.1 Les effets du traitement d'un VIPome sur la concentration périopératoire de VIP

Des 31 cas présentés par Peng et ses collaborateurs, les 15 patients qui avaient une valeur plasmatique élevée de VIP sont passés d'une moyenne de VIP préopératoire de 963,2 pg/ml (intervalle : 67,6 pg/ml à 2 100 pg/ml) à une moyenne postopératoire de 131,9 pg/ml (intervalle : 20 pg/ml à 450 pg/ml) [Peng *et al.*, 2004]. La difficulté à contrôler la diarrhée après la résection de la tumeur chez l'un des patients a été causée par une absence de réponse au traitement postopératoire. De plus, ce patient était atteint de métastases multiples dans le foie [Peng *et al.*, 2004].

En outre, l'étude de Ghaferi et ses collaborateurs portant sur quatre patients a démontré une amélioration de la condition du patient et des taux plasmatiques de VIP après une résection tumorale (tableau 6) [Ghaferi *et al.*, 2008].

Tableau 6 Concentrations périopératoires du VIP chez les patients atteints de VIPomes

PATIENT	GENRE / ÂGE	VIP PRÉOPÉRATOIRE (pg/ml)	VIP POSTOPÉRATOIRE (pg/ml)
1	Homme / 74 ans	293	40
2	Femme / 50 ans	770	< 35
3	Homme / 66 ans	169	58
4	Homme / 68 ans	1 500	n.d.

Source adapté de Ghaferi *et al.*, 2008.

Abréviations : n.d. : non déterminé; VIP : peptide intestinal vasoactif.

5.3.2 Mesure des fluctuations du VIP en fonction de la réponse au traitement

Un rapport de cas de Bourcier et ses collaborateurs a décrit la condition d'un garçon de 12 ans atteint d'un VIPome et d'une femme de 70 ans présentant un paragangliome métastatique. Les deux patients étaient traités avec des analogues de la somatostatine et un inhibiteur de tyrosine kinase [Bourcier et Vinik, 2013]. Dans le premier cas, une modulation des niveaux plasmatiques en VIP en fonction de la quantité de l'inhibiteur de tyrosine kinase administrée au fil des mois a été rapportée. La concentration plasmatique préopératoire en VIP était de 134,5 pg/ml et est passée à 51,5 pg/ml cinq mois après la résection et le premier régime de traitement incluant l'inhibiteur de tyrosine kinase. Un mois après l'augmentation des doses de traitement, la concentration en VIP a chuté à 25 pg/ml avec une augmentation de la qualité de vie du patient. Toutefois, le retour des symptômes émergeait simultanément avec une fluctuation du niveau de VIP entre 52,2 pg/ml et 302,1 pg/ml. L'administration renouvelée d'octréotide a stabilisé le niveau de VIP à 98 pg/ml.

Les auteurs ont souligné l'importance de contrôler les fluctuations endocriniennes lors du traitement de VIPomes chez les enfants [Bourcier et Vinik, 2013].

5.4 Validité analytique

Validation d'un dosage radio-immunologique (RIA) de VIP

Fahrenkrug et ses collaborateurs [1977] ont développé un essai RIA spécifique à la détection du VIP avec un conjugué radioactif (^{125}I -VIP) servant à mesurer la quantité de VIP liée aux anticorps ou libre. Un VIP porcin purifié servait d'échantillon de référence pour la courbe de calibration [Fahrenkrug et Schaffalitzky de Muckadell, 1977].

Pour une concentration de VIP fixée à 18,3 pmol/l, la reproductibilité intra-essais et inter-essais variait de 1,6 pmol/l et de 2,3 pmol/l respectivement (tableau 7). La valeur médiane des concentrations de VIP dans le plasma chez 74 sujets normaux et à jeun

était de 7,3 pmol/l (intervalle : 0 à 20 pmol/l) [Fahrenkrug et Schaffalitzky de Muckadell, 1977].

Tableau 7 Précision inter et intra-essais des mesures de VIP plasmatique

CONCENTRATION DE VIP (pmol/l)	PRÉCISION*	
	ÉCART-TYPE (pmol/l) (CV, %)	
	INTRA-ESSAI	INTER-ESSAI
10,7	1,5 (14,0)	1,8 (16,8)
18,3	1,6 (8,7)	2,3 (12,6)
43,7	3,2 (7,3)	6,5 (14,9)

Abréviations : VIP : peptide intestinal vasoactif.

* Chaque échantillon de plasma était utilisé dans quatre analyses à raison de cinq triplicatas par analyse.

Le taux moyen de recouvrement mesuré en ajoutant des concentrations de VIP variant de 15 à 60 pmol/l dans le plasma avant extraction était de 68,2 % (écart-type de 6,1 %). La spécificité de cet essai a été évaluée par l'aptitude des molécules telles que la sécrétine, le glucagon pancréatique, l'entéroglucagon et la somatostatine à concurrencer avec le ¹²⁵I-VIP pour se lier aux anticorps. Les anticorps n'ont présenté aucune affinité ou réactivité croisée à une molécule autre que le VIP. Le seuil de détection du VIP était de 3,3 pmol/l dans le plasma. En dehors de l'aprotinine concentrée à 10⁶ kIU/l qui interférait avec la liaison de l'antigène aux anticorps, aucune interférence n'a été observée avec le glucose, l'héparine, le chlorure de sodium ou l'urée [Fahrenkrug et Schaffalitzky de Muckadell, 1977].

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur n'a fourni aucune donnée de validation analytique. Selon lui, la trousse commerciale utilisée contient un composant radioactif à demi-vie limitée. De ce fait, la trousse ne sera produite par le fabricant qu'une fois que le demandeur introduira sa commande auprès de la compagnie. Une fois la trousse reçue, les données de validation de la méthode seront produites au fur et à mesure que les échantillons seront prélevés chez le patient, et à partir des contrôles fournis.

6. IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la mesure quantitative du peptide intestinal vasoactif (VIP) par RIA. 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 :

- Cette analyse vise les patients atteints d'un VIPome ou d'une diarrhée sécrétoire chronique avec hypokaliémie (syndrome WDHA).
- En 2015-2016, 22 analyses ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 114 \$. Le rapatriement de l'ensemble de ces tests est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Ainsi, il est estimé que 30, 35 et 40 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 65,34.

Tableau 8 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la mesure quantitative du VIP par RIA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative du VIP au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	22	22	22	66
Coûts	2 500 \$	2 500 \$	2 500 \$	7 500 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative du VIP au <i>Répertoire</i>				
Analyses RIA	30	35	40	105
Coûts	1 960 \$	2 287 \$	2 614 \$	6 861 \$
Impact net	-540 \$	-213 \$	114 \$	-639 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			-1 620 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			341 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la mesure quantitative du VIP par RIA pourrait générer une réduction des coûts d'environ 640 \$ pour le total des trois premières années.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Comparativement aux autres hormones, le VIP peut être sécrété à de faibles concentrations chez les patients atteints d'un syndrome de diarrhée hydrique ou d'une pathologie très rare telle que le VIPome [Szymanowicz *et al.*, 2011]. La difficulté à déterminer la concentration en VIP réside principalement dans son instabilité dans le plasma où il est exposé à la protéolyse. De ce fait, le prélèvement et la conservation des échantillons doit être menée avec grande minutie afin d'en préserver l'intégrité [Bloom, 1978]. La présence de diarrhée profuse et sécrétoire chez des cas pédiatriques peut persister de 1,5 mois à 18 mois avant qu'un diagnostic de VIPome ne soit établi [Murphy *et al.*, 2000].

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

National Comprehensive Cancer Network

Selon les lignes directrices du National Comprehensive Cancer Network émises le 29 mars 2017, l'analyse des concentrations du peptide intestinal vasoactif et des électrolytes est recommandée en cas de suspicion d'un VIPome, une fois qu'un diagnostic de néoplasie endocrinienne multiple de type 1 est écarté. Toutefois, l'utilisation d'autres outils diagnostiques tels que l'imagerie s'avère utile pour l'identification des grandes tumeurs ou des métastases [NCCN, 2017].

Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines (Société nationale française de gastro-entérologie)

Sous l'égide du Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines, la Société nationale française de gastro-entérologie a émis des recommandations sur la prise en charge des tumeurs neuroendocrines digestives comme suit : un syndrome sécrétoire ou un changement de sécrétion (en dehors de la néoplasie endocrinienne multiple de type 1) peuvent survenir au cours du suivi des tumeurs neuroendocrines. Un cas de suspicion clinique d'un VIPome doit être confirmé par un dosage adapté [GTE-SNFGE, 2016].

National Cancer Institute (National Institutes of Health)

Dans un guide adressé aux professionnels de la santé sur le traitement des tumeurs pancréatiques endocrines, le National Cancer Institute relève la faible incidence des VIPomes et évoque une concentration de VIP supérieure à 200 pg/ml (environ 60 pmol/l) comme étant indicatrice d'un diagnostic de VIPome. Toutefois, une recommandation explicite sur l'importance d'analyser les taux plasmatiques de VIP n'a pas été émise [NIH-NCI, 2015].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Peptide intestinal vasoactif (VIP)

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

- ✓ Aucun gain n'est prévu avec la présente analyse en raison notamment de la faible utilisation du test (rareté de la maladie) et de la nature des réactifs de la trousse (perte des réactifs radioactifs).
- ✓ Toutefois, les membres du comité reconnaissent l'utilité de l'analyse du point de vue clinique pour la population ciblée. Considérant l'importance de ne pas pénaliser les patients qui ont besoin de ce test, le comité recommande au MSSS de maintenir la possibilité que cette analyse soit disponible hors Québec.

RÉFÉRENCES

- Anderson CW et Bennett JJ. Clinical presentation and diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors. *Surg Oncol Clin N Am* 2016;25(2):363-74.
- Bloom SR. Vasoactive intestinal peptide, the major mediator of the WDHA (pancreatic cholera) syndrome: Value of measurement in diagnosis and treatment. *Am J Dig Dis* 1978;23(4):373-6.
- Bourcier ME et Vinik AI. Sunitinib for the treatment of metastatic paraganglioma and vasoactive intestinal polypeptide-producing tumor (VIPoma). *Pancreas* 2013;42(2):348-52.
- Cadiot G, Baudin E, Couvelard A, Dromain C, Lepage C, Lombard-Bohas C, et al. 11. Tumeurs neuroendocrines digestives [site Web]. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Paris, France : Société nationale française de gastro-entérologie (SNFGE); 2016. Disponible à : <http://www.snfge.org/content/11-tumeurs-neuroendocrines-digestives>.
- Fahrenkrug J et Schaffalitzky de Muckadell OV. Radioimmunoassay of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in plasma. *J Lab Clin Med* 1977;89(6):1379-88.
- Ghaferi AA, Chojnacki KA, Long WD, Cameron JL, Yeo CJ. Pancreatic VIPomas: Subject review and one institutional experience. *J Gastrointest Surg* 2008;12(2):382-93.
- Huysentruyt K, Arts W, van der Werff ten Bosch J, Van de Casseye W, Lemmens F, De Koster J, et al. VIP-Secreting ganglioneuroblastoma as an unusual cause of watery diarrhoea in childhood. *J Med Cases* 2013;4(4):234-6.
- Murphy MS, Sibal A, Mann JR. Persistent diarrhoea and occult vipomas in children. *BMJ* 2000;320(7248):1524-6.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Neuroendocrine tumors of the pancreas. Version 2.2017. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2017. Disponible à : https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- PDQ Adult Treatment Editorial Board. Pancreatic neuroendocrine tumors (islet cell tumors) treatment (PDQ^R) – Health professional version [site Web]. Bethesda, MD : National Cancer Institute (NCI); 2015. Disponible à : <https://www.cancer.gov/types/pancreatic/hp/pnet-treatment-pdq>.
- Peng SY, Li JT, Liu YB, Fang HQ, Wu YL, Peng CH, et al. Diagnosis and treatment of VIPoma in China: (case report and 31 cases review) diagnosis and treatment of VIPoma. *Pancreas* 2004;28(1):93-7.
- Ramage JK, Ahmed A, Ardill J, Bax N, Breen DJ, Caplin ME, et al. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine (including carcinoid) tumours (NETs). *Gut* 2012;61(1):6-32.
- Reindl T, Degenhardt P, Luck W, Riebel T, Sarioglu N, Henze G, Driever PH. [The VIP-secreting tumor as a differential diagnosis of protracted diarrhea in pediatrics] (article en allemand). *Klin Padiatr* 2004;216(5):264-9.

- Schiller LR. Chronic diarrhea. *Gastroenterology* 2004;127(1):287-93.
- Smith SL, Branton SA, Avino AJ, Martin JK, Klingler PJ, Thompson GB, et al. Vasoactive intestinal polypeptide secreting islet cell tumors: A 15-year experience and review of the literature. *Surgery* 1998;124(6):1050-5.
- Song S, Shi R, Li B, Liu Y. Diagnosis and treatment of pancreatic vasoactive intestinal peptide endocrine tumors. *Pancreas* 2009;38(7):811-4.
- Szymanowicz A, Eyraud P-Y, Neyron M-J. Quand penser au diagnostic de vipome ? *Immuno-analyse et Biologie Spécialisée* 2011;26(4):212-16.

DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-RÉCEPTEUR DE LA PHOSPHOLIPASE A₂ (anti-PLA₂R)

(RÉFÉRENCE - 2017.01.004A et B)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1. Demandeur : CIUSSS Est MTL – Hôpital Maisonneuve-Rosemont

1.2. Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017

1.3. Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Lambert Busque n'a pas participé aux délibérations et s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

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

- D^r David Philibert, (Interniste et néphrologue, CHU de Québec);
- D^r Stephan Troyanov, (Néphrologue, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal).

2 RÉSUMÉ

La glomérulonéphrite extramembraneuse (GEM) est une des maladies glomérulaires les plus fréquentes et la cause principale du syndrome néphrotique. Son incidence est estimée à 1,2/100 000 personnes par année et son issue clinique est difficilement prévisible. La GEM est qualifiée de primaire lorsque le trouble auto-immun est restreint au rein. Dans 80 % des cas, les autoanticorps circulants ont comme antigène le récepteur transmembranaire de la phospholipase A₂ (PLA₂R, de l'anglais *phospholipase A₂ receptor*) ou celui de la protéine 7A contenant un domaine thrombospondine de type 1 (THSD7A, de l'anglais *thrombospondin type-1 domain-containing protein 7A*). Selon le demandeur, l'analyse des anti-PLA₂R circulants a une valeur diagnostique pour les patients chez qui la biopsie rénale est contre-indiquée. De plus, le titre d'autoanticorps permet de prédire l'évolution de la maladie et de suivre la réponse au traitement immunosuppresseur.

La sensibilité de l'analyse des anti-PLA₂R circulants pour la GEM primaire varie entre 70 % et 80 % et sa spécificité entre 95 % et 100 %. La sensibilité peut être augmentée en combinant les résultats de la détection des anti-PLA₂R circulants à ceux obtenus sur le tissu rénal.

Un titre initial bas d'anti-PLA₂R est associé avec la rémission de la GEM primaire, alors qu'un titre élevé est un facteur de risque pour la progression de la maladie.

Suite à un traitement immunosuppresseur, le titre d'anti-PLA₂R diminue avant que la réponse clinique soit détectable. La diminution relative du titre à trois mois aide à prédire l'issue clinique de la maladie à six et neuf mois alors que la diminution relative du titre à 6 mois aide à prédire l'issue clinique de la maladie à neuf et douze mois. Bien que le titre initial d'anti-PLA₂R ne permette pas de prédire la réponse au traitement immunosuppresseur, le titre final aide à prédire l'issue à long terme de la maladie.

L'analyse proposée est basée sur deux troussees commerciales homologuées. Le pourcentage d'accord entre les troussees est supérieur à 90 % et les résultats sont similaires à ceux obtenus par immunobuvardage (*western blot*) lorsque le seuil de positivité de l'ELISA est de 2 unités relatives/ml. Le coefficient de variation intra-essai est inférieur à 10 % et le coefficient inter-essai est inférieur à 11 % pour la méthode ELISA.

L'ajout du dosage des anticorps anti-PLA₂R au *Répertoire* pourrait générer une réduction de coûts de près de 51 000 \$ pour le total des trois premières années.

Compte tenu de la variabilité de l'issue clinique de la GEM primaire, un marqueur fiable de l'activité immunologique est d'intérêt majeur afin d'éviter de sur- ou de sous-traiter des patients.

La principale référence pour le traitement de la GEM primaire est le document produit par le groupe de travail du KDIGO en 2012. Lors de l'élaboration de ces lignes directrices, la découverte des anti-PLA₂R était récente et l'analyse du titre des autoanticorps y fait l'objet d'une recommandation de recherche pour les études cliniques à venir. Cependant, dû aux résultats encourageants obtenus, la Haute Autorité de Santé (HAS) a intégré l'analyse des anti-PLA₂R dans son protocole national de diagnostic et de soin pour le syndrome néphrotique idiopathique de l'adulte.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage des anticorps anti-PLA₂R a comme objectif de diagnostiquer la GEM primaire, de prédire l'évolution de la maladie et de suivre la réponse des patients au traitement immunosuppresseur.

3.2 Description des méthodes

Le demandeur propose d'utiliser deux méthodes pour détecter la présence d'anti-PLA₂R circulants : un dosage immuno-enzymatique (ELISA, de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) et une immunofluorescence indirecte (IIFT, de l'anglais *indirect immunofluorescence test*). Alors que l'ELISA donne un résultat quantitatif et sera effectué sur tous les échantillons, l'IIFT produit un résultat qualitatif ou semi-quantitatif et sera effectué seulement suite à un résultat d'ELISA atypique (ne s'harmonisant pas au profil clinique du patient).

Anti-PLA₂R ELISA (IgG)^{MC} (Euroimmun AG)

La trousse comprend des micropuits enduits du domaine extracellulaire de la protéine PLA₂R1 purifiée et tous les réactifs nécessaires à la réaction [Euroimmun AG, 2016]. Le sérum humain à tester (dilution 1 : 101) est d'abord incubé sur la matrice solide. Les autoanticorps liés sont ensuite détectés à l'aide d'un anti-immunoglobulines G (IgG) humaines conjugué à la peroxydase (figure 1). Le seuil de positivité est de 20 unités relatives par millilitre [Euroimmun AG, 2016; Dahnrich *et al.*, 2013].

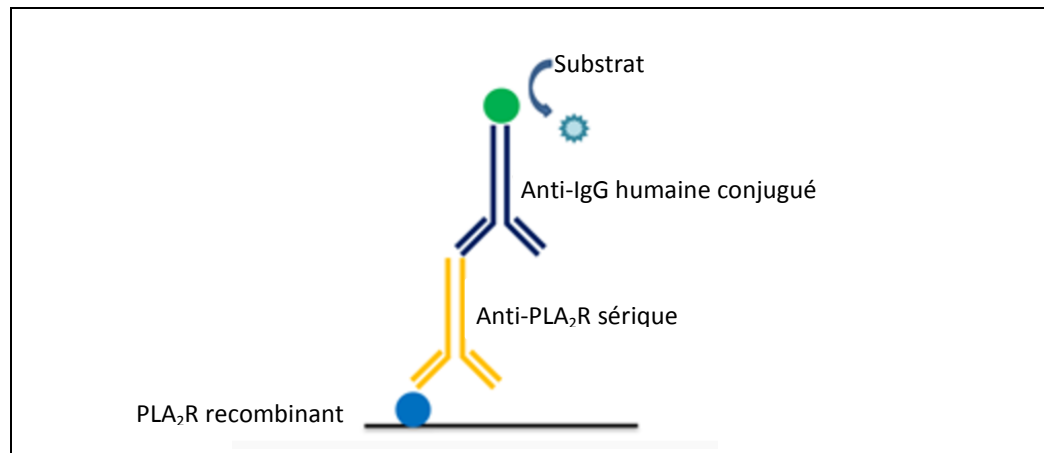


Figure 1 Principe de l'ELISA indirecte de la trousse Anti-PLA₂R ELISA (IgG)^{MC}

Source : Adapté de Ozyme. Les outils pour quantifier les cytokines [site Web], disponible à : <https://www.ozyme.fr/ressources/cyberlettres/techozyme/techozyme16-quantification-cytokines.asp> (consulté le 31 mai 2017).

Abréviations : ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; IgG : immunoglobuline G; PLA₂R : *phospholipase A₂ receptor*.

Anti-PLA₂R IIFT (IgG)^{MC} (Euroimmun AG)

La trousse comprend des lames contenant de trois à dix champs d'incubation contenant chacun deux biopuces différentes. Une des biopuces est enduite avec des cellules rénales embryonnaires (HEK 293) exprimant la protéine humaine PLA₂R1 complète et l'autre contient des cellules non transfectées. Le sérum humain à tester

est dilué en série puis incubé sur la lame. Un anti-IgG humaines conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC, de l'anglais *fluorescein isothiocyanate*) permet de révéler la présence des autoanticorps (figure 2). Un marquage cytoplasmique et partiellement membranaire à une dilution de sérum d'au moins 1 : 10 sur les cellules transfectées est considéré positif [Euroimmun AG, 2017; Hoxha *et al.*, 2011].

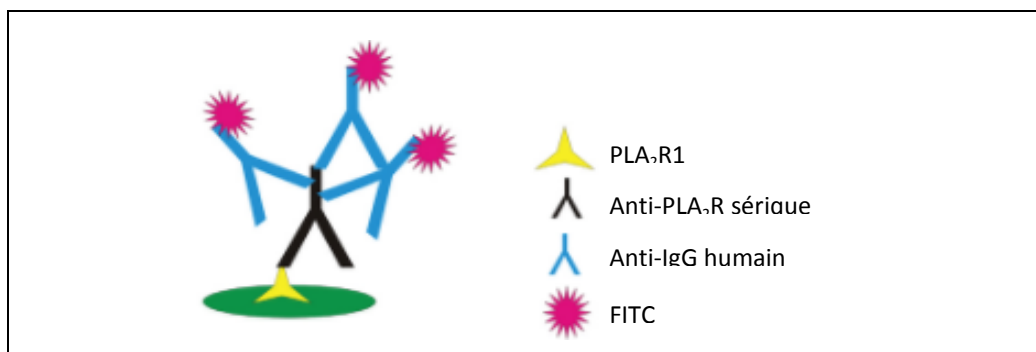


Figure 2 Principe de l'immunofluorescence indirecte de la trousse Anti-PLA₂R IIFT (IgG)^{MC}

Source : Adapté de Biotek. Sample preparation for fluorescence microscopy: An introduction [site Web], disponible à : <https://www.biotek.com/resources/white-papers/sample-preparation-for-fluorescence-microscopy-an-introduction-concepts-and-tips-for-better-fixed-sample-imaging-results/> (consulté le 31 mai 2017)

Abréviations : FITC : *fluorescein isothiocyanate*; IgG : immunoglobuline G; PLA₂R : *phospholipase A₂ receptor*.

3.3 Modalité d'administration des tests selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront stabilisés et réfrigérés puis acheminés au laboratoire de biochimie de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont où les techniques d'ELISA et d'IIFT seront effectuées. Le temps de réponse attendu pour l'ELISA est de quatre semaines. Suivant un résultat atypique à l'ELISA, un délai supplémentaire de 5 jours ouvrables est nécessaire à l'obtention du résultat de l'IIFT.

Selon le demandeur, tous les patients avec une suspicion de GEM devraient être testés pour la présence d'anti-PLA₂R. Une référence contenant un algorithme pour le diagnostic a d'ailleurs été fournie (annexe A) [De Vriese *et al.*, 2017].

Le demandeur propose une hiérarchie suprarégionale pour cette analyse.

3.4 Société ou concepteur

Les deux méthodes d'analyse emploient une trousse de la compagnie Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG.

3.5 Homologation

Les deux trousse proposées sont homologuées par Santé Canada et par la Food and Drug Administration (tableau 1).

Tableau 1 Homologation des trousse commerciales pour déterminer le titre d'anti-PLA₂R circulants

TROUSSE COMMERCIALE	NUMÉRO D'HOMOLOGATION ET DATE	
	SANTÉ CANADA	FDA
Anti-PLA ₂ R ELISA (IgG) ^{MC}	91241 [*] 2 mai 2013	K132195 [†] 27 juin 2014
Anti-PLA ₂ R IIFT (IgG) ^{MC}	91252 [‡] 6 mai 2013	K132379 [§] 29 mai 2014

Abréviations : ELISA : dosage immuno-enzymatique (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*); FDA : Food and Drug Administration; IgG : immunoglobulines G; IIFT : *indirect immunofluorescence test*.

^{*} Santé Canada. Recherche d'homologations d'instrument médical en vigueur [site Web], disponible à : <https://produits-sante.canada.ca/mdall-limh/prepareSearch-preparerRecherche.do?type=active> (consulté le 4 avril 2017).

[†] FDA. 510(k) Premarket Notification [site Web], disponible à : <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?ID=K132195> (consulté le 4 avril 2017).

[‡] Santé Canada. Recherche d'homologations d'instrument médical en vigueur [site Web], disponible à : <https://produits-sante.canada.ca/mdall-limh/prepareSearch-preparerRecherche.do?type=active> (consulté le 4 avril 2017).

[§] FDA. Device Classification under Section 513(f)(2)(de novo) [site Web], disponible à : <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/denovo.cfm?ID=DEN140002> (consulté le 4 avril 2017).

3.6 Valeurs pondérées :

ELISA : 43,00

IIFT : 71,00

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Trois groupes de patients sont ciblés par cette analyse :

- les patients ayant une protéinurie significative justifiant la recherche d'une GEM primaire;
- les patients avec un diagnostic de GEM primaire établi afin de suivre l'évolution de la maladie;
- les patients avec un diagnostic de GEM primaire recevant un traitement immunosuppresseur afin d'en suivre l'efficacité.

Le demandeur a suggéré que l'analyse soit faite chez les patients ayant une protéinurie supérieure à 0,5 g/jour. Toutefois, deux experts externes ont indépendamment mentionné que cette valeur était trop permissive et ont plutôt recommandé une protéinurie supérieure à 3 g/jour¹¹.

4.2 Description de la maladie visée

La GEM est caractérisée par la formation et le dépôt de complexes immuns sous-épithéliaux qui causent l'épaississement des parois des capillaires glomérulaires rénaux et altèrent leur fonctionnement. Elle est une des maladies glomérulaires les plus

¹¹ Information transmise par le D^r Stephan Troyanov, interniste et néphrologue, CIUSSS Nord MTL – Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et le D^r David Philibert, interniste et néphrologue, CHUQ – Université Laval, Hôtel-Dieu de Québec (8 mai 2017).

fréquentes et la cause principale du syndrome néphrotique¹²; son incidence est estimée à 1,2/100 000 personnes par année [De Vriese *et al.*, 2017; Mastroianni-Kirsztajn *et al.*, 2015; McGrogan *et al.*, 2011]. Parmi les patients atteints de GEM, un tiers atteindra spontanément une rémission alors que certains auront une forme chronique ne nécessitant pas de traitement. Cependant, de 30 % à 40 % des patients auront une progression de la GEM vers une insuffisance rénale terminale dans les 5 à 15 années suivant le diagnostic [Cattran et Brenchley, 2017; De Vriese *et al.*, 2017; Lai *et al.*, 2015; Mastroianni-Kirsztajn *et al.*, 2015].

La GEM se présente sous deux formes : la GEM primaire qui est une maladie rénale auto-immune et la GEM secondaire qui est associée à une condition clinique sous-jacente telle que le lupus érythémateux disséminé, le cancer et une infection par le virus de l'hépatite B [De Vriese *et al.*, 2017; Mastroianni-Kirsztajn *et al.*, 2015]. La distinction entre les formes a une importance clinique puisque le traitement de la GEM primaire est potentiellement toxique pour le patient et son rein et que celui de la GEM secondaire doit être dirigé en fonction de l'étiologie sous-jacente [Hofstra *et al.*, 2013; Jefferson et Couser, 2003].

La GEM primaire compte pour 75 % à 80 % des cas de GEM chez l'adulte et 25 % des cas chez l'enfant [De Vriese *et al.*, 2017; Lai *et al.*, 2015]. Les autoanticorps circulants impliqués dans 70 % à 75 % des cas sont dirigés contre PLA₂R et dans 3 % à 10 % contre THSD7A [Cattran et Brenchley, 2017; De Vriese *et al.*, 2017]. Une double sérologie positive a été observée chez certains patients [Larsen *et al.*, 2016].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

En se basant sur le Registre des maladies glomérulaires de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont (HMR), le demandeur estime l'incidence de la GEM primaire au Québec à 50 à 60 nouveaux cas par année. Selon les experts externes, l'incidence annuelle de nouveaux cas serait plutôt autour de 100 patients¹³.

En se basant sur la clientèle desservie par le Service de néphrologie de l'HMR et le nombre de nouveaux cas qui y sont diagnostiqués par année (30 cas), le demandeur estime que 250 analyses seraient réalisées annuellement pour des fins de diagnostic et de pronostic. Toutefois, il souligne que ce nombre pourrait augmenter puisque l'analyse peut être utilisée pour le suivi de la maladie. Selon les experts externes, le nombre annuel d'analyse sera supérieur à 500.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic de la GEM primaire se fait traditionnellement par intégrations des données cliniques (protéinurie, fonction rénale, créatinine sérique) et des résultats histologiques d'une biopsie rénale. La biopsie représente la méthode de référence pour diagnostiquer la GEM [De Vriese *et al.*, 2017; Mastroianni-Kirsztajn *et al.*, 2015].

¹² Le syndrome néphrotique est une maladie au cours de laquelle les reins perdent leur capacité à filtrer le sang et laissent échapper des quantités importantes de protéines dans les urines. De ce fait, les reins vont également mal éliminer l'eau et le sel qui vont infiltrer les tissus et constituer des oedèmes (Vulgaris Médical. Syndrome néphrotique [site Web], disponible à : <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/syndrome-nephrotique> (consulté le 31 mai 2017)).

¹³ Information transmise par le D^r Stephan Troyanov, interniste et néphrologue, CIUSSS Nord MTL – Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et le D^r David Philibert, interniste et néphrologue, CHUQ – Université Laval, Hôtel-Dieu de Québec (8 mai, 17 juin et 26 juin 2017).

Certains néphrologues ont recours aux envois hors Québec afin d'évaluer la présence d'anti-PLA₂R circulants chez leurs patients. De plus, certains pathologistes offrent la possibilité de faire un marquage des anti-PLA₂R sur les tissus rénaux provenant de biopsies. Enfin, certains néphrologues ont recours aux envois hors Québec afin d'évaluer les changements de taux des anti-PLA₂R circulants chez leurs patients et guider les décisions relatives au traitement¹⁴.

4.5 Données médico-administratives

Aucune procédure du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*), ne permet présentement l'évaluation des niveaux d'anti-PLA₂R circulants. Au cours des dernières années, la presque totalité des échantillons ont été analysés au Mitogen Advanced Diagnosis Laboratory (MADL) en Alberta (tableau 2). Les autres ont été envoyés à la clinique Mayo aux États-Unis. Alors que la clinique Mayo utilise les mêmes troussees que celles proposées par le demandeur¹⁵, le MADL utilise seulement la trousse IIFT¹⁶.

Tableau 2 Envois hors réseaux de l'analyse d'anti-PLA₂R circulants pour les années 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	ÉCHANTILLONS		COÛT TOTAL (\$)
	NOMBRE	COÛT MOYEN (\$)	
2013-2014	7	174	1 220
2014-2015	59	124	7 290
2015-2016	129	134	17 320

Source : données du MSSS.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'analyse des anti-PLA₂R circulants permet de :

- préciser le diagnostic de la GEM primaire lorsque la biopsie rénale est contre-indiquée;
- prédire l'évolution de la maladie rénale;
- suivre la réponse au traitement immunosuppresseur et ajuster sa durée.

Selon les experts externes consultés, l'analyse des anti-PLA₂R circulants ne remplace pas la biopsie rénale (sauf dans les cas où la biopsie est contre-indiquée), mais elle permet de préciser le diagnostic de GEM primaire et d'observer les patients qui ne sont pas traités. Un des intérêts majeurs du test est que la réponse immunologique au traitement précède la réponse clinique. Ainsi, le suivi des taux d'anti-PLA₂R permet de surveiller la réponse des patients au traitement immunosuppresseur et de l'ajuster au

¹⁴ Information transmise par le D^r Stephan Troyanov, interniste et néphrologue, CIUSSS Nord MTL – Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et le D^r David Philibert, interniste et néphrologue, CHUQ – Université Laval, Hôtel-Dieu de Québec (8 mai 2017).

¹⁵ Mayo Clinic, Mayo Medical Laboratories. Phospholipase A2 receptor antibodies, serum [site Web], disponible à : <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/64327> (consulté le 10 avril 2017).

¹⁶ Information transmise par Karim Benkirane, biochimiste clinique, CIUSSS Est MTL – Hôpital Maisonneuve-Rosemont (25 avril 2017).

besoin. De plus, l'analyse des autoanticorps permet de documenter les rechutes de la GEM primaire¹⁷.

4.7 Assurance qualité

Le processus inclura un suivi à l'aide d'échantillons de concentration connue et de témoins positifs et négatifs. Selon le demandeur, la trousse Anti-PLA₂R IIFT (IgG)^{MC} peut également être utilisée pour vérifier et confirmer les résultats obtenus par la méthode ELISA. Finalement, le tout sera suivi et enregistré via un système informatique à des fins de traçabilité. L'interprétation et la prise en charge d'un tel programme seront assurées par les différents professionnels spécialisés du laboratoire de biochimie (biochimistes cliniques et technologistes médicaux).

Le demandeur prévoit aussi participer au contrôle de qualité externe proposé par l'*Institute for Quality Assurance Lübeck*. Ce test consiste en deux envois annuels de trois échantillons dont la concentration est inconnue. Une certification est octroyée et maintenue par la réussite de ces épreuves [IfQ-Lübeck, 2015].

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Le défi du diagnostic de la GEM est de différencier la GEM primaire de la GEM secondaire, en particulier pour les cas âgés associés à la présence d'une tumeur maligne [De Vriese *et al.*, 2017].

Deux revues systématiques avec méta-analyses traitant de la valeur diagnostique des anti-PLA₂R circulants chez les patients atteints de GEM primaire ont été retenues [Dai *et al.*, 2015; Du *et al.*, 2014] (annexe B). De plus, trois études de cohortes impliquant des sujets contrôles seront ensuite présentées afin de mettre en perspective la sensibilité de l'analyse des anti-PLA₂R circulants [Hill *et al.*, 2016; Timmermans *et al.*, 2014; Kanigicherla *et al.*, 2013].

Méta-analyse de la précision des anti-PLA₂R circulants à diagnostiquer la GEM primaire comparativement à des contrôles sains ou atteints d'une autre maladie rénale

Du et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 15 études de cohortes contrôlées totalisant 2 212 sujets dont 710 étaient atteints de GEM primaire, 913 étaient des individus sains et 589 étaient atteints d'une autre maladie rénale. L'objectif principal de la méta-analyse était d'évaluer la performance diagnostique des anti-PLA₂R sériques dans le contexte de la GEM primaire (annexe B). Considérant l'ensemble des patients inclus, la sensibilité de l'analyse des anti-PLA₂R sériques à diagnostiquer une GEM primaire parmi des patients sains ou ayant une autre maladie rénale était de 78% et sa spécificité de 99 % (tableau 3). Les études incluses étaient hétérogènes ($I^2_{\text{sensibilité}} : 94\%$; $I^2_{\text{spécificité}} : 94\%$) et deux d'entre elles avaient un effet significatif sur la précision diagnostique des anti-PLA₂R circulants dû à un biais de sélection des patients [Dai *et al.*, 2015; Dahnrich *et al.*, 2013]. En

¹⁷ Information transmise par le D^r Stephan Troyanov, interniste et néphrologue, CIUSSS Nord MTL – Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et le D^r David Philibert, interniste et néphrologue, CHUQ – Université Laval, Hôtel-Dieu de Québec (8 mai 2017).

omettant ces études, la sensibilité de l'analyse des anti-PLA₂R était de 71 % et sa spécificité de 99 % (tableau 3) pour le diagnostic de GEM primaire.

Les auteurs ont souligné que la découverte des anti-PLA₂R était récente, que la qualité méthodologique des études incluses n'était pas élevée et qu'il y avait un biais potentiel de publication à travers les études sélectionnées indiquant que la valeur diagnostique des anti-PLA₂R sériques à détecter une GEM primaire pouvait être surestimée. Compte tenu de ces limites et de l'hétérogénéité entre les études, les auteurs ont conclu que la valeur diagnostique de l'analyse des anti-PLA₂R sériques était modeste.

Tableau 3 Précision des anti-PLA₂R circulants à diagnostiquer une GEM primaire en comparaison avec des personnes saines ou des patients atteints de GEM secondaire

ÉTUDE (PATIENTS)	SENSIBILITÉ % (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC-ROC (IC95 %)
15* (2 212)	78 (66 à 87)	99 (96 à 100)	437 (74 à 2 592)	0,96 (0,94 à 0,98)
13† (1 148)	71 (61 à 79)	99 (93 à 100)	226 (34 à 1 522)	0,89 (0,86 à 0,92)

Source : Du *et al.*, 2014.

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (*receiver operating characteristic*); IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; RCD : rapport de cotes diagnostique.

* Précision diagnostique des anti-PLA₂R sériques lorsque toutes les études sélectionnées sont prises en compte.

† Précision diagnostique des anti-PLA₂R sériques lorsque l'article de Dahnrich et ses collaborateurs [2013] comportant deux études est omis.

Méta-analyse de la précision des anti-PLA₂R circulants à distinguer la GEM primaire de la GEM secondaire

Dai et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 19 études de cohortes contrôlées totalisant 1 160 sujets atteints de GEM et dont l'objectif principal était d'évaluer la précision diagnostique des analyses sérologiques et histologiques pour différencier la GEM primaire de la GEM secondaire (annexe B). Considérant l'ensemble des patients inclus, la sensibilité de l'analyse des anti-PLA₂R sériques à différencier une GEM primaire d'une GEM secondaire était de 68 % et sa spécificité de 97 % (annexe C). L'hétérogénéité entre les études était significative (I^2 : 84 %). Cependant, lorsqu'une restriction des patients basée sur une protéinurie supérieure à 3,5 g par jour avant l'initiation du traitement immunosuppresseur et au moment de la biopsie était appliquée, les études étaient homogènes (I^2 : 0 %). Dans ces conditions, la sensibilité de l'analyse des autoanticorps était de 78 % et sa spécificité de 82 % (annexe C). Les analyses de sous-groupe ont suggéré que la conception de l'étude, l'origine de l'étude et la méthode de détection étaient des sources d'hétérogénéité.

Les auteurs ont souligné que la qualité méthodologique des études incluses était modérée et qu'il y avait une grande hétérogénéité entre les études utilisant la méthode sérologique. Ils ont conclu que l'analyse des anti-PLA₂R sériques a une valeur diagnostique pour différencier la GEM primaire de la GEM secondaire, mais que le résultat doit être interprété en tenant compte des caractéristiques cliniques (degré de protéinurie, traitement immunosuppresseur, moment de la détection). Ils ont aussi recommandé le marquage histologique de PLA₂R chez les patients séronégatifs

(sensibilité = 78 % [IC95 % : 72 à 83]; spécificité = 91 % [IC95 % : 75 à 97]; RCD = 35 [10 à 121]; ASC-ROC = 0,84 [IC95 % : 0,81 à 0,87], $I^2 = 0$).

La sensibilité de l'ELISA peut être augmentée en utilisant un seuil de positivité inférieur à celui proposé dans la trousse de la compagnie Euroimmun AG

L'étude de Timmermans et ses collaborateurs [2014] avait comme objectif d'évaluer la valeur diagnostique d'un ELISA anti-PLA₂R (Euroimmun AG) chez les patients atteints de GEM primaire et de la comparer avec la valeur diagnostique de l'IIFT (Euroimmun AG) et de l'immunobuvardage (tableau 4). Au total, 142 patients ont été inclus dans l'étude : 109 étaient atteints d'une GEM primaire confirmée par une biopsie rénale, 16 avaient une GEM secondaire et 17 une protéinurie d'ordre néphrotique due à une autre cause.

La sensibilité de l'ELISA était augmentée de 63 % à 72 % lorsque le seuil de positivité était abaissé à 2 unités relatives (UR)/ml comparativement à 20 UR/ml, et ce, sans affecter la spécificité (tableau 4). Les neuf patients séropositifs suite au changement de seuil de positivité l'étaient aussi par immunobuvardage et huit l'étaient par IIFT. De plus, les 17 contrôles néphrotiques et 15 des 16 patients ayant une GEM secondaire étaient séronégatifs en utilisant le seuil de 2 UR/ml. Le seul patient contrôle séropositif l'était aussi par immunobuvardage et IIFT. Les auteurs ont conclu que les résultats de l'ELISA corrélaient bien avec ceux de l'IIFT et de l'immunobuvardage. Notons qu'un des co-auteurs de cette publication était affilié à la compagnie Euroimmun AG.

Tableau 4 Valeur diagnostique de trois techniques mesurant les autoanticorps anti-PLA₂R dans le sérum chez les patients atteints de GEM primaire

TECHNIQUE	SENSIBILITÉ %	SPÉCIFICITÉ %
ELISA (seuil de 20 UR/ml)	63	97
ELISA (seuil de 2 UR/ml)	72	97
IIFT	68	97
WB	72	97

Source : Timmermans *et al.*, 2014.

Abréviations : ELISA : dosage immuno-enzymatique (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*); IIFT : immunofluorescence indirecte (de l'anglais *indirect immunofluorescence test*; UR : unité relative; WB : immunobuvardage (de l'anglais *western blot*).

Le niveau d'anti-PLA₂R sériques dépend de l'état clinique de la GEM

Un des objectifs de Kanigicherla et ses collaborateurs [2013] était d'évaluer l'association du niveau d'anti-PLA₂R avec les critères cliniques de la maladie active au moment du premier prélèvement. En tout, 90 patients atteints de GEM primaire diagnostiquée par biopsie ont participé à l'étude. De ceux-ci, 40 avaient une maladie active¹⁸, 27 étaient en rémission partielle¹⁹ et 23 en rémission complète²⁰.

¹⁸ Protéinurie supérieure à 3,5 g/j ou persistance de la protéinurie à 50 % et plus de la valeur initiale ou augmentation de la créatinine sérique supérieure à 25 %.

¹⁹ Protéinurie de 0,3 g/j à 3,5 g/j et réduction de la protéinurie jusqu'à au moins 50 % de la valeur initiale, avec une fonction rénale stable (augmentation maximale de la créatinine sérique de 25 %).

²⁰ Protéinurie inférieure à 0,3 g/j avec une fonction rénale stable (augmentation maximale de la créatinine sérique de 25 %).

Au total, 46 % des patients avaient des anti-PLA₂R sériques dont 75 % des sujets ayant une maladie active, 37 % de ceux en rémission partielle et 10 % de ceux en rémission complète (tableau 5). La médiane du titre d'anti-PLA₂R était significativement plus élevée chez les patients ayant la maladie active ($p < 0,001$). Les auteurs ont conclu qu'un titre élevé d'anti-PLA₂R est lié à l'activité de la maladie.

Tableau 5 Présence d'anti-PLA₂R en fonction de l'activité de la GEM primaire

	MALADIE ACTIVE* (n = 40)	RÉMISSION		COHORTE ENTIÈRE (n = 90)
		PARTIELLE† (n = 27)	COMPLÈTE‡ (n = 23)	
Patients, n (%)	30 (75)	10 (37)	2 (10)	42 (46)

Source : Kanigicherla *et al.*, 2013.

* Protéinurie supérieure à 3,5 g/j ou persistance de la protéinurie à 50 % et plus de la valeur initiale ou augmentation de la créatinine sérique supérieure à 25 %.

† Protéinurie de 0,3 g/j à 3,5 g/j et réduction de la protéinurie jusqu'à au moins 50 % de la valeur initiale, avec une fonction rénale stable (augmentation maximale de la créatinine sérique de 25 %).

‡ Protéinurie inférieure à 0,3 g/j avec une fonction rénale stable (augmentation maximale de la créatinine sérique de 25 %).

Le marquage des biopsies rénales permet d'augmenter la sensibilité du diagnostic de GEM primaire associée à PLA₂R

Différentes études ont souligné que la sensibilité diagnostique des GEM primaires associées à PLA₂R est supérieure lorsque le marquage d'une biopsie rénale est utilisé en plus de la détection des anti-PLA₂R sériques [Pourcine *et al.*, 2017; Hill *et al.*, 2016; Timmermans *et al.*, 2015; Svobodova *et al.*, 2013; Debiec *et al.*, 2011]. D'ailleurs, Hill et ses collaborateurs [2016] ont comparé la valeur diagnostique de l'ELISA (seuil de positivité de 2 UR/ml), de l'IIFT, du marquage des biopsies et de différentes combinaisons de ces méthodes et ont conclu que la combinaison du dosage sérique et de la localisation tissulaire des anti-PLA₂R augmente la sensibilité du test (tableau 6).

Tableau 6 Comparaison de la valeur diagnostique des méthodes sérologiques (ELISA et IIFT), du marquage de la biopsie et de la combinaison de ces méthodes pour la GEM primaire*

MÉTHODE	SENSIBILITÉ % (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC95 %)	RC DIAGNOSTIQUE (IC95 %)	ASC-ROC (IC95 %)
Biopsie	90 (67 à 99)	100 (82 à 100)	273 (12 à 6 086)	0,95 (0,88 à 1,00)
IIFT	81 (58 à 95)	100 (82 à 100)	152 (8 à 3 023)	0,91 (0,82 à 0,99)
ELISA [†]	81 (58 à 95)	100 (82 à 100)	152 (8 à 3 023)	0,91 (0,82 à 0,99)
Biopsie + IIFT	95 (76 à 100)	100 (82 à 100)	533 (21 à 13 887)	0,98 (0,93 à 1,00)
Biopsie + ELISA [†]	95 (76 à 100)	100 (82 à 100)	533 (21 à 13 887)	0,98 (0,93 à 1,00)
IIFT + ELISA [†]	81 (58 à 95)	100 (82 à 100)	152 (8 à 3 023)	0,91 (0,82 à 0,99)

Source : Hill *et al.*, 2016.

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (*receiver operating characteristic*); ELISA : dosage immuno-enzymatique (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*); IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IIFT : immunofluorescence indirecte (de l'anglais *indirect immunofluorescence test*; RC : rapport des cotes; UR : unité relative.

* Quarante patients ont été analysés : 21 patients atteints de GEM primaire, 9 patients atteints de GEM secondaire et 10 patients ayant une néphropathie non membraneuse.

[†] Seuil de positivité : 2 UR/ml.

5.2 Valeur pronostique

Six études de cohortes dont trois prospectives ont été retenues pour déterminer la valeur du dosage des anti-PLA₂R sériques à prédire :

- l'évolution de la maladie (rémission spontanée ou progression);
- l'issue clinique suite à un traitement immunosuppresseur (maintien de la rémission ou récurrence);
- l'issue clinique suite à une greffe rénale (maintien de la rémission ou récurrence).

Afin de faciliter la lecture, les résultats des articles retenus sont présentés selon le titre d'anti-PLA₂R sériques ou regroupés par des thèmes communs. Un tableau présentant les caractéristiques de chacune des études est présenté à l'annexe D.

5.2.1 Capacité des anti-PLA₂R circulants à prédire l'évolution de la GEM primaire (rémission spontanée ou progression)

Seule la rémission spontanée sera traitée dans cette section, la rémission induite suite à un traitement immunosuppresseur sera traitée à la section 5.3.

Absence d'anti-PLA₂R sérique

La rémission spontanée survient plus fréquemment chez les patients n'ayant pas d'anti-PLA₂R comparativement aux patients séropositifs (tableau 7) [Pourcine *et al.*, 2017; Timmermans *et al.*, 2015; Timmermans *et al.*, 2014].

Tableau 7 Comparaison du nombre de rémissions spontanées observées en fonction de la présence ou de l'absence d'anti-PLA₂R circulants

ÉTUDE AUTEUR, ANNÉE	SUIVI	DÉFINITION DE LA RÉMISSION	PATIENTS SÉRONÉGATIFS		PATIENTS SÉROPOSITIFS		p
			TOTAL n	RÉMISSION n (%)	TOTAL n	RÉMISSION n (%)	
Pourcine, 2017 [†]	≥ 6 mois	Protéinurie < 3,5 g/j et réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale Augmentation ou retour à la normale de la concentration d'albumine sérique Créatinine sérique stable (maximum 25 % de variation)	8 [*]	6 (67)	42	15 (36)	0,0557
Timmermans, 2015 [§]	2,9 années [†]	Protéinurie < 2 g/jour	8 [*]	7 (88)	65	28 (43)	0,02
Timmermans, 2014 [‡]	n.d.	Protéinurie ≤ 3,5 g/j et réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale	19 [‡]	13 (68)	54	22 (41)	0,038

* Les patients avaient des dépôts d'anti-PLA₂R sur la biopsie rénale.

† Temps de suivi médian = 2,9 années [IC95 % : 0,8 à 5,0].

‡ Aucune information disponible sur la présence de dépôts d'anti-PLA₂R sur la biopsie rénale.

De plus, une étude incluant seulement des patients ayant une protéinurie inférieure à 3,5 g/jour a démontré que les patients n'ayant pas d'anti-PLA₂R lors de l'inclusion dans l'étude développaient moins de protéinurie d'ordre néphrotique (supérieure à 3,5 g/jour) et de niveau moins grave que les patients séropositifs (tableau 8). Aussi, lorsqu'ils développaient une telle protéinurie, les patients séronégatifs la développaient significativement plus lentement ($p = 0,001$). D'ailleurs, une analyse de régression de Cox multivariée²¹ a démontré que le risque de développer une protéinurie d'ordre néphrotique augmentait avec le niveau d'anti-PLA₂R (RRI = 3,66 [IC95 % : 1,39 à 9,64]; $p = 0,009$) [Hoxha *et al.*, 2014b].

Tableau 8 Comparaison de la protéinurie observée en fonction de la présence ou de l'absence d'anti-PLA₂R circulants lors de l'évaluation initiale

PROTÉINURIE	PATIENTS SÉRONÉGATIFS* (n = 17)	PATIENTS SÉROPOSITIFS (n = 16)	p
Ordre néphrotique [†] , n	5	13	< 0,005
Niveau, g/jour	5,4 ± 1,9	10,4 ± 5,7	0,08

Source : Hoxha *et al.*, 2014b.

* Aucune information disponible sur la présence de dépôts d'anti-PLA₂R sur la biopsie rénale.

[†] Protéinurie supérieure à 3,5 g/jour.

Titre initial bas d'anti-PLA₂R sériques

Bien que la définition d'un titre bas soit légèrement différente d'un article à l'autre, un taux plus élevé de rémission spontanée est observé chez les patients ayant un titre bas d'anti-PLA₂R comparativement à ceux ayant un titre élevé (tableau 9) [Pourcine *et al.*, 2017; Timmermans *et al.*, 2015]. D'ailleurs, une analyse de régression de Cox multivariée²² a identifié le titre bas d'anti-PLA₂R au moment du diagnostic comme un indicateur indépendant de la rémission spontanée (RRI = 2,72 [IC95 % : 1,22 à 6,08]; $p = 0,02$) [Timmermans *et al.*, 2015]. De plus, un titre initial bas²³ (n = 65) a aussi été associé à une atteinte plus rapide de la rémission comparativement à un titre élevé (n = 63) ($p = 0,01$) [Hoxha *et al.*, 2014c].

²¹ Les autres variables étaient l'âge, le sexe et le niveau de protéinurie.

²² Les autres variables étaient l'âge, le sexe, le niveau de protéinurie (faible, modéré et grave) et la créatinine sérique.

²³ La valeur seuil d'un titre initial bas n'est pas présentée dans l'article. La seule information disponible est que les 128 patients ont été séparés en deux groupes selon la médiane du titre d'anti-PLA₂R initial [Hoxha *et al.*, 2014c].

Tableau 9 Comparaison du nombre de rémissions spontanées observées selon le titre d'anti-PLA₂R circulants

ÉTUDE AUTEUR, ANNÉE	SUIVI	DÉFINITION DE LA RÉMISSION	TITRE BAS			TITRE ÉLEVÉ			p
			UR/ml	TOTAL n	RÉMISSION n (%)	UR/ml	TOTAL n	RÉMISSION n (%)	
Pourcine, 2017	≥ 6 mois	Protéinurie < 3,5 g/j et réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale Augmentation ou retour à la normale de la concentration d'albumine sérique Créatinine sérique stable (maximum 25 % de variation)	≤ 97,6	26	17 (65)	> 97,6	26	7 (27)	0,0054
Timmermans, 2015	2,9 ans *	Protéinurie < 2 g/jour	16 à 53	21	16 (76)	≥ 77	44	12 (27)	< 0,001
			≤ 53	29	23 (79)	≥ 77	44	12 (27)	≤ 0,001

Abréviation : UR : unité relative.

* Temps de suivi médian de 2,9 années (IC95 % : 0,8 à 5,0).

Titre initial élevé d'anti-PLA₂R

La définition d'un titre élevé d'anti-PLA₂R est différente d'un article à l'autre [Pourcine *et al.*, 2017; Timmermans *et al.*, 2015; Hoxha *et al.*, 2014a; Hoxha *et al.*, 2014c]. Trois des quatre articles sélectionnés ont observé une association entre un titre initial d'autoanticorps élevé et un mauvais pronostic (maladie rénale chronique de stade supérieur ou égal à 4 ou insuffisance rénale terminale) (tableau 10). Notons qu'un titre initial élevé a aussi été associé à une progression plus rapide de la maladie qu'un titre initial bas ($p < 0,001$) [Hoxha *et al.*, 2014a].

Tableau 10 Comparaison du nombre de progressions observées de la GEM primaire selon le titre d'anti-PLA₂R circulants

ÉTUDE AUTEUR, ANNÉE	SUIVI (MOIS)	PROGRESSION OBSERVÉE	TITRE BAS			TITRE ÉLEVÉ			p	TITRE ÉLEVÉ COMME INDICATEUR DE LA PROGRESSION (RÉGRESSION DE COX MULTIVARIÉE)
			UR/ml	TOTAL n	PROGRESSION n (%)	UR/ml	TOTAL n	PROGRESSION n (%)		
Pourcine, 2017	≥ 6	Maladie rénale chronique de stade ≥ 4	≤ 97,6 (med)	26	1 (3,8)	> 97,6 (med)	26	10 (38,5)	0,0022	n.d.
Timmermans, 2015	2,9 ans [*]	Insuffisance rénale terminale	≤ 53	29	4 (14)	≥ 77	44	6 (14)	n.d.	RRI [†] = 0,62 [IC95 % : 0,11 à 3,50]; p = n.s.
Hoxha, 2014c	≤ 24	Absence de rémission (Protéinurie < 3,5 g/j et réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale)	< med	65	n.d.	> med	63	n.d.	n.d.	RRI [‡] = 0,81 [IC95 % : 0,70 à 0,95; p = 0,008
Hoxha, 2014b	27 [§]	Augmentation de la créatinine sérique ≥ 25 % Créatinine sérique ≥ 1,3 mg/dl	20 à 86	40	10 (25)	≥ 202	39	27 (69)	0,03	RRI = 1,60 [IC95 % : 1,02 à 2,50]; p = 0,04

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; EIQ : écart interquartile; med : médiane; n.d. : non disponible; n.s. : non significatif; RRI : rapport de risque instantané; UR : unité relative.

^{*} Temps de suivi médian de 2,9 années (IC95 % : 0,8 à 5,0).

[†] Les autres variables étaient l'âge, le sexe, le niveau de protéinurie (léger, modéré et grave) et la créatinine sérique.

[‡] Les autres variables étaient l'âge, le sexe, la créatinine sérique, la protéinurie et la prise d'immunosuppresseur.

[§] Temps médian de suivi de 27 mois (EIQ : 18 à 33).

^{||} Les autres variables étaient l'âge, le sexe, le niveau d'anti-PLA₂R IgG4, la protéinurie, l'albumine sérique, la créatinine sérique, l'intervalle de temps entre la biopsie et l'inclusion dans l'étude, les lésions glomérulaires, la pression sanguine et la prise d'immunosuppresseur.

5.2.2 Capacité des anti-PLA₂R circulants à prédire l'issue clinique suite à un traitement immunosuppresseur (maintien de la rémission ou récurrence)

Titre d'anti-PLA₂R à la fin du traitement immunosuppresseur

Une association entre le titre d'anti-PLA₂R à la fin du traitement immunosuppresseur et l'issue clinique à long terme a été observée par Bech et ses collaborateurs [2014]. Les 48 patients inclus dans cette étude ont reçu un traitement immunosuppresseur (cyclophosphamide ou mycophénolate mofétil) de 12 mois puis ont été suivis pendant cinq années. À la fin du suivi, 14 (58 %) des 24 patients, qui étaient devenus séronégatifs en réponse au traitement, étaient en rémission persistante comparativement à 0 des 9 patients qui avaient encore des autoanticorps à la fin du traitement ($p = 0,003$). Les auteurs ont conclu que la mesure du titre d'anti-PLA₂R à la fin d'un traitement peut prédire l'évolution clinique subséquente.

Cinétique du titre d'anti-PLA₂R suite au traitement immunosuppresseur

Une évaluation répétitive des anti-PLA₂R a été faite chez 44 patients ayant atteint une rémission²⁴ suite à un traitement immunosuppresseur (rituximab). Les anti-PLA₂R ont augmenté/réémergé chez 10 des 13 patients qui ont eu une récurrence comparativement à 3 des 31 patients sans récurrence ($p < 0,001$). Une analyse de régression de Cox a démontré que l'augmentation et/ou la réémergence d'anti-PLA₂R (RRI = 6,70 [IC95 % : 1,68 à 26,81]; $p = 0,007$) et la réémergence seule suite à une déplétion complète (RRI = 6,54 [IC95 % : 1,57 à 27,14]; $p = 0,010$) étaient des indicateurs indépendants de la récurrence [Ruggenti *et al.*, 2015].

5.2.3 Capacité des anti-PLA₂R circulants à prédire l'issue clinique suite à une greffe rénale (maintien de la rémission ou récurrence)

La valeur du titre des anti-PLA₂R circulants à prédire la récurrence de la GEM primaire suite à une greffe rénale est controversée (tableau 11). Certains résultats divergent d'une étude à l'autre à cause, entre autres, de la différence du seuil de positivité utilisé pour l'ELISA et du suivi des patients [Grupper *et al.*, 2016; Kattah *et al.*, 2015]. Malgré ces divergences, quatre groupes ont conclu que le niveau d'anti-PLA₂R avant ou au moment de la greffe rénale pourrait être un outil utile pour prédire le risque de récurrence [Grupper *et al.*, 2016; Gupta *et al.*, 2016; Kattah *et al.*, 2015; Quintana *et al.*, 2015].

²⁴ Protéinurie inférieure à 3 g/j avec une réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale.

Tableau 11 Analyse de la valeur du niveau d'anti-PLA₂R sérique au moment de la greffe rénale à prédire la récurrence de la GEM primaire

ÉTUDE AUTEUR, ANNÉE	SUIVI MÉDIANE EN MOIS (ÉTENDUE)	PATIENT		SÉRONÉGATIF PRÉ-GREFFE			SÉROPOSITIF PRÉ-GREFFE			VALEUR PRÉDICTIVE DU NIVEAU D'ANTI-PLA ₂ R PRÉ-GREFFE		
		TOTAL n	RÉCIDIVE n	UR/ml	TOTAL n	RÉCIDIVE n	UR/ml	TOTAL n	RÉCIDIVE n	SEUIL UR/ml	VPP %	VPN %
Gupta, 2016	5,8 ans (1 à 9)	16	6	< 14	10	1 [*]	> 14	6	5	> 30 [†]	100	91
Quintana, 2015	141 (n.d.)	21	7	< 14	10 [‡]	1 [‡]	> 20	11 [‡]	6 [‡]	> 45	85	92
Kattah, 2015	98 (74 à 135) [§]	24	19	< 14	12	7	> 14	12	10	WB	83	42
Seitz-Polski, 2014	74 (12 mois à 16 ans)	13	6	n.d.	4	1	n.d.	9	5	n.d.	56 [‡]	75 [‡]
Grupper, 2015	77 (39 à 113) [§]	31	18	WB	12	4	WB	19	14	WB	74 [‡]	67 [‡]

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; n.d. : non disponible; UR : unité relative; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative; WB : immunobuvardage (de l'anglais *Western blot*).

^{*} Ce patient a reçu un diagnostic de lymphome diffus à grande cellules B ultérieurement.

[†] Le seuil a été choisi en fonction de la médiane du titre d'anti-PLA₂R chez les cinq patients séropositifs avant la greffe qui ont eu une récurrence (82 UR/ml [31 à 1 500]).

[‡] Nombres calculés par l'INESSS avec les données présentées.

[§] Écart interquartile.

^{||} Le statut des anti-PLA₂R avant la greffe était connu pour 31 patients. Toutefois, la publication porte sur 63 patients dont 30 (47,6 %) ont eu une récurrence de la GEM primaire.

Présence d'anti-PLA₂R au moment de la greffe

Une association significative entre le haut niveau d'anti-PLA₂R avant la greffe et la récurrence ($p = 0,03$) a été observée [Quintana *et al.*, 2015]. De plus, selon Grupper et ses collaborateurs [2016], le risque de récurrence était plus élevé chez les patients ayant des anti-PLA₂R avant la greffe ($\text{RRI} = 3,761$ [IC95 % : 1,635 à 8,652], $p = 0,002$). Par contre, Seitz-Polski et ses collaborateurs [2014] n'ont pas observé de relation entre la présence d'anti-PLA₂R au moment de la greffe et la récurrence de la GEM primaire ($p = 0,600$). Toutefois, ils ont observé une relation entre la persistance d'autoanticorps sur une période de suivi d'au moins six mois suite à la greffe et la récurrence ($p = 0,0048$). Notons cependant que, contrairement aux données des autres groupes, celles-ci sont basées sur le niveau d'anti-PLA₂R IgG4 et non sur le niveau d'IgG total.

Aucune corrélation n'a été observée entre le niveau d'anti-PLA₂R avant la greffe et le temps avant l'atteinte d'une récurrence ($p = 0,5$) [Gupta *et al.*, 2016] ni entre la présence des autoanticorps et le fait que la GEM primaire récidivante soit progressive ou non ($p = 0,516$) [Grupper *et al.*, 2016].

5.3 Valeur thérapeutique

De façon générale, la rémission (spontanée et induite) est associée avec une diminution du titre d'anti-PLA₂R ($\text{RC} = 0,4$ [IC95 % : 0,2 à 0,8]; $p = 0,0082$) [Pourcine *et al.*, 2017]. Dans cette section, seule l'issue clinique suite à un traitement immunosuppresseur sera traitée. Au Québec, le traitement de première ligne pour la GEM primaire est la cyclophosphamide, celui de deuxième ligne est les anti-calcineurines (tacrolimus) et la troisième ligne est le rituximab²⁵.

Compte tenu de la différence de temps de traitement, les articles portant sur le rituximab seront traités séparément. De plus, afin de faciliter la lecture, les résultats des articles retenus sont présentés selon le titre d'anti-PLA₂R sériques ou regroupés par des thèmes communs. Un tableau présentant les caractéristiques de chacune des études est présenté à l'annexe D.

Valeur du titre initial d'anti-PLA₂R à prédire la réponse au rituximab

Le titre initial d'anti-PLA₂R des patients traités au rituximab ayant atteint une rémission est significativement différent de celui des patients ne répondant pas au traitement (tableau 12) [Pourcine *et al.*, 2017; Ruggenenti *et al.*, 2015]. De plus, Ruggenenti et ses collaborateurs [2015] ont remarqué que le temps d'atteinte à la rémission²⁶ tendait à augmenter avec le titre initial d'anti-PLA₂R ($p = 0,003$).

Une analyse de Cox multivariée²⁷ a démontré que les patients ayant un titre initial supérieur à 204 UR/ml avaient une probabilité plus faible d'atteindre une rémission comparativement aux patients n'ayant pas d'autoanticorps ($\text{RRI} = 0,234$ [IC95 % : 0,090 à 0,607]; $p = 0,003$) [Ruggenenti *et al.*, 2015]. D'autre part, un titre initial d'anti-PLA₂R inférieur à 275 UR/ml était associé avec l'atteinte d'une rémission à 6 mois ($\text{RC} = 4,3$ [IC95 % : 1,1 à 17,3]; $p = 0,04$) indépendamment du groupe de traitement, de l'âge, du

²⁵ Information transmise par le D^r Stephan Troyanov, interniste et néphrologue, CIUSSS Nord MTL – Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et le D^r David Philibert, interniste et néphrologue, CHUQ – Université Laval, Hôtel-Dieu de Québec (8 mai 2017).

²⁶ Protéinurie inférieure à 3,0 g/jour avec une réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale.

²⁷ Les autres variables étaient le sexe, la créatinine sérique, la protéinurie et les différents niveaux d'anti-PLA₂R.

sexe, de la protéinurie initiale, de l'albumine sérique et de la créatinine [Dahan *et al.*, 2017].

Valeur du titre initial d'anti-PLA₂R à prédire la réponse aux autres traitements immunosuppresseurs

Le titre initial d'anti-PLA₂R des patients traités à la cyclophosphamide ou au tacrolimus ayant atteint une rémission²⁸ était significativement différent de celui des patients ne répondant pas au traitement dans l'étude de Ramachandran et ses collaborateurs [2016] (tableau 12). Cependant, deux autres groupes ayant utilisé la cyclophosphamide, le tacrolimus avec du rituximab et le mycophénolate mofétil ont souligné qu'ils n'avaient pas observé de relation entre le titre d'anti-PLA₂R avant le traitement et la réponse clinique [Medrano *et al.*, 2015; Bech *et al.*, 2014].

²⁸ Protéinurie inférieure à 2 g/jour ou inférieure à 50 % de la valeur initiale accompagnée d'une concentration d'albumine sérique supérieure ou égale à 3,5 g/dl et d'une créatinine sérique normale.

Tableau 12 Différence du titre initial d'anti-PLA₂R entre les patients ayant atteint une rémission suite à un traitement immunosuppresseur et ceux ne l'ayant pas atteint

ÉTUDE AUTEUR, ANNÉE	TRAITEMENT*	DÉFINITION DE LA RÉMISSION	RÉMISSION		SANS RÉMISSION		p
			n	TITRE, UR/ml	n	TITRE, UR/ml	
Pourcine, 2017 médiane (EIQ)	Rtx (2 perfusions)	Protéinurie < 3,5 g/j et réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale Augmentation ou retour à la normal de la concentration d'albumine sérique Créatinine sérique stable (maximum 25 % de variation)	11	44,4 (21,1 à 286,8)	6	391,3 (365,0 à 508,3)	0,0379
Ruggenti, 2015 médiane (EIQ)	Rtx (4 ou 5 perfusions)	Protéinurie < 3 g/j et réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale	84	101,2 (46,6 à 181,9)	48	212,9 (116,5 à 352,6)	< 0,01
Ramachandran, 2016 moyenne ± ÉT (étendue)	CP	Protéinurie < 2 g/jour ou < 50 % de la valeur initiale Concentration d'albumine sérique ≥ 3,5 g/dl	27	456,3 ± 1240 (0,45 à 6 528)	8	1 037 ± 1 742 (0,45 à 5 260)	0,09
	T	Créatinine sérique normale	25	106,7 ± 114,7 (0,45 à 337,2)	10	514,3 ± 462,3 (0,45 à 1 469)	0,0005

Abréviations : CP : cyclophosphamide; EIQ : écart interquartile; ÉT : écart type; MMF : mycophénolate mofétil; n.d. : non disponible; n.s. : non significatif; Rtx : rituximab; T : tacrolimus; UR : unité relative.

* Pour plus d'information sur les traitements, voir l'annexe D.

Diminution du titre d'anti-PLA₂R pendant le traitement immunosuppresseur

De façon générale, le titre d'anti-PLA₂R diminue pendant le traitement immunosuppresseur (tableau 13). Deux groupes ont constaté que le titre diminuait significativement dans les trois premiers mois du traitement et qu'il restait stable par la suite [Dahan *et al.*, 2017; Hoxha *et al.*, 2014c]. Hoxha et ses collaborateurs [2014c] ont aussi rapporté que la protéinurie avait diminué de 38,8 % chez leurs patients²⁹ dans les trois premiers mois ($p < 0,05$) et qu'elle avait continué à descendre de 17 % à 21 % à tous les trois mois pour les premiers 12 mois. Les auteurs ont souligné le décalage entre la réponse immune et la réponse clinique (protéinurie) [Hoxha *et al.*, 2014c]. Ce décalage a aussi été observé par d'autres groupes [Medrano *et al.*, 2015; Ruggerenti *et al.*, 2015].

Tableau 13 Diminution du titre d'anti-PLA₂R suite à l'initiation d'un traitement immunosuppresseur

ÉTUDE AUTEUR, ANNÉE	n	TRAITEMENT*	TITRE D'ANTI-PLA ₂ R, UR/ml MÉDIANE (EIQ)		p
			INITIAL	AUTRE MOMENT	
Pourcine, 2017	22	Rtx (2 perfusions)	286,8 (39,9 à 405,3)	0,0 (0,0 à 33,4) (temps : n.d.)	0,0015
Dahan, 2017	27	Rtx (2 ou 3 perfusions)	102,5 (36,1 à 672,5)	8,3 (0,0 à 73,5) (temps : 6 mois)	< 0,001
Medrano, 2015	26	CP	243 (191 à 310)	16 (2,5 à 77,0) (temps : 12 mois)	< 0,001
	53	T-Rtx (3 perfusions)	226 (182 à 323)	8 (2 à 12) (temps : 12 mois)	< 0,001
Bech, 2014	22	CP ou MMF ^{§§}	428 (41 à 16 260)	24 (0 à 505) (temps : 2 mois)	n.d.

Abréviations : CP : cyclophosphamide; EIQ : écart interquartile; MMF : mycophénolate mofétil; n.d. : non disponible; Rtx : rituximab; T : tacrolimus; UR : unité relative.

* Pour plus d'information sur les traitements, voir l'annexe D.

Chez les patients traités à la cyclophosphamide ou au tacrolimus, une analyse univariée a démontré que les patients ne répondant pas au traitement avaient un plus haut titre d'anti-PLA₂R que ceux ayant répondu au traitement tant au début de la thérapie ($p = 0,002$), qu'après 6 mois ($p = 0,0003$) et 12 mois ($p < 0,0001$) [Ramachandran *et al.*, 2016]. De plus, Medrano et ses collaborateurs [2015] ont observé une relation significative entre le titre d'anti-PLA₂R et le temps de rémission chez les patients ayant répondu au traitement de cyclophosphamide ($R^2 = 0,69$; $p = 0,002$) ou à la combinaison de tacrolimus avec rituximab ($R^2 = 0,84$; $p = 0,000$).

Chez les patients traités au rituximab, le titre d'anti-PLA₂R avait tendance à être plus élevé à la fin du suivi chez les patients ne répondant pas au traitement (212,9 UR/ml [EIQ : 116,5 à 352,6]) comparativement à ceux ayant une rémission partielle³⁰

²⁹ 54 patients ont reçu un inhibiteur de calcineurine, 35 ont reçu un agent alkylant et 9 du rituximab.

³⁰ Protéinurie inférieure à 3,0 g/jour avec une réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale.

(129,3 UR/ml [EIQ : 61 à 256,8]) ou complète³¹ (86,7 UR/ml [EIQ : 36,5 à 145,7]) (p < 0,001) [Ruggenti *et al.*, 2015].

Valeur du titre d'anti-PLA₂R après trois et six mois de traitement au rituximab à prédire l'issue clinique

Pourcine et ses collaborateurs [2017] ont observé que l'absence d'anti-PLA₂R (p = 0,0222) et la disparition des autoanticorps (p = 0,0120) trois mois après deux perfusions de rituximab étaient associées à l'atteinte de la rémission³². De plus, une autre étude sur des sujets ayant reçu quatre ou cinq perfusions de rituximab a démontré que la déplétion des anti-PLA₂R six mois après le traitement prédisait une augmentation de la probabilité d'atteindre une rémission³³ (RRI = 7,90 [IC95 % : 2,54 à 24,60]; p < 0,001). D'ailleurs, selon une analyse de courbe ROC, le pourcentage de réduction du titre d'anti-PLA₂R à six mois prédisait l'atteinte de la rémission (aire sous la courbe ROC de 0,81; p < 0,01) et de la rémission complète (aire sous la courbe ROC de 0,68; p = 0,04) [Ruggenti *et al.*, 2015].

Valeur du titre d'anti-PLA₂R à prédire la réponse au cyclophosphamide et à la combinaison de tacrolimus et rituximab pendant le traitement

Les patients inclus dans l'étude de Medrano et ses collaborateurs [2015] ont reçu soit un traitement à base de corticostéroïdes et de cyclophosphamide sur une période de six mois (n = 26) ou un traitement de tacrolimus jusqu'à la rémission (maximum 12 mois) accompagné de rituximab dans les trois premiers mois (n = 53). La valeur du titre d'anti-PLA₂R à trois et six mois à prédire l'issue clinique de la maladie a été analysée par courbe ROC. Les auteurs ont analysé la valeur prédictive de la réduction absolue (i.e. la différence du titre d'anti-PLA₂R entre 0 et 3 mois ou entre 0 et 6 mois) et de la réduction relative (i.e. le pourcentage de différence du titre d'anti-PLA₂R entre 0 et 3 mois ou entre 0 et 6 mois). Aux deux temps, la réduction relative du titre a démontré une valeur prédictive plus élevée pour la rémission que la réduction absolue. De plus, la réduction relative du titre d'anti-PLA₂R à 3 mois était très sensible à prédire la réponse à 6 et 9 mois, alors que la réduction à 6 mois était très sensible à prédire la réponse à 9 et 12 mois (tableau 14). Selon les auteurs, la réduction relative du titre d'anticorps à 3 et 6 mois pourrait fournir un critère objectif pour décider de prolonger ou changer de thérapie pendant le suivi.

³¹ Protéinurie inférieure à 0,3 g/jour.

³² La rémission correspondait à une protéinurie inférieure à 3,5 g/j avec une réduction de 50 % comparativement à la valeur initiale accompagnée par une augmentation ou un retour à la normale de la concentration d'albumine sérique et une créatinine sérique stable (maximum 25 % de variation).

³³ La rémission correspondait à une protéinurie inférieure à 3,0 g/jour avec une réduction d'au moins 50 % comparativement à la valeur initiale.

Tableau 14 Valeur de la réduction relative d'anti-PLA₂R à 3 et 6 mois à prédire la rémission à 6, 9 et 12 mois suite à un traitement immunosuppresseur

TRAITEMENT*	INDICATEUR MOIS	PATIENTS n	TEMPS DE RÉMISSION MOIS	RÉDUCTION RELATIVE (À 3 MOIS OU 6 MOIS) %	SE %	SP %	ASC-ROC	p
CP (n = 26)	3	24	6	44	87	93	0,91 ± 0,13	0,000
		21	9	38	88	82	0,93 ± 0,12	0,000
		26	12	37	58	69	0,68 ± 0,16	0,031
	6	21	9	48	94	93	0,96 ± 0,15	< 0,001
		26	12	45	89	95	0,94 ± 0,13	< 0,001
T-Rtx (n = 53)	3	50	6	48	85	92	0,90 ± 0,08	0,000
		50	9	40	89	88	0,88 ± 0,09	0,000
		53	12	30	56	69	0,67 ± 0,12	0,003
	6	50	9	67	97	98	0,95 ± 0,03	< 0,001
		53	12	52	99	98	0,98 ± 0,06	< 0,001

Source : Medrano *et al.*, 2015

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (*receiver operating characteristic*); CP : cyclophosphamide; Rtx : rituximab; SE : sensibilité; SP : spécificité; T : tacrolimus; UR : unité relative.

* Pour plus d'information sur les traitements, voir l'annexe D.

5.4 Validité analytique

Validité analytique de la trousse Anti-PLA₂R ELISA (IgG)^{MC} (Euroimmun AG)

Le seuil de référence de la trousse a été déterminé en évaluant le titre d'anti-PLA₂R chez 191 patients sains. La concentration moyenne d'anti-PLA₂R était de 0,4 UR/ml (0,0 à 5,0). En fixant le seuil de positivité à 20 UR/ml, aucun patient sain n'était séropositif [Euroimmun AG, 2016].

Le coefficient de variation intra-essai basé sur 20 mesures de cinq sérums était inférieur à 6 % pour les échantillons positifs et à 10 % pour les échantillons négatifs (tableau 15). De plus, le coefficient de variation inter-essai basé sur 3 mesures faites à 10 moments avec chaque sérum était inférieur à 11 % pour les échantillons positifs et à 34 % pour les échantillons négatifs [Euroimmun AG, 2016; Dahnrich *et al.*, 2013].

Tableau 15 Validité analytique de la trousse Anti-PLA₂R ELISA (IgG)^{MC} de la compagnie Euroimmun AG

SÉRUM	CV INTRA-ESSAI (n= 20)		CV INTER-ESSAI (n= 3 X 10)	
	MOYENNE ± ÉT UR/ml	CV %	MOYENNE ± ÉT UR/ml	CV %
1 (positif)	26 ± 0,9	3,4	28 ± 1,2	4,2
2 (positif)	97 ± 1,6	1,7	99 ± 6,4	6,4
3 (positif)	861 ± 48,7	5,7	848 ± 90,6	10,0
4 (négatif)	18 ± 0,5	2,6	14 ± 1,6	11,0
5 (négatif)	2 ± 0,2	10,0	2 ± 0,6	34,0

Source : Euroimmun AG, 2016; Dahnrich *et al.*, 2013

Abréviations : CV : coefficient de variation; ÉT : écart type; n : nombre; UR : unité relative.

Validité analytique de la trousse Anti-PLA₂R IIFT (IgG)^{MC} (Euroimmun AG)

Le seuil de référence a été déterminé en évaluant le titre d'anti-PLA₂R chez 178 patients sains. La présence de fluorescence au cytoplasme à une dilution de 1 : 10 a été établie comme seuil de positivité. En utilisant cette valeur seuil, le test a été positif chez 212 (77,1 %) des 275 patients atteints de GEM primaire et chez aucun des 285 patients ayant une comorbidité³⁴ (dont 68 avaient une GEM secondaire) [Euroimmun AG, 2017].

Corrélation entre les résultats de la trousse ELISA et de la trousse IIFT

La compagnie Euroimmun AG a comparé les résultats obtenus chez 198 patients atteints de GEM primaire avec la trousse ELISA à ceux obtenus avec la trousse IIFT (tableau 16). Les 8 patients négatifs à l'ELISA avaient un titre d'anti-PLA₂R variant entre 3 et 10 alors qu'ils étaient positifs par IIFT à des dilutions variant entre 1 : 10 et 1 : 100 [Euroimmun AG, 2016]. Le coefficient de corrélation entre l'ELISA et l'IIFT a été qualifié de bon (0,7491 [IC95 % : 0,7231 à 0,7632]) [Dahnrich *et al.*, 2013].

Tableau 16 Comparaison des résultats obtenus avec la trousse ELISA à ceux obtenus avec la trousse IIFT chez 198 patients atteints de GEM primaire

ELISA	IIFT (n = 198)		
	POSITIF	CAS LIMITE*	NÉGATIF
positif	188	0	0
cas limite*	2	0	0
négatif	8	0	0

Source : Euroimmun AG, 2016

* Non défini.

³⁴ 68 patients avaient une GEM secondaire, 63 une néphropathie non-membraneuse, 30 un lupus érythémateux disséminé, 30 une sclérose disséminée, 30 de l'arthrite psoriasique, 14 de l'arthrite rhumatoïde et 50 une thyroïdite.

Une autre étude impliquant la compagnie Euroimmun a étudié la corrélation des méthodes ELISA et IIFT avec l'immunobuvardage. Elle comportait 109 patients atteints de GEM primaire, 16 de GEM secondaire et 17 ayant une protéinurie d'ordre néphrotique pour d'autres raisons. En tout, 74 patients étaient séropositifs selon la méthode IIFT et 78 par immunobuvardage et par ELISA en utilisant un seuil de 2 UR/ml. La concordance entre la méthode IIFT et l'immunobuvardage était de 93 % ($\kappa = 0,83$) et elle était de 96 % ($\kappa = 0,91$) lorsque l'ELISA était comparée à l'IIFT et à l'immunobuvardage [Timmermans *et al.*, 2014].

Coefficient de variation de la méthode ELISA (étude indépendante)

Pourcine et ses collaborateurs [2017] ont évalué le coefficient de variation de la trousse ELISA en utilisant trois sérums sélectionnés pour couvrir l'étendue des mesures. Le coefficient intra-essai était basé sur une série de 20 mesures de chacun des sérums et était inférieur à 4 % tandis que le coefficient inter-essai était basé sur dix séries de trois répliques et était inférieur à 9 %. Les mêmes résultats ont été rapportés par Ruggerenti et ses collaborateurs [Ruggerenti *et al.*, 2015].

Corrélation entre la méthode ELISA et la méthode IIFT (études indépendantes)

L'étude de Hill et ses collaborateurs [2016] comportait 21 patients atteints de GEM primaire, 9 patients atteints de GEM secondaire et 10 patients ayant une néphropathie non membraneuse. Les résultats obtenus avec la trousse ELISA (seuil de positivité de 2 UR/ml) étaient identiques à ceux obtenus avec la trousse IIFT (seuil de positivité de 1 : 10) (corrélation de Spearman = 0,9601; $p < 0,001$).

Ong et ses collaborateurs [2016] ont quant à eux mesuré le titre d'anti-PLA₂R chez 61 patients atteints de GEM primaire et 16 patients atteints de GEM secondaire à l'aide des deux mêmes méthodes (IIFT : seuil de positivité de 1 : 10; ELISA : seuil de positivité de 20 UR/ml). Les résultats étaient concordants pour 71 des 74 patients (96 % [IC95 % : 89 à 99]). Parmi les trois patients dont les résultats étaient discordants, un était positif à l'ELISA (32 UR/ml) mais négatif à l'IIFT et deux étaient négatifs à l'ELISA (15 UR/ml et 12 UR/ml) et positifs à l'IIFT. Les auteurs ont souligné leur questionnement par rapport à l'utilisation de la valeur seuil optimale pour l'ELISA. Ils ont mentionné que 58 des 62 cas classifiés négatifs par l'ELISA avaient un titre d'anti-PLA₂R inférieur ou égal à 2 UR/ml alors que quatre patients atteints de GEM primaire avaient des titres d'anti-PLA₂R de 5 UR/ml, 9 UR/ml, 12 UR/ml et 12 UR/ml.

Corrélation entre la méthode ELISA et l'immunobuvardage (étude indépendante)

Kattah et ses collaborateurs [2015] ont mesuré le titre d'anti-PLA₂R chez 26 patients atteints de GEM primaire (174 mesures à différents temps pendant le traitement) à l'aide de la méthode ELISA et de l'immunobuvardage. En utilisant une valeur seuil de 14 UR/ml pour l'ELISA, la concordance entre les résultats obtenus par immunobuvardage et par ELISA était de 92 % (160/174). L'utilisation d'une valeur seuil de 2 UR/ml a permis d'augmenter la concordance à 97,7 % (170/174). Les auteurs ont considéré que l'immunobuvardage était plus sensible et ont donc opté pour cette méthode pour l'analyse de leurs résultats.

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a fourni un plan de vérification des trousseaux qu'il mettra en œuvre en tenant compte des recommandations du comité scientifique suite à l'acceptation de la valeur clinique de l'analyse des anti-PLA₂R circulants.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* des analyses permettant le dosage des anticorps anti-PLA₂R par ELISA et par immunofluorescence indirecte (IIFT). 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 17. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

Analyse des anticorps par ELISA

- L'analyse des anticorps anti-PLA₂R cible les patients ayant une protéinurie significative justifiant la recherche d'une GEM primaire, ceux avec un diagnostic de GEM primaire établi afin de suivre l'évolution de la maladie et ceux avec un diagnostic de GEM primaire recevant un traitement immunosuppresseur afin d'en suivre l'efficacité.
- Chez les patients anti-PLA₂R positifs et selon leur portrait clinique, l'analyse serait réalisée en surveillance pour le suivi des titres d'anticorps environ 2 fois par année. Pour les patients sous thérapie immunosuppressive, elle serait effectuée environ 4 fois par année.
- Une augmentation soutenue du nombre d'analyse envoyée hors Québec a été observée depuis 2013-2014.
- En 2015-2016, 129 analyses ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 134 \$. 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 et considérant l'utilité de ce test pour assurer une prise en charge (thérapeutique ou non) du patient, 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 250, 350 et 500 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années, respectivement.
- Cette analyse représenterait 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 43.

Analyse des anticorps par IIFT

- Suivant l'analyse par ELISA, les résultats atypiques, tels que définis à la section 3.2, feront l'objet d'une analyse par IIFT. Il est estimé que cela

pourrait représenter 3 % des analyses ELISA. La valeur pondérée de l'IIFT est de 71.

Tableau 17 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* des analyses permettant le dosage des anticorps anti-PLA₂R

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout des analyses de dosage des anticorps Anti-PLA₂R au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	200	250	300	750
Coûts	26 800 \$	33 500 \$	40 200 \$	100 500 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout des analyses de dosage des anticorps Anti-PLA₂R au <i>Répertoire</i>				
Analyses par ELISA	250	350	500	1 100
Coûts	10 750 \$	15 050 \$	21 500 \$	47 300 \$
Analyses par IIFT	8	11	15	34
Coûts	568 \$	781 \$	1 065 \$	2 414 \$
Impact net	-15 482 \$	-17 669 \$	17 635 \$	-50 786 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			-60 836 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			-40 665 \$

Ainsi, l'ajout des analyses permettant le dosage des anticorps anti-PLA₂R par ELISA et la confirmation des résultats atypiques par IIFT pourraient générer une réduction de coûts de près de 51 000 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, bien que ces analyses puissent être utiles pour adapter la prise en charge des patients atteints de GEM, il n'existe pas actuellement de données probantes ou d'algorithme clinique permettant un ajustement du suivi thérapeutique en fonction d'un seuil prédéfini d'anti-PLA₂R. Par contre, selon l'opinion d'experts consultés, la variation du titre d'anti-PLA₂R permettra une modification, s'il y a lieu, plus promptement de la prise en charge très individualisée des patients atteints de GEM primaire. Or, il s'avère ardu de démontrer un quelconque bénéfice en termes de coûts lié à un changement concernant soit un traitement de dialyse, une réduction ou une intensification de la thérapie immunosuppressive, un changement d'agent immunosuppresseur ou un sevrage thérapeutique.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Compte tenu de la variabilité de l'issue clinique de la GEM primaire, un marqueur fiable de l'activité immunologique est d'intérêt majeur afin d'éviter les risques de sur- ou de sous-traitement. Le défi consiste à identifier les patients ayant un mauvais pronostic, les traiter adéquatement et évaluer l'efficacité du traitement le plus rapidement possible afin d'adapter la thérapie pour chaque patient et ainsi éviter les effets indésirables et les coûts [Pourcine *et al.*, 2017; Seitz-Polski *et al.*, 2016].

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

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)

La référence principale pour le traitement de la GEM primaire est le document produit par le groupe de travail KDIGO [2012]. Compte tenu du peu de temps qu'il y a eu entre la découverte des anti-PLA₂R et la publication du document, l'analyse des anti-PLA₂R fait partie des recommandations de recherche. En effet, il y est recommandé d'étudier les anti-PLA₂R circulants dans tous les essais cliniques concernant la GEM primaire afin d'évaluer sa valeur à déterminer la rémission spontanée et la réponse au traitement.

Haute Autorité de santé (HAS)

La HAS a publié une actualisation de son protocole national de diagnostic et de soin pour le syndrome néphrotique idiopathique de l'adulte en novembre 2014 [HAS, 2014]. Selon ce guide, la recherche d'anti-PLA₂R circulants est recommandée dans l'évaluation initiale d'une GEM et a une visée diagnostique et pronostique. Il est souligné qu'une recherche de l'antigène sur la biopsie est souhaitable puisqu'elle permet d'améliorer la sensibilité du diagnostic. Il est aussi suggéré d'intégrer l'analyse sérologique des anti-PLA₂R dans la décision thérapeutique au même titre que l'évolution de la fonction rénale et la protéinurie puisque c'est l'évolution du taux d'autoanticorps qui constitue une indication de traitement. Il est proposé de mesurer les anti-PLA₂R :

- après trois et six mois de traitement néphroprotecteur chez les patients ayant une GEM primaire présentant des anti-PLA₂R positifs initialement;
- régulièrement et de façon progressivement espacée au cours des deux premières années de suivi d'une GEM primaire présentant des anti-PLA₂R positifs initialement et ayant nécessité l'instauration d'un traitement immunosuppresseur;
- suite à six mois de traitement immunosuppresseur parce que la cinétique du taux d'autoanticorps peut aider à comprendre l'évolution de la maladie (reflet de l'activité immunologique).

9 INDICATIONS CLINIQUES PROPOSÉES PAR LES EXPERTS EXTERNES CONSULTÉS

Cette section présente un résumé des indications cliniques pour l'analyse des anti-PLA₂R circulants. Elle est principalement basée sur l'information transmise par les experts externes consultés.

Recherche diagnostique

L'analyse des anti-PLA₂R circulants devrait être faite chez les patients ayant :

- une protéinurie supérieure ou égale à 3 g/jour et pour lesquels une biopsie rénale n'a pas nécessairement été effectuée;
- une GEM diagnostiquée par une biopsie rénale afin de discriminer entre la forme primaire et la forme secondaire.

En présence d'une GEM diagnostiquée par biopsie rénale et d'un résultat négatif de l'analyse des anti-PLA₂R, une cause secondaire doit être recherchée. Un marquage des anti-PLA₂R sur le tissu rénal peut aussi être envisagé puisqu'il y a un certain nombre de patients qui ont une GEM primaire associée à PLA₂R mais qui ne présentent pas d'autoanticorps circulants.

Un résultat positif chez les patients pour lesquels la biopsie rénale est contre-indiquée peut permettre d'éviter la procédure. Cependant, un résultat négatif n'exclut pas une GEM primaire ni secondaire.

Suivi des patients

L'analyse devrait être faite d'une à deux fois par année chez les patients ayant une GEM primaire sous observation et qui avaient des anti-PLA₂R circulants lors du diagnostic afin de suivre l'évolution de la maladie.

Chez les patients ayant atteint une rémission suite à un traitement immunosuppresseur, l'analyse devrait être faite en présence d'une protéinurie d'ordre néphrotique pour documenter la rechute.

Suivi des patients recevant un traitement immunosuppresseur

Idéalement, seuls les patients ayant une GEM primaire diagnostiquée par une biopsie rénale et un tableau clinique de progression vers l'insuffisance rénale devraient recevoir un traitement immunosuppresseur. Chez les patients ayant des anti-PLA₂R circulants, l'analyse devrait être faite à tous les trois à six mois afin d'ajuster le traitement puisqu'il est reconnu que les changements immunologiques surviennent avant les changements cliniques.

Patients nécessitant une greffe rénale

L'analyse des anti-PLA₂R circulants devrait être faite :

- au moment de la greffe rénale chez les patients ayant une GEM primaire avec insuffisance rénale terminale;
- en suivi périodique lorsque la protéinurie est supérieure ou égale à 3 g/jour chez les patients ayant reçu une greffe et qui étaient séropositifs au moment de la greffe ou séronégatifs mais dont la GEM primaire précédente était associée à PLA₂R ou de statut inconnu.

10 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Titration des anticorps anti-récepteur de la phospholipase A₂ (anti-PLA₂R)

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 de l'analyse au regard des données publiées et présentées en appui. Afin d'éviter la surutilisation de l'analyse, le laboratoire demandeur doit définir le seuil cliniquement acceptable concernant la protéinurie. Le seuil proposé par les experts consultés par l'INESSS est de 3 grammes par jour.
- ✓ Le plan de vérification proposé est satisfaisant. Toutefois, l'utilisation d'échantillons provenant de patients est privilégiée.

ANNEXE A : Algorithme proposé par De Vriese et ses collaborateurs [2017]

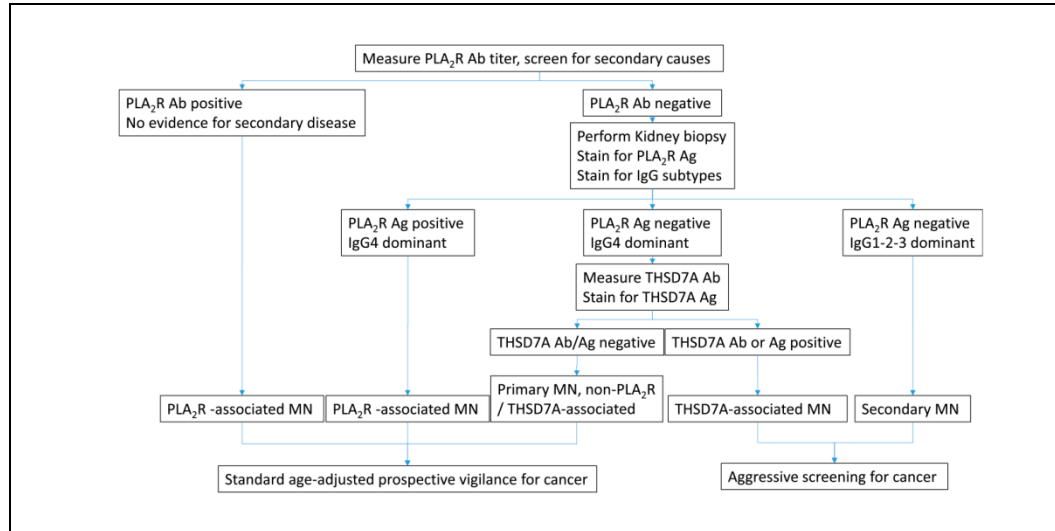


Figure 1 Diagnostic algorithm

Source : De Vriese et al., 2017.

The diagnostic evaluation starts with a quantification of PLA₂R Ab (ELISA; potentially superseded by ALBIA in the near future) and a screening for secondary disease, including antinuclear Abs, viral hepatitis serology, thyroiditis autoimmunity, chest x-ray (or computed tomography in patients at high risk for malignancy), and an evaluation for sarcoidosis in selected patients. The presence of PLA₂R Ab and the absence of evidence for secondary disease confirm the diagnosis of a PLA₂R Ab-associated MN, even without additional pathologic evidence. In patients with negative PLA₂R Ab, staining for the PLA₂R antigen on the biopsy identifies additional patients as PLA₂R-associated MN. When both PLA₂R Ab and antigen are negative, traditional immunopathologic characteristics, as delineated above, along with measurement of THSD7A Ab should be used to categorize MN as either primary or secondary. Patients without clear evidence of secondary disease but with immunopathologic characteristics suggestive of secondary MN may have an occult neoplasm and should be comprehensively screened for cancer. In view of the high prevalence of malignancy in THSD7A-associated MN, these patients should also undergo a thorough evaluation for occult malignancy. This algorithm will likely change with the availability of new information. Recent data [Hoxha et al., 2017] indicate that a substantial proportion of THSD7A-associated MN was IgG4 negative on biopsy, irrespective of whether a malignancy was present, suggesting that all patients who are PLA₂R Ab/antigen negative, independent of the dominant IgG subtype in their renal biopsy, may need to be tested for THSD7A. We recognize that the diagnostic tools in this algorithm, in particular the measurement of THSD7A Ab and the specialized immunopathology studies, may not be widely or routinely available at present.

ANNEXE B : Descriptif des méta-analyses ayant évalué la valeur diagnostique de l'analyse des anti-PLA₂R circulants chez les patients atteints de GEM primaire

MÉTA-ANALYSE (COTE AMSTAR-R*)	BUT ET CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	ÉTUDES INCLUSES, PATIENTS ET MÉTHODES	TYPE D'ANALYSE ET HÉTÉROGÉNÉITÉ
[Dai <i>et al.</i> , 2015] [†] (37/44) Étude retenue pour l'évaluation	But Évaluer la précision diagnostique des analyses sérologiques et histologiques pour différencier la GEM primaire de la GEM secondaire Critères 1) Évaluation des anti-PLA₂R sériques et/ou glomérulaires pour la différenciation entre la GEM primaire et la GEM secondaire; 2) Cas contrôles bien définis; 3) GEM primaire: exclusion de la forme secondaire selon l'histoire du patient et suite à un examen médical, des tests de laboratoire et une biopsie du rein; 4) GEM secondaire : GEM confirmée et présence d'une comorbidité; 5) Information suffisante pour produire une table de contingence 2 X 2.	19 études 1 160 patients Diagnostic : GEM primaire Comparateur : GEM secondaire Sérologie : 4 WB, 7 IIFT, 3 ELISA, 2 n.d. Biopsie : 2 IHC, 4 IIFT	Population entière Anti-PLA₂R sérique (16 études) I^2 : 83,7 % Biopsie (6 études) I^2 : 0,00 % Analyses de sous-groupe Anti-PLA₂R sérique, protéinurie > 3,53 g/j avant thérapie et au moment de la biopsie (5 études) I^2 : 0 % Anti-PLA₂R sérique et type de GEM secondaire (10 études) Anti-PLA₂R sérique et protéinurie (10 études) Anti-PLA₂R sérique et traitement immunosuppresseur (8 études) Anti-PLA₂R sérique et intervalle de temps par rapport à la biopsie (10 études)
[Du <i>et al.</i> , 2014] [‡] (37/44) Étude retenue pour l'évaluation	But Évaluer la valeur diagnostique des anti-PLA₂R sériques dans le contexte de la GEM primaire Critères 1) Évaluation de la précision des anti-PLA₂R à diagnostiquer la GEM primaire; 2) Estimation de la sensibilité et de la spécificité de l'analyse des anti-PLA₂R; 3) Utilisation de la biopsie pour prouver la présence de GEM.	15 études (9 articles) 2 212 patients Diagnostic : GEM primaire Comparateurs : GEM secondaire et personnes saines Sérologie : 9 WB, 4 IIFT, 1 ELISA	Population entière Anti-PLA₂R sérique (15 études) I^2 (sensibilité): 93,65 % I^2 (spécificité): 93,83 % Analyses de sous-groupe Anti-PLA₂R sérique et origine ethnique (15 études) Nombre de sujets (15 études) Type de contrôle (9 études GEM secondaire, 6 études sains) Méthode (15 études) Intervalle de temps entre la biopsie et la prise de sang (15 études) Type de financement (15 études)

ANNEXE C : Précision de l'analyse des anti-PLA₂R circulants à différencier une GEM primaire d'une GEM secondaire

GROUPE	ÉTUDES	SENSIBILITÉ % (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC95 %)	RCD (IC95 %)	ASC-ROC (IC95 %)	I ² %
Toutes les études	16	68 (61 à 74)	97 (85 à 100)	74 (13 à 433)	0,82 (0,78 à 0,85)	84
Patients sélectionnés (protéinurie > 3,5 g/24 h)*	5	78 (71 à 84)	82 (61 à 93)	17 (5 à 57)	0,82 (0,78 à 0,85)	0,00
Méthode [†]						
WB	4	69 (56 à 79)	94 (81 à 98)	33 (10 à 105)	0,90 (0,87 à 0,92)	8
IFFT	7	67 (55 à 77)	99 (27 à 100)	224 (1 à 63 000)	0,79 (0,75 à 0,82)	84
GEM secondaire						
Lupus V	8	70 (59 à 77)	97 (87 à 99)	65 (14 à 298)	0,97 (0,95 à 0,98)	0
Hépatite B	8	74 (69 à 79)	86 (66 à 95)	18 (5 à 61)	0,83 (0,79 à 0,86)	0
Tumeur	6	71 (61 à 80)	81 (51 à 95)	11 (3 à 45)	0,83 (0,79 à 0,86)	0
Niveau de protéinurie						
≥ 3,5 g/24 h	10	77 (72 à 82)	91 (76 à 97)	34 (10 à 124)	0,83 (0,79 à 0,86)	29
< 3,5 g/24	9	32 (23 à 43)	91 (51 à 99)	5 (0 à 62)	0,47 (0,43 à 0,52)	0
Traitement IS avant le test						
Non-traité	7	72 (63 à 80)	89 (62 à 97)	20 (4 à 98)	0,81 (0,78 à 0,84)	39
Traité	7	44 (72 à 98)	93 (72 à 99)	11 (1 à 86)	0,80 (0,76 à 0,83)	0
Intervalle de temps avec biopsie						
< 1 mois	5	73 (66 à 80)	87 (73 à 94)	18 (7 à 47)	0,87 (0,84 à 0,90)	0
≥ 1 mois	9	52 (33 à 70)	95 (67 à 99)	19 (1 à 279)	0,82 (0,78 à 0,85)	0

Source : Dai *et al.*, 2015.

Abréviations : ASC-ROC : aire sous la courbe ROC (*receiver operating characteristic*); IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IFFT : immunofluorescence indirecte (de l'anglais *indirect immunofluorescence test*; IS : immunosuppresseur; RCD : rapport de cotes diagnostique; WB : immunobuvardage (de l'anglais *western blot*).

* Patients ayant une protéinurie supérieure à 3,5 g par jour avant l'initiation du traitement immunosuppresseur et au moment de la biopsie.

[†] Seulement trois études incluses avaient utilisé la méthode par ELISA.

ANNEXE D : Caractéristiques des études présentées dans les sections pronostiques et thérapeutiques

RÉFÉRENCE, TYPE D'ÉTUDE, SUBVENTION	BUT ET CRITÈRES D'INCLUSION	PATIENTS, TRAITEMENT, TEMPS DE SUIVI, MÉTHODE D'ANALYSE DES ANTI-PLA ₂ R
Bech <i>et al.</i> 2014 Type d'étude Observationnelle, suivi prospectif Subvention Publique	But Évaluer si la mesure du taux d'anti-PLA₂R au début et à la fin du traitement IS prédit l'issue à long terme de la maladie. Critères d'inclusion Adultes avec GEMp prouvée par biopsie et possibilité de GEMs écartée; Les patients devaient avoir été traités par IS entre 1997 et 2005.	48 patients GEMp, 55 ans (34 à 75) Traitement CP ou MMF pendant 12 mois en combinaison avec des corticostéroïdes. Temps de suivi Cinq années après la thérapie. Méthode d'analyse ELISA maison
Dahan <i>et al.</i> 2017 Type d'étude Multicentrique, randomisée, contrôlée Subvention Publique et pharmaceutique	But Évaluer l'efficacité de la combinaison du rituximab à un traitement de support en comparaison à un traitement de support seul chez des patients ayant un syndrome néphrotique persistant. Critères d'inclusion dans l'étude Adultes avec GEMp prouvée par biopsie depuis moins de deux ans avant l'inclusion dans l'étude; Protéinurie d'au moins 3,5 g/jour ou ratio protéine urinaire-créatinine supérieur ou égal à 3 500 mg/g et albumine sérique inférieure à 30 g/l pour au moins six mois même en présence d'une dose maximale de NIAT[*]; GEMs exclu.	75 patients, 56 ans (42 à 64) Traitement 39 patients randomisés au groupe NIAT[*] avec Rtx : NIAT[*] et perfusion 375 mg/m² au jour 1 et au jour 8; 38 patients randomisés au groupe NIAT[*] Après six mois, les médecins pouvaient faire de nouvelles perfusion de Rtx ou l'introduire selon le groupe. Temps de suivi Période de l'étude randomisée : 6 mois Période d'observation : maximum 24 mois après la période de randomisation Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (pas d'information sur le seuil de positivité utilisé)
Grupper <i>et al.</i> 2016 Type d'étude Rétrospective, (Mayo Clinic) Subvention Mayo Clinic Rochester	But Évaluer la récurrence de la GEM, sa progression clinique et histologique et la réponse à un traitement anti-CD20. Critères d'inclusion Adultes avec GEMp prouvée par biopsie qui ont reçu une greffe rénale entre 1998 et 2013.	63 patients GEMp, 50,7 ± 12,8 ans Traitement Immunosuppression post-greffe (thymoglobuline ou alemtuzumab puis combinaison de T [ou cyclosporine ou sirolimus], MMF et corticostéroïde). Temps de suivi 77 mois (EIQ : 39 à 113) Méthode d'analyse Immunobuvardage

RÉFÉRENCE, TYPE D'ÉTUDE, SUBVENTION	BUT ET CRITÈRES D'INCLUSION	PATIENTS, TRAITEMENT, TEMPS DE SUIVI, MÉTHODE D'ANALYSE DES ANTI-PLA ₂ R
Gupta <i>et al.</i> 2016 Type d'étude Rétrospective Subvention Pharmaceutiques	But Déterminer si la concentration d'anti-PLA₂R sérique peut prédire la récurrence de la GEMp chez les patients greffés maintenus sur un traitement IS. Critères d'inclusion Patients ayant reçu une greffe rénale entre 2005 et 2014; Diagnostic de GEMp par histologie.	16 patients GEMp, 48 ± 12 ans au moment de la greffe Traitement Immunosuppression post-greffe (antithymocyte globuline puis combinaison de T, MMF et prednisone après trois mois). Temps de suivi 5,8 années (1 à 9 années) Méthode d'analyse Immunobuvardage et ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 14 UR/ml)
Hoxha <i>et al.</i> 2014a Type d'étude Prospective, multicentrique et ouverte Subvention Publique	But Vérifier si le niveau d'anti-PLA₂R peut prédire le développement du syndrome néphrotique et l'issue clinique chez des patients atteints de GEMp recevant un traitement de support (blocage du système rénine-angiotensine). Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp par histologie; Analyse des anti-PLA₂R circulants à l'intérieur de six mois de la biopsie; Protéinurie inférieure à 3,5 g/jour; Aucun traitement IS avant l'inclusion dans l'étude; Pas de GEMs.	33 patients GEMp, 50,1 ± 19,2 ans Traitement Support (blocage du système rénine-angiotensine) Temps de suivi 25,3 ± 8,8 mois Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 20 UR/ml)
Hoxha <i>et al.</i> 2014b Type d'étude Prospective, ouverte, multicentrique Subvention Publique	But Évaluer si le niveau d'anti-PLA₂R peut être un facteur de risque pour la perte de fonction rénale. Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp par histologie; Analyse des anti-PLA₂R circulants positive à l'intérieur de six mois de la biopsie; Aucun traitement IS avant l'inclusion dans l'étude.	118 patients GEMp, 53,1 ± 16,3 ans Traitement Support et IS si nécessaire IS au choix du médecin : aucun (n = 25), CNI (n = 61 [CsA]), ALK (n = 40 [CP]), Rtx (n = 17) Temps de suivi 27 mois (EIQ : 18 à 33) Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 20 UR/ml)

RÉFÉRENCE, TYPE D'ÉTUDE, SUBVENTION	BUT ET CRITÈRES D'INCLUSION	PATIENTS, TRAITEMENT, TEMPS DE SUIVI, MÉTHODE D'ANALYSE DES ANTI-PLA ₂ R
Hoxha <i>et al.</i> 2014c Type d'étude Prospective, ouverte, multicentrique Subvention Publique	But Vérifier si les niveaux d'anti-PLA₂R reflètent l'activité de la GEMp ou l'issue clinique. Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp par histologie; Présence d'anti-PLA₂R circulants; Analyse des anti-PLA₂R à l'intérieur de six mois de la biopsie; Protéinurie d'au moins 3,5 g/jour et albumine sérique d'au plus 30 g/l; Aucun traitement IS avant l'inclusion dans l'étude.	133 patients GEMp, 54,4 ± 15,2 ans Traitement Support et IS si nécessaire IS au choix du médecin : aucun (n = 32), CNI (n = 54 [53 CsA et 1 T]), ALK (n = 35), Rtx (n = 9) Temps de suivi Jusqu'à 24 mois après le recrutement Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 20 UR/ml) IIFT d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 1 : 10)
Kattah <i>et al.</i> 2015 Type d'étude Rétrospective, (Mayo Clinic) Subvention Publique	But Déterminer si la GEMp récidive plus fréquemment chez les patients qui sont séropositifs pour les anti-PLA₂R au moment de la greffe rénale comparativement aux patients séronégatifs Critères d'inclusion Patients ayant eu une greffe rénale suite à une insuffisance rénale terminale; Diagnostic de GEMp entre 2000 et 2010; Biopsie et sérum disponible.	8 patients GEMp sans récidive, 52,5 ± 10,5 ans au moment de la greffe 18 patients GEMp avec récidive, 51,3 ± 11,1 ans au moment de la greffe Traitement Immunosuppression post-greffe (thyomoglobuline ou basiliximab ou daclizumab puis combinaison de T, MMF et stéroïdes) Temps de suivi patients sans récidive : 98 mois (EIQ : 74 à 135) patients avec récidive : 88 mois (EIQ : 64 à 122) Méthode d'analyse Immunobuvardage et ELISA d'Euroimmun AG (seuils de positivité : 14 UR/ml et 2 UR/ml)
Medrano <i>et al.</i> 2015 Type d'étude Rétrospectif Subvention Pas d'information	But Analyse de la valeur prédictive de la dynamique des anti-PLA₂R sur la réponse clinique. Critères d'inclusion Adultes avec GEMp diagnostiquée par biopsie (GEMs exclu); Titre d'anti-PLA₂R au diagnostic supérieur à 20 UR/ml Protéinurie persistante malgré six mois de traitement avec des bloqueurs d'angiotensine 2, statines, des diurétiques et une diète faible en sodium; Taux de filtration glomérulaire estimé supérieur à 60 ml/min/1,73m²; Avoir plus de trois sérums disponibles pendant les douze premiers mois suivants l'initiation du traitement IS.	26 patients GEMp (groupe CP), 51,8 ± 17,3 ans 53 patients GEMp (groupe T-Rtx), 51,1 ± 14,2 ans Traitement CP : Trois cycles de méthylprednisolone chacun suivi d'un traitement d'un mois à la CP (protocole de Ponticelli) T-Rtx : T jusqu'à la rémission ou pour un maximum de 12 mois et Rtx pendant les 3 premiers mois Temps de suivi 12 mois Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 20 UR/ml)

RÉFÉRENCE, TYPE D'ÉTUDE, SUBVENTION	BUT ET CRITÈRES D'INCLUSION	PATIENTS, TRAITEMENT, TEMPS DE SUIVI, MÉTHODE D'ANALYSE DES ANTI-PLA ₂ R
Pourcine <i>et al.</i> 2017. Type d'étude Rétrospective, unicentrique (France) Subvention Publique	But Évaluer l'importance clinique des anti-PLA₂R circulants et de ceux présents sur le tissu rénal ainsi que la prévalence des anti-THSD7A et leur association au cancer Critères d'inclusion Diagnostic histologique de GEM entre 2000 et 2014.	85 patients GEMp, 54,0 ans (EIQ : 40,5 à 65,1) 23 patients GEMs, 55,7 ans (EIQ : 35,6 à 75,9) Traitement Support et IS si nécessaire IS au choix du médecin (GEMp) : aucun (n = 61), ALK (n = 2), Rtx (n = 22) Temps de suivi GEMp : 31,8 mois (EIQ : 18,0 à 56,9) GEMs : 22,0 mois (EIQ : 12,6 à 49,2) Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 14 UR/ml)
Quintana <i>et al.</i> 2015 Type d'étude Observationnelle, unicentrique (Espagne) Subvention Publique	But Caractériser la présence et la concentration des anti-PLA₂R avant et après une greffe rénale dans une cohorte de patients ayant une GEMp afin d'évaluer si les concentrations d'autoanticorps peuvent prédire la récurrence. Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp; GEMs exclu; Greffe rénale de 1994 à 2013.	21 patients GEMp, 47 ± 13,81 ans Traitement Immunosuppression post-greffe (thymoglobuline ou basiliximab ou alefacept ou daclizumab puis combinaison de CNL, acide mycophénolique et stéroïdes). Temps de suivi 141 mois (11 années et 9 mois) Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 20 UR/ml)
Ramachandran <i>et al.</i> 2016 Type d'étude Randomisée, contrôlée, groupes parallèles Subvention Publique	But Comparer l'efficacité et l'innocuité de la combinaison tacrolimus et stéroïdes avec la combinaison de cycle de cyclophosphamide et stéroïdes chez les patients atteints de GEMp Critères d'inclusion Adulte avec diagnostic de GEMp prouvé par biopsie; Syndrome néphrotique¹ persistant malgré un traitement de six mois à base d'inhibiteur de l'enzyme convertissant l'angiotensine et bloqueurs du récepteur de l'angiotensine ou n'importe qui avec thrombose veineuse profonde; GEMs exclu. ¹ syndrome néphrotique : protéinurie supérieure à 4 g/jour ou supérieure ou égale à 2,0 g/jour avec une albumine sérique inférieure à 2,5 g/dl.	35 patients GEMp (groupe T), 38,66 ± 1,91 ans 35 patients GEMp (groupe CP), 40,80 ± 10,64 ans Traitement CP : methylprednisolone pendant trois jours puis trois cycles de prednisolone chacun suivi d'un traitement d'un mois à la CP (protocole de Ponticelli modifié). T : T pendant une année avec prednisolone pendant six mois puis arrêt graduel. Temps de suivi 12 mois Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 20 UR/ml)

RÉFÉRENCE, TYPE D'ÉTUDE, SUBVENTION	BUT ET CRITÈRES D'INCLUSION	PATIENTS, TRAITEMENT, TEMPS DE SUIVI, MÉTHODE D'ANALYSE DES ANTI-PLA ₂ R
Ruggenti <i>et al.</i> 2015 Type d'étude Rétrospective, unicentrique (France) Subvention Publique	But Évaluer la relation entre l'effet du traitement, les anti-PLA₂R circulants et le polymorphisme génétique prédisposant à la production d'anticorps Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp par biopsie; Clairance de la créatinine supérieure à 20 ml/min/1,73 m²; Protéinurie persistante supérieure à 3,5 g/jour malgré au moins six mois de traitement avec des doses complètes d'inhibiteur de l'enzyme convertissant l'angiotensine et traitement conservatif optimisé mais sans stéroïde ou IS; Absence d'antigènes de surface de l'hépatite B circulants.	132 patients GEMp, 55,7 ± 15,4 ans Traitement Rtx : 4 doses hebdomadaires de 375 mg/m², puis une deuxième infusion seulement lorsque plus de cinq cellules B circulantes par mm³ étaient détectés une semaine après la première administration de rituximab Temps de suivi 30,84 mois (6,00 à 145,36). Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 14 UR/ml)
Seitz-Polski <i>et al.</i> 2014 Type d'étude Rétrospective, unicentrique (France) Subvention Publique	But Suivre le titre d'anti-PLA₂R chez 15 patients atteints de GEM ayant reçu une greffe rénale et corréler le titre d'autoanticorps avec l'activité de la maladie. Critères d'inclusion Diagnostic de GEM par biopsie avant la greffe; Avoir eu une greffe rénale entre 1997 et 2012; Avoir eu un suivi d'au moins un an post-greffe.	13 patients GEMp 2 patients GEMs Traitement IS différent selon les patients (combinaison de deux ou trois des agents suivants : CP, MMF, thymoglobuline, basiliximab, everolimus, T) Temps de suivi > 1 an Méthode d'analyse ELISA maison IIFT d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 1 : 10)
Timmermans <i>et al.</i> 2015 Type d'étude Rétrospective, unicentrique (Hollande) Subvention Pas d'information -> Euroimmun AG a fourni la trousse de détection	But Évaluer la valeur pronostique des anti-PLA₂R par rapport à l'issue clinique à long terme de la GEM primaire Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp par biopsie; GEMs exclu; Présence d'anti-PLA₂R circulants ou sur le tissu rénal; Sérum au moment de la biopsie disponible; Aucun traitement IS avant l'inclusion dans l'étude.	73 patients GEMp, 52,4 ± 14,0 ans Traitement Support (blocage du système rénine-angiotensine; n = 59) IS non défini (n = 26) Temps de suivi 2,9 années (IC95 % : 0,8 à 5,0) Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 2 UR/ml)

RÉFÉRENCE, TYPE D'ÉTUDE, SUBVENTION	BUT ET CRITÈRES D'INCLUSION	PATIENTS, TRAITEMENT, TEMPS DE SUIVI, MÉTHODE D'ANALYSE DES ANTI-PLA ₂ R
Timmermans <i>et al.</i> 2014 Type d'étude Rétrospective, unicentrique (Hollande) Subvention Publique -> Un auteur affilié à Euroimmun AG	But Caractériser la détection des anti-PLA ₂ R circulants par l'ELISA d'Euroimmun AG et comparer les résultats avec ceux obtenus par IIFT et immunobuvardage. Critères d'inclusion Diagnostic de GEMp par biopsie; GEMs et protéinurie néphrotique inclus comme contrôles; Sérum au moment de la biopsie disponible.	109 patients GEMp, 53,7 ± 15,7 ans 16 patients GEMs, 49,0 ± 17,6 ans 17 patients avec protéinurie d'ordre néphrotique autre, 50,9 ± 17,3 ans Traitement IS non défini (n = 53) Temps de suivi aucune information Méthode d'analyse ELISA d'Euroimmun AG (seuils de positivité : 20 UR/ml et 2 UR/ml) IIFT d'Euroimmun AG (seuil de positivité : 1 : 10) Immunobuvardage

Abréviations : ALK : agent alkylant; CNI : inhibiteur de calcineurine; CP : cyclophosphamide; CsA : cyclosporine A; EIQ : écart interquartile; ELISA : dosage immuno-enzymatique (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*); IFFT : immunofluorescence indirecte (de l'anglais *indirect immunofluorescence test*); GEMp : glomérulonéphrite extramembraneuse primaire; GEMs : glomérulonéphrite extramembraneuse secondaire; IS : immunosuppresseur; MMF : mycophénolate mofétil; Rtx : rituximab; T : tacrolimus; UR : unité relative

* Inhibiteur de l'enzyme convertissant l'angiotensine et ou bloqueur du récepteur de l'angiotensine 2, diurétiques et statines.

RÉFÉRENCES

- Bech AP, Hofstra JM, Brenchley PE, Wetzels JF. Association of anti-PLA₂R antibodies with outcomes after immunosuppressive therapy in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9(8):1386-92.
- Cattran DC et Brenchley PE. Membranous nephropathy: Integrating basic science into improved clinical management. *Kidney Int* 2017;91(3):566-74.
- Dahan K, Debiec H, Plaisier E, Cachanado M, Rousseau A, Wakselman L, et al. Rituximab for severe membranous nephropathy: A 6-month trial with extended follow-up. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(1):348-58.
- Dahnrich C, Komorowski L, Probst C, Seitz-Polski B, Esnault V, Wetzels JF, et al. Development of a standardized ELISA for the determination of autoantibodies against human M-type phospholipase A2 receptor in primary membranous nephropathy. *Clin Chim Acta* 2013;421:213-8.
- Dai H, Zhang H, He Y. Diagnostic accuracy of PLA₂R autoantibodies and glomerular staining for the differentiation of idiopathic and secondary membranous nephropathy: An updated meta-analysis. *Sci Rep* 2015;5:8803.
- De Vriese AS, Glassock RJ, Nath KA, Sethi S, Fervenza FC. A proposal for a serology-based approach to membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(2):421-30.
- Debiec H, Martin L, Jouanneau C, Dautin G, Mesnard L, Rondeau E, et al. Autoantibodies specific for the phospholipase A2 receptor in recurrent and de novo membranous nephropathy. *Am J Transplant* 2011;11(10):2144-52.
- Du Y, Li J, He F, Lv Y, Liu W, Wu P, et al. The diagnosis accuracy of PLA₂R-AB in the diagnosis of idiopathic membranous nephropathy: A meta-analysis. *PLoS One* 2014;9(8):e104936.
- Euroimmun AG. Anti-Phospholipase A₂ Receptor IIFT (IgG). Lübeck, Allemagne : Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG; 2017. Disponible à : https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Autoimmunity/Nephrology/PLA2R/FA_1254_D_UK_A.pdf.
- Euroimmun AG. Anti-PLA₂R ELISA (IgG). Lübeck, Allemagne : Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG; 2016. Disponible à : https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Autoimmunity/Nephrology/PLA2R/EA_1254_D_UK_A.pdf.
- Grupper A, Cornell LD, Fervenza FC, Beck LH, Lorenz E, Cosio FG. Recurrent membranous nephropathy after kidney transplantation: Treatment and long-term implications. *Transplantation* 2016;100(12):2710-6.
- Gupta G, Fattah H, Ayalon R, Kidd J, Gehr T, Quintana LF, et al. Pre-transplant phospholipase A2 receptor autoantibody concentration is associated with clinically significant recurrence of membranous nephropathy post-kidney transplantation. *Clin Transplant* 2016;30(4):461-9.

- Haute Autorité de Santé (HAS). Protocole national de diagnostic et de soins (PNDs) : syndrome néphrotique idiopathique de l'adulte. Saint-Denis La Plaine, France : HAS; 2014. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2001046/fr/syndrome-nephrotique-idiopathique-de-l-adulte.
- Hill PA, McRae JL, Dwyer KM. PLA2R and membranous nephropathy: A 3 year prospective Australian study. *Nephrology (Carlton)* 2016;21(5):397-403.
- Hofstra JM, Fervenza FC, Wetzels JF. Treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2013;9(8):443-58.
- Hoxha E, Beck LH Jr, Wiech T, Tomas NM, Probst C, Mindorf S, et al. An indirect immunofluorescence method facilitates detection of thrombospondin type 1 domain-containing 7A-specific antibodies in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(2):520-31.
- Hoxha E, Harendza S, Pinnschmidt H, Panzer U, Stahl RA. M-type phospholipase A2 receptor autoantibodies and renal function in patients with primary membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014a;9(11):1883-90.
- Hoxha E, Harendza S, Pinnschmidt H, Panzer U, Stahl RA. PLA2R antibody levels and clinical outcome in patients with membranous nephropathy and non-nephrotic range proteinuria under treatment with inhibitors of the renin-angiotensin system. *PLoS One* 2014b;9(10):e110681.
- Hoxha E, Thiele I, Zahner G, Panzer U, Harendza S, Stahl RA. Phospholipase A2 receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2014c;25(6):1357-66.
- Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A₂-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(8):2526-32.
- Hu SL, Wang D, Gou WJ, Lei QF, Ma TA, Cheng JZ. Diagnostic value of phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy: A systematic review and meta-analysis. *J Nephrol* 2014;27(2):111-6.
- IfQ-Lübeck. Quality assessment service of the Institute for Quality Assurance Lübeck. Lübeck, Allemagne : Institut für Qualitätssicherung Lübeck; 2017. Disponible à : <https://www.euroimmun.de/fileadmin/ringversuchsportal/katalog/en/files/assets/common/downloads/publication.pdf>.
- Jefferson JA et Couser WG. Therapy of membranous nephropathy associated with malignancy and secondary causes. *Semin Nephrol* 2003;23(4):400-5.
- Kanigicherla D, Gummadova J, McKenzie EA, Roberts SA, Harris S, Nikam M, et al. Anti-PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int* 2013;83(5):940-8.

- Kattah A, Ayalon R, Beck LH Jr, Sethi S, Sandor DG, Cosio FG, et al. Anti-phospholipase A₂ receptor antibodies in recurrent membranous nephropathy. *Am J Transplant* 2015;15(5):1349-59.
- Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO). Clinical practice guideline for glomerulonephritis. Chapter 7: Idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int Suppl* 2012;2(2):186-97.
- 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.
- Lai WL, Yeh TH, Chen PM, Chan CK, Chiang WC, Chen YM, et al. Membranous nephropathy: A review on the pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Formos Med Assoc* 2015;114(2):102-11.
- Larsen CP, Cossey LN, Beck LH. THSD7A staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity. *Mod Pathol* 2016;29(4):421-6.
- Mastroianni-Kirsztajn G, Hornig N, Schlumberger W. Autoantibodies in renal diseases – clinical significance and recent developments in serological detection. *Front Immunol* 2015;6:221.
- McGrogan A, Franssen CF, de Vries CS. The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: A systematic review of the literature. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(2):414-30.
- Medrano AS, Escalante EJ, Caceres CC, Pamplona IA, Allende MT, Terrades NR, et al. Prognostic value of the dynamics of M-type phospholipase A2 receptor antibody titers in patients with idiopathic membranous nephropathy treated with two different immunosuppression regimens. *Biomarkers* 2015;20(1):77-83.
- Ong L, Silvestrini R, Chapman J, Fulcher DA, Lin MW. Validation of a phospholipase A2 receptor antibody ELISA in an Australian cohort with membranous glomerulonephritis. *Pathology* 2016;48(3):242-6.
- Pourcine F, Dahan K, Mihout F, Cachanado M, Brocheriou I, Debiec H, Ronco P. Prognostic value of PLA2R autoimmunity detected by measurement of anti-PLA2R antibodies combined with detection of PLA2R antigen in membranous nephropathy: A single-centre study over 14 years. *PLoS One* 2017;12(3):e0173201.
- Quintana LF, Blasco M, Seras M, Perez NS, Lopez-Hoyos M, Villarroel P, et al. Antiphospholipase A2 receptor antibody levels predict the risk of posttransplantation recurrence of membranous nephropathy. *Transplantation* 2015;99(8):1709-14.
- Ramachandran R, Hn HK, Kumar V, Nada R, Yadav AK, Goyal A, et al. Tacrolimus combined with corticosteroids versus Modified Ponticelli regimen in treatment of idiopathic membranous nephropathy: Randomized control trial. *Nephrology (Carlton)* 2016;21(2):139-46.

- Ruggenenti P, Debiec H, Ruggiero B, Chianca A, Pelle T, Gaspari F, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody titer predicts post-rituximab outcome of membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2015;26(10):2545-58.
- Seitz-Polski B, Dolla G, Payre C, Girard CA, Polidori J, Zorzi K, et al. Epitope spreading of autoantibody response to PLA2R associates with poor prognosis in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(5):1517-33.
- Seitz-Polski B, Payre C, Ambrosetti D, Albano L, Cassuto-Viguier E, Berguignat M, et al. Prediction of membranous nephropathy recurrence after transplantation by monitoring of anti-PLA2R1 (M-type phospholipase A2 receptor) autoantibodies: A case series of 15 patients. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29(12):2334-42.
- Svobodova B, Honsova E, Ronco P, Tesar V, Debiec H. Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28(7):1839-44.
- Timmermans SA, Abdul Hamid MA, Cohen Tervaert JW, Damoiseaux JG, van Paassen P. Anti-PLA2R antibodies as a prognostic factor in PLA2R-related membranous nephropathy. *Am J Nephrol* 2015;42(1):70-7.
- Timmermans SA, Damoiseaux JG, Heerings-Rewinkel PT, Ayalon R, Beck LH Jr, Schlumberger W, et al. Evaluation of anti-PLA2R1 as measured by a novel ELISA in patients with idiopathic membranous nephropathy: A cohort study. *Am J Clin Pathol* 2014;142(1):29-34.

DOSAGE DE L'ACTIVITÉ KININOGENASE (RÉFÉRENCE - 2017.01.005)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Hugo Chapdelaine, (Immunologie clinique et allergie, Médecine interne, CHUM);
- D^r Benoît Laramée, (Immunologie clinique et allergie, Médecine interne, Clinique médicale de Repentigny).

2 RÉSUMÉ

Actuellement, les patients souffrant d'angio-œdème héréditaire qui ne dépend pas du C1-Inh ne disposent pas tous d'un diagnostic confirmé par une analyse de laboratoire. Leur diagnostic est plutôt basé sur une présentation clinique compatible avec un angio-œdème bradykinique en plus de l'exclusion des autres types d'angio-œdème héréditaire.

Deux études démontrant que le dosage de l'activité kininogénase permet de mettre en évidence un métabolisme élevé de la bradykinine et de confirmer le diagnostic d'angio-œdème héréditaire non dépendant du C1-Inh ont été retenues.

Ces études indiquent que le dosage de l'activité kininogénase permet de confirmer un diagnostic d'angio-œdème bradykinique. Ces patients présentent une activité kininogénase élevée lors des crises, mais faible en période de rémission.

Les études démontrent également que les patients dont l'angio-œdème est associé à la prise d'œstrogènes ont une activité kininogénase élevée en cours de traitement qui diminue lors de l'interruption de ceux-ci.

Ainsi le dosage de l'activité kininogénase réalisé sur un échantillon prélevé dans les circonstances optimales permet de confirmer un angio-œdème héréditaire non dépendant du C1-Inh lorsque celui-ci est causé par une synthèse augmentée de la bradykinine.

Une étude de validation du dosage de l'activité kininogénase a déterminé que la méthode est linéaire et que sa limite de détection est de 0,99 nmol/min/ml. Les valeurs seuils établies sont de 9,3 nmol/min/ml chez les femmes et de 6,6 nmol/min/ml chez les hommes. Cette étude indique également que le dosage de l'activité kininogénase présentait la performance suivante :

- Sensibilité : femmes : 80,0 %; hommes : 87,0 %;
- Spécificité : femmes : 90,1 %; hommes : 81,2 %;
- Valeur prédictive positive : femmes : 92,3 %; hommes : 81,5 %;
- Valeur prédictive négative : femmes : 75,2 %; hommes : 86,8 %.

Le laboratoire formulant la demande n'a pas fourni de données de validation locales.

Bien que le dosage de l'activité kininogénase fasse l'objet de publications depuis 2012, aucune recommandation de son utilisation par des organismes d'intérêt n'a été repérée.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage de l'activité kininogénase à l'aide de la trousse commerciale : Activité kininogénase^{MC} KininX SAS vise à confirmer un angio-œdème bradykinique.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse, réalisée sur des échantillons de plasma, mesure deux activités :

- L'activité amidase spontanée, aussi appelée activité kininogénase, représente l'activité constitutive du plasma à cliver le kininogène.
- L'activité proenzyme représente les réserves en kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) du plasma ou l'activité du plasma après activation complète du KHPM.

Ces mesures sont réalisées grâce au substrat chromogène Pro-Phe-Arg-*p*-nitroanilide, qui mime le substrat naturel KHPM. Lorsque le substrat est clivé, il libère le *p*-nitroanilide détecté par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 405 nm. Sa libération est suivie à chaque minute pendant 20 minutes. La différence d'absorbance est déterminée entre chaque mesure et la vitesse de l'activité kininogénase est déterminée à partir de la phase exponentielle de la réaction.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les échantillons de plasma prélevés dans les divers établissements de la province sont acheminés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine.

Les analyses seront réalisées à l'intérieur d'un mois. Le délai sera ajusté en fonction du volume et de l'urgence des demandes.

3.4 Société ou concepteur

La trousse est fabriquée par la société KininX (Grenoble, France).

3.5 Homologation

La trousse n'est pas homologuée par Santé Canada ni par la Food and Drug Administration. La trousse est conforme aux exigences 98/79/CE.

3.6 Valeur pondérée : 50,35

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients avec une forte suspicion d'angio-œdème bradykinique dont les résultats sont normaux pour les analyses suivantes :

- Le niveau d'antigène C4;
- Le niveau d'antigène du C1-Inh;
- L'activité du C1-Inh.

4.2 Description de la maladie visée

L'angio-œdème est un gonflement transitoire sous-cutané ou des muqueuses [Bernstein *et al.*, 2017]. C'est un syndrome potentiellement mortel avec plusieurs sous-types, chacun ayant une pathophysiologie distincte [Loverde *et al.*, 2017]. Les différents types d'angio-œdèmes sont présentés à l'annexe A.

Les deux grandes classes d'angio-œdème sont d'origine histaminique et d'origine bradykinique. Les angio-œdèmes histaminiques ou allergiques résultent de la dégranulation des mastocytes et de la libération d'histamine, de leucotriène, de protéases, telles que la tryptase, et de cytokines inflammatoires.

Les angio-œdèmes bradykiniques résultent d'une accumulation de bradykinine. Celle-ci est causée par une augmentation de la synthèse de la bradykinine ou par une diminution de son catabolisme. Lors d'un traumatisme, le facteur XII est activé, il active à son tour la kallicréine qui transforme le KHPM en bradykinine. La bradykinine induit un puissant effet vasodilatateur en se liant au récepteur B2 (de l'anglais *bradykinine receptor 2*). La bradykinine est rapidement dégradée par plusieurs enzymes dont l'aminopeptidase P, la carboxypeptidase N et l'enzyme de conversion de l'angiotensine [Loverde *et al.*, 2017].

Notons que la cascade bradykinique est impliquée dans l'angio-œdème héréditaire (AOH) :

- AOH-1, AOH-2 (dépendants du C1-Inh)
- AOH-nC1-Inh (non dépendant du C1-Inh)

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur prévoit effectuer entre 100 et 200 analyses par année pour le Québec.

4.4 Brève description de la situation actuelle

L'AOH-1 et l'AOH-2 sont diagnostiqués par les analyses de laboratoire permettant de déterminer le niveau et l'activité du C1-Inh en plus de présenter un niveau d'antigène du C4 réduit [Betschel *et al.*, 2014].

L'angio-œdème non dépendant du C1-Inh (AOH-nC1-Inh) ne bénéficie actuellement d'aucun test diagnostique spécifique. Chez 20 % à 25 % de ces patients, une mutation du facteur de coagulation XII permet de confirmer le diagnostic d'angio-œdème alors que chez les autres, aucune cause génétique ne peut être identifiée [Betschel *et al.*, 2014]. Pour ces patients, le diagnostic dépend directement des évidences cliniques et requiert :

- que les patients présentent à la fois les symptômes cliniques;
- qu'un ou plusieurs membres de leur famille soient affectés;
- que soit exclu l'urticaire chronique;
- que les niveaux d'antigène et d'activité du C1-Inh soient normaux;
- qu'il n'y ait pas de mutation du facteur XII [Cicardi *et al.*, 2014].

4.5 Données médico-administratives

Le dosage de l'activité kininogénase n'est pas inscrit au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*). Selon les bases de données du MSSS, l'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec entre 2014-2015 et 2015-2016. Les principales analyses inscrites au *Répertoire* qui permettent de déterminer le type d'angio-œdème dont souffrent les patients sont mentionnées au tableau 1.

Tableau 1 Principales analyses reliées au diagnostic de l'angio-œdème inscrites au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* pour les périodes 2014-2015 et 2015-2016

ANALYSE	CODE	VALEUR PONDÉRÉE (UNITÉS)	ANNÉE	VOLUME	COÛT ANNUEL
Complément C4 (antigène)	20777	4,7	15-16	41 796	196 441
			14-15	40 773	191 635
Complément-Inhibiteur du C1 (antigène)	20961	7,6	15-16	1 166	8 861,6
		7,7	14-15	1 360	10 472
Complément-Inhibiteur du C1 (activité)	20966	38	15-16	713	27 094
		39	14-15	779	30 381
Polymorphismes et mutations pour la maladie de l'angio-œdème (détection dans les gènes <i>APP</i> , <i>ACE</i> , <i>PAI-1</i> , <i>FXII</i>) (TAAN)	25054	239	15-16	9	2 151
	20071	244	14-15	6	1 464
Complément C1q (antigène)	20996	26,0	15-16	186	4 836
			14-15	179	4 654

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permet de mieux guider la pratique médicale spécialisée et, le cas échéant, d'intervenir plus rapidement pour le suivi ou un changement de traitement.

Le demandeur a également fourni des algorithmes qui sont présentés à l'annexe B.

4.7 Assurance qualité

Le demandeur propose de réaliser un contrôle externe avec le centre français de référence en angio-œdème (CHU Grenoble). Il anticipe de réaliser ce contrôle 4 fois la première année et de réévaluer celle-ci par la suite. Bien que le demandeur privilégie une formule selon laquelle le centre reçoit un échantillon à tester, la formule du contrôle de qualité externe reste à déterminer.

De plus, pour chaque plaque utilisée (6 échantillons testés), la trousse prévoit un échantillon de contrôle normal et un échantillon de contrôle positif.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Deux études, évaluant l'efficacité du dosage de l'activité kininogénase à confirmer un angio-œdème bradykinique chez des patients dont l'angio-œdème est indépendant du C1-Inh, ont été retenues [Defendi *et al.*, 2013; Giard *et al.*, 2012]. Une troisième étude traitant de l'activité kininogénase des patients atteints d'angio-œdème non dépendant du C1-Inh a été repérée mais n'a pas été retenue puisqu'elle a été réalisée à partir de données rétrospectives incomplètes [Dessart *et al.*, 2015].

Étude de Giard et ses collaborateurs [2012]

Giard et ses collaborateurs ont réalisé une étude rétrospective visant à démontrer que l'angio-œdème subi par 15 patientes était d'origine bradykinique. Les patientes référées entre 2007 et 2010 avaient une histoire clinique suggérant que les œstrogènes contraceptifs étaient responsables de l'angio-œdème.

Les critères d'inclusion des patientes étaient :

- Une histoire d'angio-œdème avec prise d'œstrogènes et une réponse inadéquate aux antihistaminiques, même à haute dose;
- Des évidences de déficience fonctionnelle du C1-Inh avec une activité résiduelle supérieure à 50 %;
- Des évidences de clivage du C1-Inh en immunobuvardage;
- La correction des deux anomalies trois mois suivant l'arrêt du contraceptif en cause.

L'activité kininogénase plasmatique a été mesurée avant et après l'arrêt des contraceptifs avec le substrat chromogène Pro-Phe-Arg-pNA. De plus, le clivage du C1-Inh et du kininogène de haut poids moléculaire ont été déterminés par immunobuvardage, conformément à ce qui a été mentionné précédemment. L'âge moyen au diagnostic était de 25 ans (de 14 à 37 ans) et le délai moyen entre l'introduction des contraceptifs et le début des symptômes était de 2,6 ans.

Suivant l'arrêt des contraceptifs, l'angio-œdème s'est résolu complètement chez 6 patientes, la fréquence des épisodes a diminué chez 7 autres patientes et 2 n'ont présenté aucune amélioration.

L'activité kininogénase a été testée chez 10 patientes en cours de traitements avec des œstrogènes contraceptifs et chez 11 patientes de 3 à 6 mois après l'arrêt des contraceptifs. Au moment du diagnostic, 90 % des patientes présentaient une activité kininogénase élevée. L'activité kininogénase a été testée chez 8 d'entre elles après l'arrêt des contraceptifs et était de retour dans les valeurs normales pour 7 patientes (87,5 %). Parmi l'ensemble des 11 patientes testées après l'arrêt des contraceptifs, l'activité kininogénase était de retour à la normale chez 10 d'entre elles, et ce, indépendamment de l'arrêt ou de la persistance des symptômes.

Selon les auteurs, ces résultats appuient l'hypothèse que l'angio-œdème induit par les œstrogènes est d'origine bradykinique, selon le dosage de l'activité kininogénase [Giard *et al.*, 2012].

Étude de Defendi et ses collaborateurs [2013]

Defendi et ses collaborateurs ont réalisé une étude visant à déterminer l'efficacité d'un dosage de l'activité kininogénase pour le diagnostic de l'angio-œdème bradykinique. Ils ont analysé les données provenant d'échantillons de plasma de 598 patients souffrant d'angio-œdème bradykinique et de 149 patients atteints d'angio-œdème non bradykinique et de maladies inflammatoires chroniques et les ont comparés à ceux de 303 individus sains. Des échantillons ont été prélevés pendant les épisodes d'angio-œdème et pendant la rémission.

Les résultats démontrent que l'activité kininogénase est significativement plus élevée chez les patients atteints d'angio-œdème bradykinique (AOH-1 et AOH-2, angio-œdème acquis (AOA) et AOH-nC1-Inh avec ou sans mutation du gène *F12*) comparativement aux individus sains (tableau 2). Le moment du prélèvement (phase aiguë ou rémission) n'avait pas d'impact sur l'activité kininogénase des patients atteints d'AOH-1, d'AOH-2 et d'AOA.

Les deux activités enzymatiques ont également été testées chez des patients atteints d'angio-œdème non-bradykinique et de maladies inflammatoires chroniques (MIC).

L'activité kininogénase et l'activité proenzyme des patients atteints d'AO-IgE étaient comparables à celles du groupe contrôle ($p \geq 0,05$). Chez les patients atteints d'angio-œdème histaminique idiopathique (AO-HI), l'activité kininogénase était supérieure à celle du groupe contrôle ($p < 0,01$), mais l'activité proenzyme était préservée ($p \geq 0,05$).

Les patients atteints de MIC présentaient une activité kininogénase comparable à celle des patients du groupe contrôle ($p \geq 0,05$) toutefois leur activité proenzyme était significativement réduite comparativement au groupe contrôle ($p < 0,001$).

Tableau 2 Activités kininogénase et proenzyme des patients souffrants d'angio-œdème

POPULATION (n)	ACTIVITÉ ENZYMATIQUE MOYENNE ± ÉCART-TYPE (nmol/min/ml)	
	ACTIVITÉ KININOGENASE (VALEUR p)*	ACTIVITÉ PROENZYME (VALEUR p)*
Groupe contrôle		
Individus sains (303)	4,2 ± 0,2 (référence)	2 548,0 ± 32,1 (référence)
Angio-œdème bradykinique		
AOH-1, AOH-2 (250)	110,6 ± 7,2 (< 0,001)	1 967,0 ± 58,6 (< 0,001)
AOA (20)	168,1 ± 21,9 (< 0,001)	1 216,0 ± 269,4 (< 0,001)
AOH nC1-Inh		
<i>F12</i> muté (60)	63,1 ± 13,9 (< 0,001)	2 559,0 ± 143,3 (NS)
<i>F12</i> non muté (268)	32,4 ± 3,7 (< 0,001)	2 814,0 ± 56,6 (NS)
Déf. du catabolisme (229)	ND; exclus	ND; exclus
Autres conditions		
AO-IgE (64)	4,5 ± 0,3 (NS)	2 738,0 ± 87,8 (NS)
AO-HI (62)	6,9 ± 0,7 (< 0,01)	2 951,0 ± 79,4 (NS)
MIC (23)	3,6 ± 0,6 (NS)	1 885,0 ± 88,1 (< 0,001)

Abréviations : AOA : angio-œdème acquis; AO-HI : angio-œdème histaminique idiopathique; AO-IgE : angio-œdème histaminique allergique; AOH : angio-œdème héréditaire; MIC : maladies inflammatoires chroniques; nC1-Inh : non dépendant du C1 inhibiteur; ND : non déterminé; NS : non significatif.

* Différence statistique avec le groupe contrôle

Afin d'évaluer la performance de l'analyse dans différents scénarios, les deux activités ont été testées chez 44 patients atteints d'AOH-nC1-Inh moins de 24 heures suivant le début des symptômes d'angio-œdème et après plus de 48 heures suivant leur disparition. L'activité kininogénase (en nmol/min/ml) était significativement augmentée lorsque les échantillons étaient prélevés pendant les crises comparativement à la prise d'échantillons lors de la rémission (112,5 ± 16,6 contre 6,3 ± 0,6; $p < 0,0001$). De plus, pendant les crises d'angio-œdème, l'activité kininogénase élevée était associée à une baisse significative de l'activité proenzyme comparativement à celle observée pendant la rémission (1520,0 ± 133,1 contre 2825,0 ± 95,4; $p < 0,0001$).

Parmi les patients atteints d'AOH-nC1-Inh, 64 patientes avaient rapporté une aggravation des symptômes pendant la prise d'œstrogènes (57 patientes) ou lors d'une grossesse (7 patientes). Les auteurs ont voulu vérifier l'impact des œstrogènes sur l'activité kininogénase en situation normale et d'angio-œdème. Parmi les femmes du groupe contrôle avec et sans prise d'œstrogènes, aucune différence d'activité enzymatique n'a été constatée ($p = 0,3$). À l'inverse, parmi les femmes atteintes d'AOH-nC1-Inh avec prise d'œstrogènes ou enceintes, l'activité kininogénase était significativement plus élevée, comparativement au groupe contrôle avec prise d'œstrogènes (respectivement 52,3 ± 8,2 et 108,0 ± 20,2 contre 3,4 ± 0,3 ; $p < 0,0001$).

pour les 2 groupes). Les auteurs mentionnent que le déclenchement de l'angio-œdème engendré par les œstrogènes est associé à une augmentation de l'activité kininogénase.

Selon les auteurs, l'activité kininogénase élevée est fortement associée à la phase d'activation chez les patients atteints d'AOH-nC1-Inh et indépendante des épisodes d'angio-œdème chez les patients atteints d'AOH-1 et 2. De plus, dans l'AOH-1 et 2 ainsi que dans l'AOA, l'activité proenzyme était fortement réduite, ce qui se distingue de l'AOH-nC1-Inh dont l'activité proenzyme est normale. Ils mentionnent qu'en respectant le moment optimal de prélèvement pendant les épisodes d'angio-œdème, cet essai peut être recommandé pour le diagnostic dans la pratique clinique [Defendi *et al.*, 2013].

En conclusion, les auteurs soutiennent que cette étude démontre que le diagnostic de l'angio-œdème héréditaire indépendant du C1-Inh est possible. Combiné au génotypage du gène du facteur XII, l'essai kininogénase sera utile au diagnostic des patients présentant un angio-œdème ambigu récurrent [Defendi *et al.*, 2013].

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 trousse de dosage de l'activité kininogénase ne fournit aucune donnée de validation, celle-ci réfère à l'étude décrite par Defendi et ses collaborateurs [2013].

Étude réalisée par Defendi et ses collaborateurs [2013]

Les coefficients de variation établis lors d'essais de reproductibilité, de répétabilité et de précision du dosage de l'activité kininogénase sont présentés au tableau 3.

Pour établir la reproductibilité du dosage, trois lots distincts de l'échantillon de plasma du contrôle interne ont été testés sur des journées différentes, par différents analystes.

La répétabilité de la méthode a été déterminée en testant trois échantillons de référence positifs et deux négatifs à 5 reprises sur la même journée par le même utilisateur.

La précision de la méthode a été établie en testant deux échantillons de référence positifs et deux négatifs à 5 reprises lors de 5 essais distincts.

Tableau 3 Paramètres de performance analytique du dosage de l'activité kininogénase

PARAMÈTRE	ÉCHANTILLON	ACTIVITÉ KININOGENASE MÉDIANE (NMOL/MIN/ML)	COEFFICIENT DE VARIATION (%)
Reproductibilité (contrôle interne)	1 ^{er} lot	9,0	27,9
	2 ^e lot	7,2	26,7
	3 ^e lot	9,3	27,9
Répétabilité	Positif	13,9	16,5
	Positif	10,4	2,6
	Positif	9,8	15,9
	Négatif	6,3	3,5
	Négatif	6,2	4,7
Précision	Positif	Nd	23,56
	Positif	Nd	24,42
	Négatif	Nd	28,43
	Négatif	Nd	23,80

La limite de détection a été établie à 0,99 nmol/min/ml.

La linéarité de la méthode a été déterminée en diluant une solution standard de kallicréine. Celle-ci a présenté une équation linéaire avec un coefficient de corrélation de 0,9960.

L'analyse de la courbe ROC (de l'anglais *Receiver Operating Characteristics*) a permis d'établir des valeurs seuils pour le diagnostic de l'angio-œdème bradykinique à :

- 9,3 nmol/min/ml chez les femmes (aire sous la courbe ROC : 92,1 %);
- 6,6 nmol/min/ml chez les hommes (aire sous la courbe ROC : 91,0 %).

La performance du dosage de l'activité kininogénase à ces valeurs seuils est présentée au tableau 4 [Defendi *et al.*, 2013].

Tableau 4 Performance du dosage de l'activité kininogénase pour le diagnostic de l'angio-œdème bradykinique

PATIENTS	SENSIBILITÉ % (IC95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC95 %)	VPP %	VPN %
Femmes	80,0 (75,9 à 83,6)	90,1 (85,9 à 93,1)	92,3	75,2
Hommes	87,0 (81,4 à 91,0)	81,2 (75,2 à 86,0)	81,5	86,8

Abréviations : VPN : valeur prédictive négative; VPP : valeur prédictive positive.

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur n'a pas fourni de données de validation locale.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage de l'activité kininogénase. 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 patients avec une forte suspicion d'angio-œdème bradykinique dont les résultats sont normaux pour les analyses suivantes : le niveau d'antigène C4, le niveau d'antigène du C1-inh et l'activité du C1-Inh.
- Ainsi, il est estimé que 100, 125 et 150 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.
- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec en 2015-2016.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 50,35.

Tableau 5 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage de l'activité kininogénase

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses	100	125	150	375
Impact net	5 035 \$	6 294 \$	7 553 \$	18 882 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			15 105 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			22 658 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage de l'activité kininogénase pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 19 000 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

L'American College of Allergy, Asthma & Immunology et la Society for Academic Emergency Medicine ont endossé un consensus de lignes directrices visant à uniformiser l'approche et la prise en charge des patients souffrant d'angio-œdème dans les départements d'urgence [Moellman *et al.*, 2014]. Le consensus a été réalisé par la collaboration de médecins d'urgence, d'allergologues avec une expertise en angio-œdème et l'opinion d'experts.

Selon eux, il est d'une importance capitale de différencier l'angio-œdème histaminique de l'angio-œdème bradykinique compte tenu des nouvelles thérapies disponibles pour traiter l'angio-œdème bradykinique.

Ceux-ci sont d'avis qu'une avenue méritant d'être étudiée est le développement d'une analyse de laboratoire ou à réaliser au chevet du patient permettant de rapidement différencier l'angio-œdème bradykinique des autres formes d'angio-œdème [Moellman *et al.*, 2014].

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

Les plus récentes lignes directrices canadiennes ont été publiées en 2014 [Betschel *et al.*, 2014]. Il n'y a aucune mention d'un dosage de l'activité kininogénase dans le diagnostic de l'angio-œdème.

Aucun organisme ne recommande le dosage de l'activité kininogénase pour le diagnostic de l'angio-œdème héréditaire non dépendant du C1-inh.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage de l'activité kininogénase

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 données probantes ont été jugées insuffisantes pour recommander l'introduction de l'analyse.
- ✓ Les données de validation locale sont absentes.

ANNEXE A : Description des types d'angio-oedèmes et traitements associés

ANGIO- CÈDEME	DESCRIPTION	RÉSULTATS ANORMAUX	TRAITEMENTS*
AOH de type 1 [†]	Début des symptômes < 20 ans Maladie autosomique dominante dont 75 % ont une histoire familiale et	↘ C4, ↘ C1-Inh Ag, ↘ C1-Inh fct., Gène <i>SERPING1</i>[‡]	C1-Inh de remplacement, antagoniste du récepteur de la bradykinine. Acide tranexamique et androgènes sont des avenues thérapeutiques en prophylaxie.
AOH de type 2 [†]	25 % sont issus d'une mutation <i>de novo</i>	↘ C4, ↘ C1-Inh fct., Gène <i>SERPING1</i>[‡]	
AOH-nC1-Inh	Plus commun chez les femmes Hormono-dépendant	Gène <i>F12</i> dans 25 % des cas [‡] . Les autres cas sont d'étiologie incertaine.	C1-Inh de remplacement, antagoniste du récepteur de la bradykinine en utilisation hors indication. De plus, acide tranexamique, progestatif et androgènes sont des avenues thérapeutiques en prophylaxie. En plus, cesser les traitements d'œstrogène.
Angio-œdème acquis	Début des symptômes > 40 ans Maladie sous-jacente fréquente (MGUS, désordre clonal des cellules B, désordre auto-immunitaire).	↘ C4, ↘ C1-Inh Ag, ↘ C1-Inh fct., ↘ C1q MGUS ou anti- C1-Inh	Agents antifibrinolytiques ± traitement de la cause sous- jacente. C1-Inh de remplacement, antagoniste du récepteur de la bradykinine en utilisation hors indication.
Angio-œdème médicamenteux	Causé par la prise d'iECA, d'inhibiteur de la dipeptidyl peptidase IV ou autres médicaments	-	Cesser la médication en cause. C1-Inh de remplacement et antagoniste du récepteur de la bradykinine ont été utilisés dans des cas récalcitrants
Angio-œdème allergique ou histaminique	Peut survenir à tout âge, associé à de l'urticaire.	Allergie : aliment, latex, médicament.	Corticostéroïdes, antihistaminiques et épinéphrine sont très efficaces.
Angio-œdème idiopathique	Diagnostiqué après l'exclusion des autres types; certains sont d'ordres histaminique, d'autres pas; absence d'allergie, d'AOH et de médication	-	Corticostéroïdes, antihistaminiques peuvent être efficaces. C1-Inh de remplacement et antagoniste du récepteur de la bradykinine ont été utilisés de manière anecdotique.

Source : Tableau inspiré de LoVerde *et al.*, 2017.

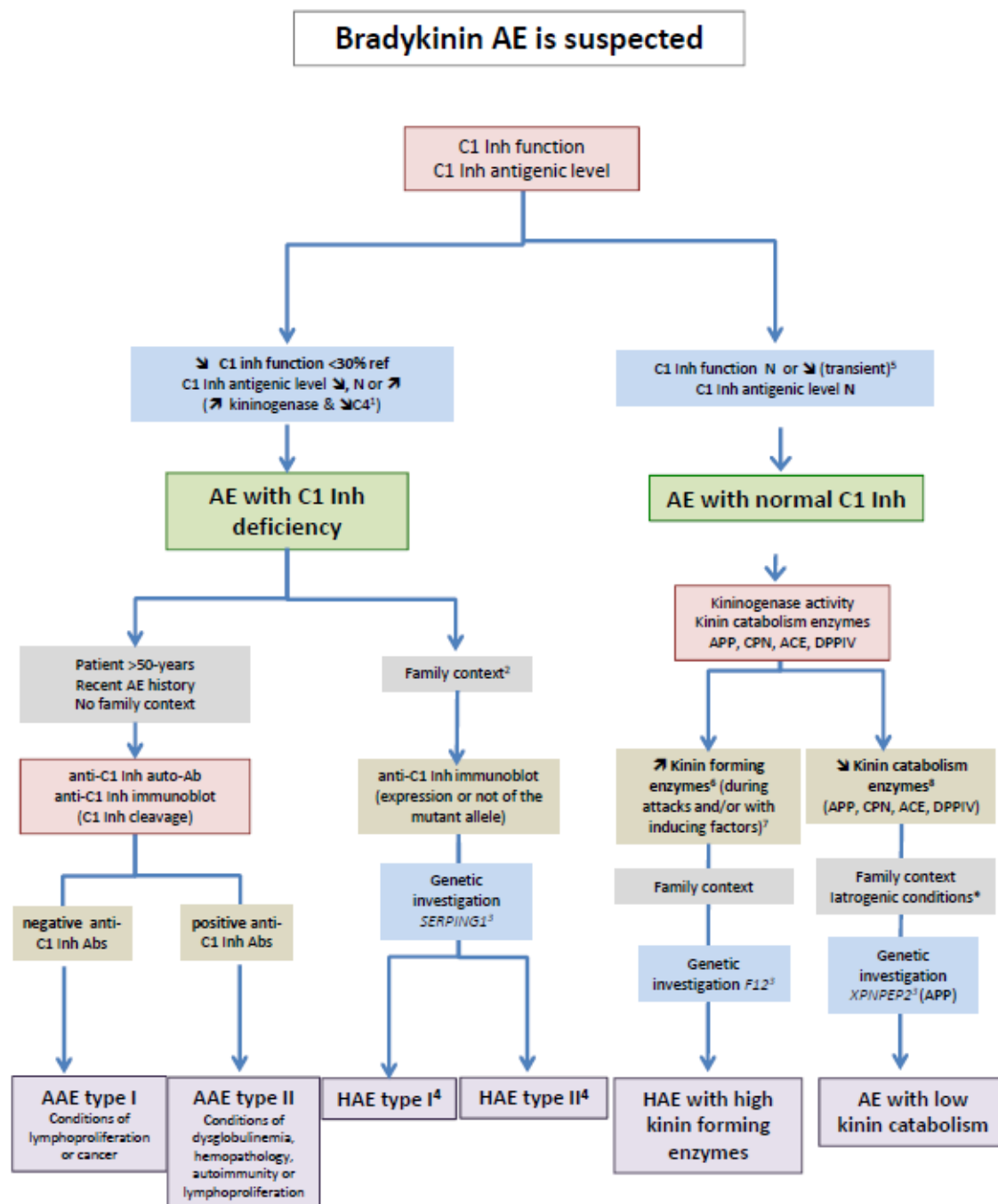
AOH : angio-œdème héréditaire; AOH-nC1-Inh : AOH dont le C1-Inh est normal; C1-Inh Ag : niveau d'antigène C1-Inh; C1-Inh fct. : Niveau d'activité du C1-Inh; *F12* : gène codant pour le facteur de coagulation XII; iECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine; MGUS : gammopathie monoclonale d'implication indéterminée; *SERPING1* : gène codant pour le C1-Inhibiteur.

* Aucun inhibiteur de la kallikréine n'est approuvé au Canada alors ce traitement a été retiré du tableau.

[†] L'AOH de type 1 est caractérisé par une baisse du niveau de l'antigène C1-Inh alors que l'AOH de type 2 est caractérisé par une baisse de l'activité du C1-Inh.

[‡] Les gènes mentionnés présentent une mutation identifiable.

ANNEXE B : Algorithmes pour le diagnostic de l'angio-œdème bradykinique



* Œstro-progestative, ACEi, Sartan, Gliptin, 5α-reductase inhibitor

¹ Inconstantly

² neo-mutation in 23% of cases

³ Family investigation of symptomatic individuals and asymptomatic as well (late diagnostic)

⁴ Severity risk is associated with a low kinin catabolism

⁵ In the context of a precipitating condition

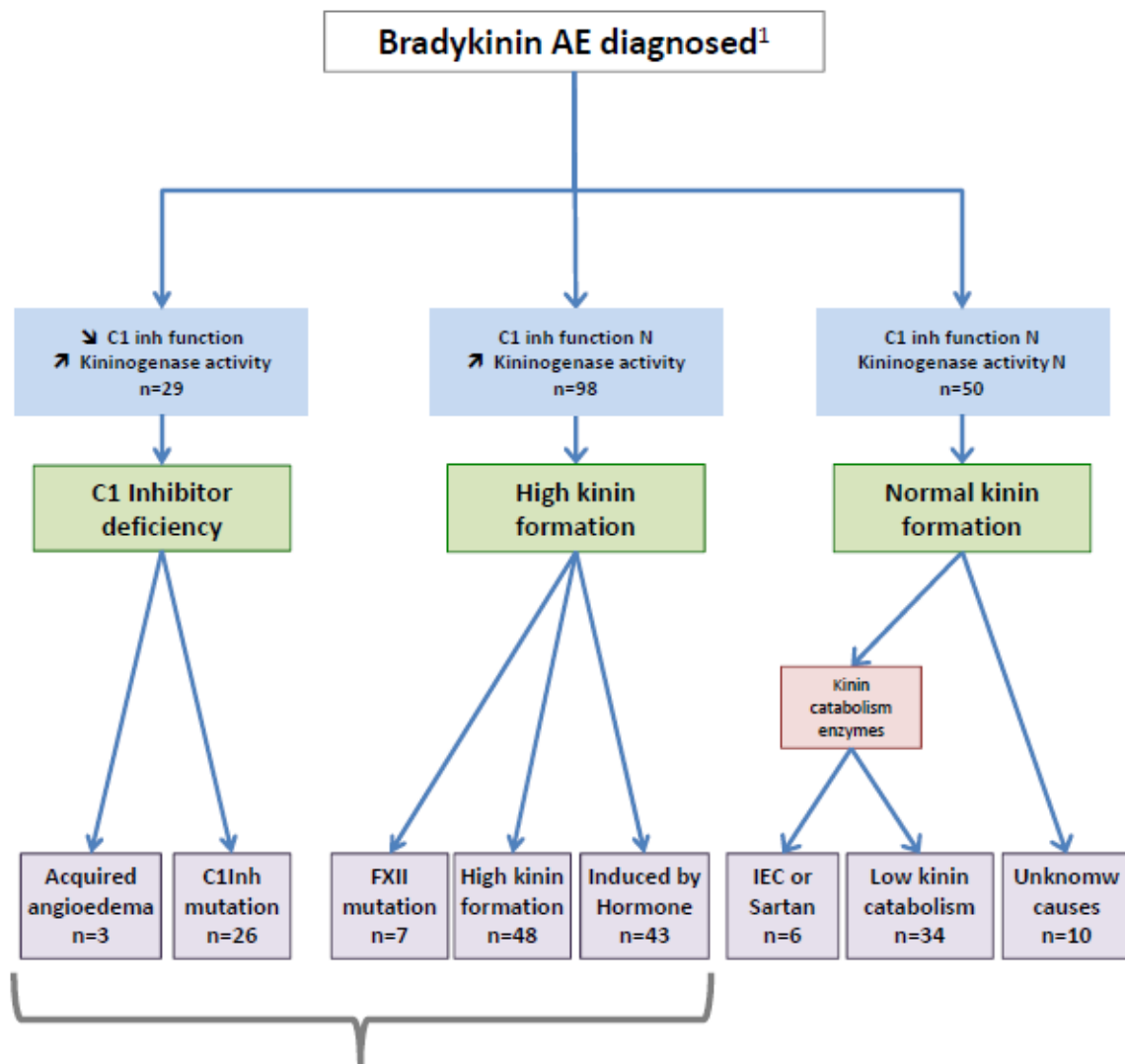
⁶ Repeat investigation to establish control returning to normal out of the active disease

⁷ This assay is not modified when taking antifibrinolytic (remove >10 days prior to sampling)

⁸ When iatrogenic deficiency, control returning to normal after withdrawal of the inducing drug

References:

BL Zursaw et al., J Allergy Clin Immunol 2013; F Defendi et al PLoSOne 2013; F Defendi et al., Rev fr Laboratoires 2012; D Lang et al. Ann Allergy Asthma Immunol 2012; C Drouet et al., J Allergy Clin Immunol 2008; S Cichon et al., Am J Hum Genet 2006; QJ Duan et al., Am J Hum Genet 2005; A Adam et al., Lancet 2002; Dessart et al., Dermatology 2015.



C1 inhibitor function and
Kininogenase activity are helpful
for 72 % of bradykinin AE patients

¹Dessart et al. Dermatology 2015

RÉFÉRENCES

- Bernstein JA, Cremonesi P, Hoffmann TK, Hollingsworth J. Angioedema in the emergency department: A practical guide to differential diagnosis and management. *Int J Emerg Med* 2017;10(1):15.
- Betschel S, Badiou J, Binkley K, Hébert J, Kanani A, Keith P, et al. Canadian hereditary angioedema guideline. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2014;10(1):50.
- Cicardi M, Aberer W, Banerji A, Bas M, Bernstein JA, Bork K, et al. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: Consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy* 2014;69(5):602-16.
- Defendi F, Charignon D, Ghannam A, Baroso R, Csopaki F, Allegret-Cadet M, et al. Enzymatic assays for the diagnosis of bradykinin-dependent angioedema. *PLoS One* 2013;8(8):e70140.
- Dessart P, Defendi F, Humeau H, Nicolie B, Sarre ME, Charignon D, et al. Distinct conditions support a novel classification for bradykinin-mediated angio-oedema. *Dermatology* 2015;230(4):324-31.
- Giard C, Nicolie B, Drouet M, Lefebvre-Lacoeuille C, Le Sellin J, Bonneau JC, et al. Angio-oedema induced by oestrogen contraceptives is mediated by bradykinin and is frequently associated with urticaria. *Dermatology* 2012;225(1):62-9.
- LoVerde D, Files DC, Krishnaswamy G. Angioedema. *Crit Care Med* 2017;45(4):725-35.
- Moellman JJ, Bernstein JA, Lindsell C, Banerji A, Busse PJ, Camargo CA Jr, et al. A consensus parameter for the evaluation and management of angioedema in the emergency department. *Acad Emerg Med* 2014;21(4):469-84.

DOSAGE QUANTITATIF DU FACTEUR I (RÉFÉRENCE - 2017.01.006)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Paul Isenring (Néphrologue, CHU de Québec);
- D^r Marc Lalancette (Hématologue et oncologue, CHU de Québec).

2 RÉSUMÉ

Le syndrome hémolytique urémique atypique (SHUa) et la glomérulonéphrite à dépôts de C3 (GNC3) sont deux maladies rares associées à un dérèglement de la voie alterne du complément menant à une susceptibilité accrue aux infections bactériennes récurrentes et à des dommages tissulaires touchant principalement le rein. Le facteur I contribue à contrôler l'activation de la voie alterne du complément. Son dosage par ELISA a pour objectif d'identifier une anomalie d'activation de la voie alterne du complément liée à un déficit quantitatif de ce facteur afin de préciser le diagnostic et le pronostic de SHUa ou de GNC3.

Valeur diagnostique

Un déficit quantitatif ou fonctionnel complet en facteur I est associé à des infections bactériennes récurrentes ainsi qu'à des mutations principalement hétérozygotes du gène du facteur I (*FI*) et une réduction secondaire de la concentration en C3. Un déficit partiel en facteur I associé à des mutations hétérozygotes combinées des gènes *FI* et *MCP* permettrait de considérer la possibilité d'une transplantation rénale en première ligne chez les patients atteints de SHUa. Les résultats de l'étude retenue portant sur la GNC3 montre une réduction de la concentration en C3 associée à la présence de mutations du gène *FI* sans toutefois se traduire par une diminution de la concentration en facteur I.

Valeur pronostique et thérapeutique

La présence de mutations du gène *FI*, se traduisant parfois par une diminution de la concentration plasmatique en facteur I, est associée à une issue clinique défavorable à la suite du premier épisode de SHUa quant aux risques de développer une insuffisance rénale terminale et de récurrence de la maladie. La réponse au traitement peut également être compromise.

Validité analytique

Aucunes données locales de validation de la trousse n'ont été transmises par le centre demandeur. Les données fournies par le fabricant de la trousse indiquent un coefficient de variation intra- et inter-essai de 4,8 % et 9,2 %, respectivement. La limite de détection se situe à 0,25 µg/ml. À une dilution 1 : 20 des échantillons, on obtient 98 % de la concentration plasmatique attendue.

Impact budgétaire

L'ajout de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 33 000 \$ pour le total des trois premières années.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

Il est recommandé par un groupe d'experts du Royaume-Uni de mesurer la concentration en facteur I chez tous les patients dont la présentation clinique suggère un diagnostic de SHUa. Suite à la conférence KDIGO de 2015, un groupe d'experts recommande l'analyse des protéines du complément (incluant le facteur I) et de leurs fragments dérivés en plus de l'analyse génétique chez les patients atteints de SHUa et de GNC3.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectifs de l'analyse

L'analyse proposée consiste à effectuer le dosage du facteur I par la méthode immuno-enzymatique ELISA (de l'anglais, *enzyme-linked immunosorbent assay*). Cette analyse s'inscrit dans une série de tests visant à identifier la cause d'un déficit acquis de régulation de l'activation du complément à l'origine d'un syndrome hémolytique urémique atypique (SHUa). Les objectifs de cette analyse sont :

- identifier une anomalie d'activation de la voie alterne du complément liée à un déficit quantitatif en facteur I;
- préciser ou confirmer le diagnostic de SHUa ou de glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3 (GNC3);
- préciser le pronostic de la maladie diagnostiquée.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse consiste à déterminer la concentration du facteur I par ELISA compétitif au moyen de la trousse Human Complement Factor I ELISA kit^{MC} de la compagnie Abcam (#AB195460).

Les échantillons dilués, selon les instructions du manufacturier de la trousse ainsi que les standards, sont ajoutés à une plaque à 96 puits contenant un anticorps de capture spécifique du facteur I. Par la suite, une quantité fixe de facteur I biotinylé est ajoutée à chaque puits. Le facteur I biotinylé et le facteur I non-biotinylé provenant du sérum du patient sont en compétition pour la liaison à l'anticorps de capture. Après une étape de lavage pour enlever le facteur I non lié, un conjugué streptavidine-peroxydase est ajouté. La streptavidine se lie exclusivement aux molécules de facteur I biotinylées. Après une seconde étape de lavage, le substrat chromogène tétraméthylbenzidine (TMB) est ajouté afin d'initier une réaction colorimétrique avec la peroxydase. Après l'ajout d'une solution d'arrêt, l'absorbance à 450 nm est mesurée par spectrophotométrie puis la concentration en facteur I est calculée au moyen de la courbe de calibration (0,375 µg/ml à 24 µg/ml). L'intensité de la coloration produite est inversement proportionnelle à la concentration de facteur I non biotinylé provenant de l'échantillon à analyser [Abcam, 2015].

3.3 Modalité d'administration du test, selon le demandeur

Les prélèvements sanguins sur citrate de sodium³⁵ effectués dans un établissement du réseau ou hors Québec seront acheminés puis analysés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine. Selon le demandeur, le temps de réponse de cette analyse est inférieur à un mois.

Un résultat de dosage du facteur I anormalement bas est indicatif d'un déficit quantitatif. Par contre, un résultat normal peut indiquer un déficit fonctionnel du facteur I. Le séquençage³⁶ du gène du facteur I peut alors être réalisé afin d'obtenir des

³⁵ Selon le demandeur, l'anticoagulant à utiliser est le citrate de sodium 3,2 % (0,109 M) standardisé afin d'obtenir un ratio citrate de sodium : sang total de 1 : 9. Ce ratio doit être respecté en tout temps. Source : Procédure opératoire normalisée PON-COAG-0085v2 (en vigueur le 2 mai 2017).

³⁶ Le séquençage du gène du facteur I devrait être fait en parallèle afin d'obtenir des informations supplémentaires et pour identifier un déficit fonctionnel du facteur I. Il est important de procéder au dosage du facteur I même si le séquençage est demandé car une

informations supplémentaires. Le séquençage n'est toutefois pas réalisé en première ligne en raison du temps de réponse trop long (envoi hors Québec)³⁷.

3.4 Société ou concepteur

Abcam

3.5 Homologation

La trousse proposée n'est pas homologuée par Santé Canada

3.6 Valeur pondérée : 223,12

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients pédiatriques et adultes :

- atteints de syndrome hémolytique urémique (SHUa), de glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3 (GNC3) ou de microangiopathies thrombotiques (MAT) avec suspicion d'implication du complément (excluant un diagnostic de purpura thrombocytopénique thrombotique (PTT) documentés par une diminution de l'activité fonctionnelle de l'ADAMTS-13);
- souffrant d'insuffisance rénale d'étiologie inconnue avec antécédents familiaux ou personnels de MAT et pour lesquels une transplantation rénale est envisagée.

4.2 Description des maladies visées

Syndrome hémolytique urémique atypique

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

Le SHUa dit primaire est associé à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément (figure 1) menant à un état procoagulant avec formation de microthrombi dans la vascularisation rénale incluant les capillaires glomérulaires et les artéioles [Soudabeh *et al.*, 2014; Loirat et Fremeaux-Bacchi, 2011]. La moitié des cas de SHUa sont expliqués par la présence de mutations dans les gènes régulateurs du complément, notamment le facteur H, le facteur I et le MCP (de l'anglais, *membrane cofactor protein*) [Soudabeh *et al.*, 2014]. Par ailleurs, chez plusieurs patients présentant une prédisposition génétique, une condition initiatrice est requise afin que

mutation n'est pas toujours identifiée même si la protéine est défectueuse (mutation dans le promoteur ou dans un intron par exemple). Communication écrite du Dr Paul Isenring (11 juin 2017).

³⁷ Communication écrite de M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, laboratoire d'hémostase, CHU Sainte-Justine (5 mai 2017).

le SHUa se manifeste (SHUa secondaire) comme une transplantation, une grossesse, une condition auto-immune, une infection, certains médicaments ou une condition métabolique [Kavanagh *et al.*, 2013; Caprioli *et al.*, 2006]. Chez la majorité des patients, une maladie rénale terminale se développe dans les deux ans suivant la présentation [Goodship *et al.*, 2017].

Le facteur I est une protéase plasmatique qui clive et inactive le fragment C3b (iC3b) en présence de cofacteurs, contrôlant ainsi l'activation de la voie alterne de la surface des cellules de l'hôte [Soudabeh *et al.*, 2014]. Les mutations du gène du facteur I causent une anomalie de sécrétion de la protéine ou perturbent son activité et, conséquemment, entraînent une altération du clivage des fragments C3b/C4b [Soudabeh *et al.*, 2014].

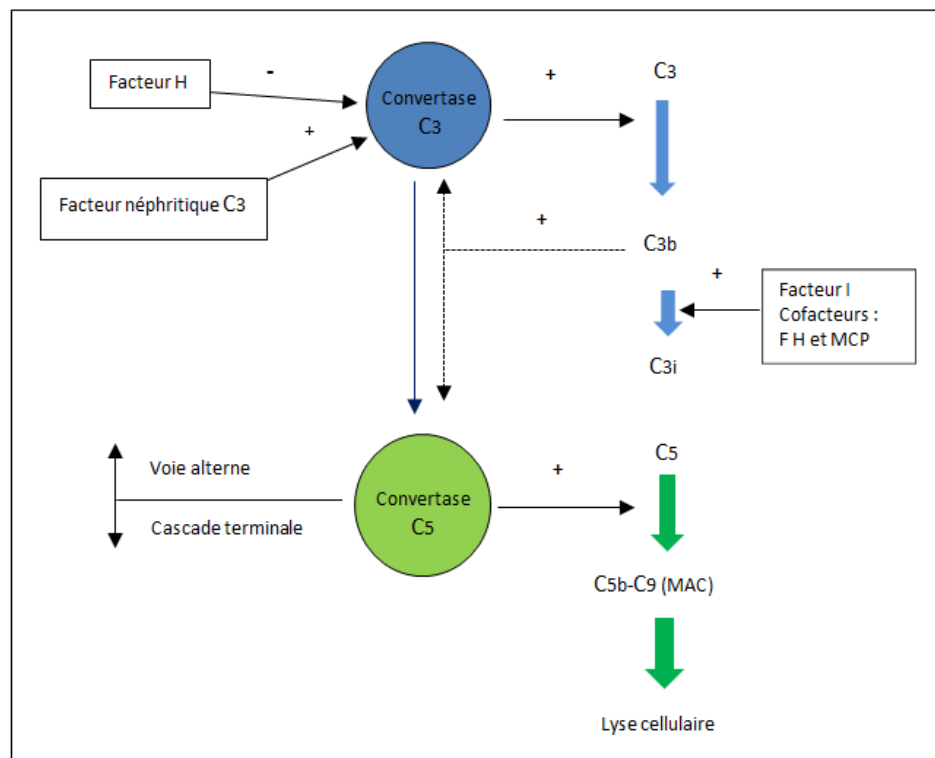


Figure 1 Voie alterne d'activation du complément

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

Source : adapté de De Lorenzo *et al.*, 2014.

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

Glomérulonéphrite à dépôts de C3

La glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3) constitue un groupe de maladies rénales causées par une activation non contrôlée de la cascade du complément menant au dépôt de la protéine C3 dans les glomérules rénaux. Conséquemment à des anomalies génétiques ou acquises, le dérèglement implique la C3 convertase de la voie alterne d'activation du complément. On distingue deux sous-types de GC3 : la maladie des dépôts denses et la GNC3 qui sont différenciées selon des caractéristiques spécifiques au moyen d'une biopsie rénale. L'incidence annuelle est estimée à 1 cas par million [Goodship *et al.*, 2017]. Contrairement à la présentation aigüe du SHUa chez la majorité des patients atteints de GNC3, la maladie est de nature chronique avec activation constante de la voie alterne du complément résultant en une survie rénale à 10 ans d'environ 50 % [Servais *et al.*, 2012].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Selon le demandeur, 40 à 50 analyses seront effectuées chaque année, incluant les échantillons reçus d'établissements hors Québec.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Lorsqu'un diagnostic de MAT est établi sur la base des analyses biochimiques et hématologiques de routine, ou qu'il l'est sur la foi d'une biopsie tissulaire, des évaluations supplémentaires sont requises afin de déterminer s'il s'agit d'un SHU causé par une infection à *E. coli* produisant la Shiga-toxine (STEC-HUS), du purpura thrombocytopénique thrombotique (PTT) ou du SHUa.

L'algorithme diagnostique transmis par le demandeur est celui du Cincinnati Children's Hospital présenté à l'annexe A. Cet algorithme montre l'ensemble des tests qui doivent être effectués à la suite d'un diagnostic de MAT. Un résultat d'analyse de l'activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % et un résultat négatif pour la présence d'*E. coli* producteur de Shiga-toxine permettent respectivement d'exclure un diagnostic de PTT ou de STEC-HUS, et peuvent mener au diagnostic de SHUa. La réalisation d'analyses génétiques et l'évaluation quantitative de diverses composantes de la voie alterne d'activation du complément, notamment le niveau de protéine C3, de facteur I et d'autoanticorps dirigés contre le facteur H, permettent de préciser ou de confirmer un diagnostic présumé de SHUa.

Actuellement, le centre demandeur envoie les échantillons pour le dosage du facteur I au laboratoire d'étude du complément du Centre de référence des microangiopathies thrombotiques de l'Hôpital européen Georges-Pompidou à Paris.

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* 2016-2017.

Aucune demande d'analyse par les établissements du réseau n'a été effectuée en 2015-2016 et aucun envoi hors Québec n'a été enregistré pour 2014-2015.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

- Confirmer un déficit quantitatif en facteur I;
- Fournir à moindre coût des indications sur les attitudes thérapeutiques à adopter et sur le pronostic d'une MAT. Les cas de déficit en facteur I sont associés à un pronostic plus grave que les cas de déficit en d'autres protéines régulatrices du complément, notamment le MCP;
- La trousse de la compagnie Abcam permet d'effectuer un ELISA compétitif qui est, de manière générale, plus spécifique qu'un ELISA de type sandwich.

4.7 Assurance qualité

Selon le demandeur, les valeurs normales du facteur I seront établies au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine par le dosage d'au moins 20 échantillons sanguins de donneurs sains conformément aux standards internationaux. Lors de chaque analyse par ELISA, un échantillon témoin pathologique dont la concentration en facteur I est diminuée sera inclus.

Un contrôle de qualité externe sera effectué une à deux fois par année en envoyant pour analyse un échantillon normal et un échantillon pathologique au laboratoire d'étude du complément du Centre de référence en microangiopathies thrombotiques de l'Hôpital européen Georges-Pompidou à Paris.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

En présence d'une MAT diagnostiquée au moyen de certains éléments suggestifs de la présentation clinique ou par les résultats d'une biopsie tissulaire, l'analyse quantitative du facteur I permettrait de confirmer ou de préciser un diagnostic de SHUa ou de GNC3. Parmi les études repérées, principalement axées sur les anomalies génétiques du facteur I et d'autres composantes du complément, seulement celles ayant rapporté la concentration plasmatique en facteur I ont été retenues. Parmi celles-ci, quatre portaient sur le SHUa [Haerynck *et al.*, 2013; Alba-Dominguez *et al.*, 2012; Cruzado *et al.*, 2009; Nilsson *et al.*, 2009] et une sur les glomérulopathies à dépôts de C3 [Servais *et al.*, 2012]. Le tableau 1 présente les résultats du dosage du facteur I et, à titre indicatif, les résultats de l'analyse génétique du gène du facteur I et du dosage du C3 chez des patients atteints de SHUa ou de GNC3.

Déficit complet en facteur I et susceptibilité aux infections

Deux des études retenues avaient pour objectif de caractériser le déficit marqué en facteur I observé chez des patients souffrant d'infections bactériennes récurrentes.

L'étude de Nilsson et ses collaborateurs [2009] portait sur l'évaluation de trois patients dont le facteur I était non détectable et de deux patients ayant un déficit quasi complet en facteur I (0,4 % et 2 % du sérum normal). Chez ces patients sauf un, la concentration en C3 était également inférieure à la normale. Des mutations hétérozygotes composées ou homozygotes ont été retrouvées chez les cinq. Les analyses effectuées ont révélé que les mutations détectées chez les cinq patients affectaient la structure

tridimensionnelle du facteur I et entravaient sa sécrétion. Selon les auteurs, le déficit marqué en facteur I qui en résultait et le déficit secondaire en C3 lié à une activation non contrôlée de la voie alterne se traduisent en une susceptibilité accrue aux infections.

L'étude d'Alba-Dominguez et ses collaborateurs [2012] visait à évaluer le portrait clinique, biochimique et génétique de 5 familles (19 personnes) présentant un déficit en facteur I et souffrant d'infections récurrentes. Les 5 cas index avaient un déficit complet en facteur I (0 % à 4 %) et une concentration en protéine C3 inférieure à la normale associée à l'activation non contrôlée de la voie alterne. Certains sujets apparentés avaient un déficit partiel en facteur I mais une concentration normale pour les autres protéines du complément analysées. Une cause génétique à l'origine du déficit en facteur I a été trouvée pour les cinq familles. Quatre nouvelles mutations causant un déficit en facteur I ont été détectées, dont une grande délétion. Les auteurs concluent que l'existence d'un déficit en facteur I devrait être considérée chez les patients qui ont un niveau faible en C3 et des infections bactériennes récurrentes.

Déficit partiel en facteur I

L'étude de Cruzado et ses collaborateurs [2009] illustre le cas d'un patient admis pour une greffe rénale et ayant reçu un diagnostic de SHUa. Il s'agit d'un patient âgé de 36 ans souffrant d'anémie, de thrombocytopénie et d'insuffisance rénale, et dont l'analyse d'une biopsie rénale a révélé la présence d'une MAT. En raison de la récurrence du SHUa, plusieurs cycles de plasmaphérèses avec remplacement de plasma ont été effectués. L'analyse génétique a permis de détecter une mutation dans les gènes de facteur I (*FI*) et de *MCP* associées à un déficit partiel en facteur I (concentration à 53% du sérum normal) et en MCP. Une transplantation rénale a été effectuée et des transfusions de plasma frais ont permis d'augmenter l'apport en facteur I. Les auteurs ont conclu que la transplantation rénale peut être une bonne option thérapeutique en première ligne pour les cas de maladie rénale causée par le SHUa associé à des mutations hétérozygotes doubles des gènes *FI* et *MCP*. De plus, selon ces mêmes auteurs, le niveau normal de MCP dans le greffon aurait suffi à prévenir la récurrence du SHUa malgré l'activation du complément dans celui-ci.

Déficit fonctionnel en facteur I

L'étude de Haerynck et ses collaborateurs [2013] portait sur le cas d'une patiente ayant subi 10 épisodes de méningo-encéphalite aigüe aseptique sur une période de 15 mois. L'évaluation de l'activité de la voie alterne du complément a été effectuée, entre autres, par la mesure de la concentration en facteur I par immunodiffusion radiale, par la mesure de l'activité fonctionnelle du facteur I et par le séquençage du gène *FI*. Plusieurs autres facteurs dans le système du complément ont aussi été dosés. Les concentrations du facteur I et du facteur H étaient normales, tandis que celle du facteur B était très faible. Le séquençage du gène *FI* a permis de détecter deux mutations non-sens hétérozygotes. L'activité fonctionnelle du facteur I, telle que mesurée par la quantification de la production du fragment C3b inactivé dans un essai hémolytique, a révélé que la dégradation du fragment C3b par le facteur I était fortement réduite. Les auteurs ont conclu qu'il s'agissait, à leur connaissance, du premier cas rapporté de déficit complet en facteur I secondaire à une anomalie fonctionnelle. De plus, ils ont souligné qu'une concentration normale en facteur I n'exclut pas la possibilité d'un déficit fonctionnel.

Anomalies d'activation de la voie alterne du complément associées à la GNC3

L'étude de Servais et ses collaborateurs [2012] avait pour objectif, entre autres, d'évaluer le rôle des anomalies génétiques du complément dans une cohorte de 134 patients dont 56 étaient atteints de GNC3. La concentration plasmatique du facteur H, du facteur I et de la protéine C3 a été évaluée par ELISA. Les 53 patients atteints de GNC3 avaient un niveau de facteur I normal et 39,6 % avaient un niveau de C3 inférieur à la normale. Par ailleurs, une mutation hétérozygote du gène *FI* a été détectée chez trois patients (5,3 %). Parmi les mutations détectées, certaines avaient déjà été rapportées dans la littérature. Selon les auteurs, les résultats mettent en évidence le rôle critique d'un dérèglement de la voie alterne, entre autres dans la pathogénèse de la GNC3.

Tableau 1 Valeur diagnostique de la concentration du facteur I chez des patients atteints de SHUa ou de GNC3

ÉTUDE	N	DIAGNOSTIC OU CONDITION CLINIQUE	MUTATIONS GÈNE FI	TAUX DE FI (%) C. [NORMALE]	TAUX DE C3 C. [NORMALE]
Nilsson <i>et al.</i> , 2009	5	Infections bactériennes récurrentes (sauf un patient)	HMZ	0 *	45 % *
			HTZ composé	2 *	63 % *
			HMZ non-sens tronquante	0 *	39 % *
			HTZ composé	0,4 *	73 % *
			HTZ composé	0 *	48 % *
Alba-Dominguez <i>et al.</i> , 2012	5 cas index	Infections récurrentes	7 HMZ 10 HTZ 2 sujets sains	2 †	22,8 mg/dl †
				0 †	22,6 mg/dl †
				0 †	34,4 mg/dl †
				4 †	31,5 mg/dl †
				0 †	38,4 mg/dl †
Cruzado <i>et al.</i> , 2009	1	SHUa	Double HTZ	53 ‡	87,6 mg/dl ‡
Haerynck <i>et al.</i> , 2013	1	Récidive de méningo-encéphalite aigüe aseptique	HTZ composé	normal § (activité anormale)	57 mg/dl §
Servais <i>et al.</i> , 2012	56	GNC3	3 (5,3 %) HTZ	n = 53 taux normal	n = 53 21 (39,6 %) taux inférieur à la normale

Abréviations : c. : contre; C3 : protéine C3 du système du complément; FI : facteur I; GNC3 : glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3; HTZ : hétérozygote; HMZ : homozygote; SHUa : syndrome hémolytique urémique atypique.

* Concentration normale en facteur I : 45 à 125 % du sérum normal; concentration normale en C3 : 72 à 130 % du sérum normal

† Concentration normale en facteur I : 71 à 115 % du sérum normal; concentration normale en C3 : 75 à 135 mg/dl

‡ Concentration normale en facteur I : 71 à 115 % du sérum normal; concentration normale en C3 : 77 à 210 mg/dl

§ Concentration normale en facteur I : 25 à 44 mg/l; concentration normale en C3 : 72 à 156 mg/dl

|| Concentration normale en facteur I : 42 à 78 mg/l; concentration normale en C3 : 66 à 125 mg/dl

5.2 Valeur pronostique et thérapeutique

Le tableau 2 présente les résultats des deux études de cohorte retenues dans lesquelles étaient évalués le pronostic et la réponse au traitement de patients atteints de SHUa associé à un déficit du facteur I [Bienaime *et al.*, 2010; Caprioli *et al.*, 2006]. Bien que ces études soient davantage axées sur l'analyse génétique des composantes du complément, les résultats de dosage du facteur I et d'autres protéines du complément ont été rapportés.

Un des objectifs de l'étude de cohorte de Caprioli et ses collaborateurs [2006] était d'analyser l'effet des mutations dans les gènes *MCP*, *FH* ou *FI* sur la réponse au traitement et le devenir de 156 patients atteints de SHUa. L'analyse génétique du gène *FI* a permis de détecter cinq mutations hétérozygotes distinctes chez sept patients (4,5 %). La concentration sérique en facteur I déterminée par ELISA chez quatre patients avec un *FI* muté s'est avérée normale. Bien qu'une analyse fonctionnelle n'ait pas été réalisée, les auteurs ont déduit que les variations détectées n'affectaient pas le niveau d'ARNm ou la sécrétion du facteur I puisque la concentration sérique était normale. Les données concernant le devenir clinique ont été rapportées chez six des sept patients avec un *FI* muté. Parmi ceux-ci, quatre ont atteint une rémission complète ou partielle et deux ont subi une récurrence de la maladie. À plus long terme, deux autres patients ont atteint une rémission complète et quatre ont développé une insuffisance rénale terminale. Une réponse défavorable aux plasmaphèreses a été observée pour la moitié des épisodes de SHUa. Un patient a reçu une transplantation rénale double qui s'est soldée l'année suivante par une perte des greffons secondaire à une récurrence de SHUa. Les auteurs ont conclu que les résultats obtenus mettent en évidence l'influence des anomalies génétiques sur la présentation clinique, le devenir clinique et la réponse au traitement des patients atteints de SHUa.

L'étude de Bienaime et ses collaborateurs [2010] visait à étudier l'effet des mutations du gène *FI* sur le devenir clinique de 202 patients atteints de SHUa. La concentration de diverses composantes du complément a été évaluée, dont le facteur I mesuré par ELISA. L'analyse génétique du gène *FI* a permis de détecter des mutations chez 23 patients (11,4 %). Parmi ces derniers, huit (34,8 %) présentaient une concentration en facteur I inférieure à la normale. Parmi les patients présentant une mutation du gène *FI*, 11 ont développé une insuffisance rénale terminale ou sont décédés dans les 18 mois suivant le début de la maladie. Par ailleurs, sept patients ont atteint une rémission complète de la maladie sans récurrence. Les auteurs ont conclu que le profil mutationnel de plusieurs gènes du complément pourrait expliquer la variabilité phénotypique observée dans le SHUa associé à une mutation du gène *FI* et soulignent la nécessité de rechercher la présence d'une seconde anomalie génétique.

Tableau 2 Valeur pronostique et thérapeutique du facteur I chez des patients atteints de SHUa

ÉTUDE	N	MUTATIONS GÈNE FI	TAUX FACTEUR I	ISSUE APRÈS 1 ^{ER} ÉPISODE	RÉPONSE AU TRAITEMENT
Caprioli <i>et al.</i> , 2006	156	7 (4,5 %)	n = 4 taux normal *	n = 6 (FI muté) RÉM-C : 3/6 RÉM-P : 1/6 Décès : 0/6 Récidive : 2/6	6 épisodes SHUa traités chez 4 patients Plasma† : 3/6 (50 %) Transplantation rénale : échec 1/1 suite à récurrence SHUa
Bienaimé <i>et al.</i> , 2010	202	23 (11,4 %)‡	n = 23 8 (34,8 %) taux inférieur à la normale §	IRT ou décès à 1 an : 11/23 (47,8 %) RÉM-C sans récurrence : 7/23 (30,4 %)	s.o.

Abréviations : FI : facteur I; IRT : insuffisance rénale terminale; RÉM-C : rémission complète; RÉM-P : rémission partielle; SHUa : syndrome hémolytique urémique atypique; s.o. : sans objet

* Concentration normale en facteur I : 70 à 130 % du sérum normal

† Le traitement consistait en une transfusion de plasma ou remplacement de plasma seul ou en combinaison avec un médicament agissant sur le système immunitaire et/ou la cascade de coagulation.

‡ Parmi les 23 patients dont le gène du facteur I était muté, 13 avaient une seconde anomalie génétique soit : une mutation dans un gène connu comme étant un facteur de susceptibilité pour le SHUa ou la délétion du gène *CFHR1* (n = 5).

§ Concentration normale en facteur I : 42 à 78 mg/l

|| Parmi ces 11 patients, 10 avaient une anomalie génétique supplémentaire à celle détectée dans le gène du facteur I.

5.3 Validité analytique

Les données de validité analytique disponibles pour le dosage du facteur I sont celles du fabricant de la trousse Human Complement Factor I ELISA de la compagnie Abcam [Abcam, 2015]. La plage de détection est de 0,375 à 24 µg/ml pour des échantillons dilués 1 : 20.

Sensibilité (limite de détection)

0,25 µg/ml

Spécificité

Aucune réaction croisée avec les facteurs B, D, P et H ainsi qu'avec les protéines C1 à C9 du complément n'a été détectée.

Précision

La précision intra-essai de la trousse Abcam a été évaluée par trois mesures de la concentration en facteur I par échantillon testé. Trois tests pour chaque échantillon ont été réalisés dans le surnageant de culture, la salive, le lait, le sérum et le plasma³⁸.

Aucune information quant au nombre d'échantillons testés et au nombre d'essais n'a été transmise par le fabricant.

Coefficient de variation intra-essai: 4,8 %

³⁸ Les informations concernant la méthode d'évaluation de la précision de la trousse, non disponibles dans la brochure, ont été obtenues du service de support scientifique de la compagnie Abcam (communication écrite du 12 mai 2017).

Coefficient de variation inter-essai: 9,2 %

Recouvrement

Le recouvrement moyen du facteur I contenu dans des échantillons fortifiés à une concentration finale de 0,75 à 12 µg/ml est de 96 % (86 % à 110 %).

Linéarité de dilution

La linéarité de dilution des échantillons a été déterminée pour le sérum et le plasma pour trois dilutions.

DILUTION	SÉRUM % moyen de la valeur attendue	PLASMA % moyen de la valeur attendue
1 : 10	105	108
1 : 20 *	99	98
1 : 40	92	93

* Dilution suggérée par le fabricant pour les échantillons à tester.

Limites

Les informations contenues dans la trousse Human Complement Factor I ELISA de la compagnie Abcam indiquent que les échantillons de sang peuvent être prélevés avec les anticoagulants suivants : EDTA, héparine ou citrate de sodium. Selon la procédure opératoire normalisée transmise par le demandeur, le citrate de sodium sera utilisé.

Comme il est mentionné à la section 7, il est recommandé d'utiliser du sang prélevé sur EDTA afin de bloquer la voie alterne du complément en chélatant les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} et prévenir la consommation artificielle du complément pouvant mener à des résultats erronés.

5.4 Données fournies par le demandeur

Aucunes données de validation locales de la méthode au moyen d'échantillons connus ou d'échantillons prélevés chez les patients n'ont été fournies par le centre demandeur.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA. Cette analyse cible les patients atteints de syndrome hémolytique urémique (SHUa), de glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3 (GNC3) ou de microangiopathies thrombotiques (MAT) avec suspicion d'implication du complément (diagnostic de purpura thrombocytopénique thrombotique (PTT) exclu). Elle vise aussi les patients atteints d'insuffisance rénale d'étiologie inconnue et présentant des antécédents familiaux ou personnels de MAT et pour lesquels une transplantation rénale est envisagée. 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 :

- Le dosage quantitatif du facteur I n'est pas réalisé actuellement dans le laboratoire.
- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec en 2015-2016.
- Il est estimé que 40, 45 et 50 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 223,12.

Tableau 3 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses ELISA	40	45	50	150
Impact net	8 925 \$	10 040 \$	11 156 \$	30 121 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			26 774 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			33 468 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 33 000 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, bien que cette analyse puisse influencer le suivi thérapeutique des patients, la thérapie demeure très individualisée et il n'existe pas d'algorithme clair actuellement concernant l'ajustement de celle-ci en fonction des résultats de l'analyse proposée par le demandeur. L'utilisation future de l'analyse permettra d'orienter et de consolider la pratique clinique en termes de suivi thérapeutique.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

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

Selon certains auteurs, un des problèmes majeurs réside dans le fait qu'il n'existe pas de standard international quant à l'approche diagnostique à privilégier et aux facteurs à doser dont le facteur I [Loirat et Fremeaux-Bacchi, 2011; Roumenina *et al.*, 2011].

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

Un groupe de travail de la Renal Association, du British Committee for Standards in Haematology et de la British Transplantation Society au Royaume-Uni [Taylor *et al.*, 2010] recommande que les niveaux sériques de C3, C4, facteur H et facteur I soient mesurés chez tous les patients dont la présentation clinique suggère un diagnostic de SHUa car le résultat permet d'évaluer le pronostic et les risques associés à une transplantation. À ce titre, la transplantation rénale seule n'est pas recommandée chez les patients qui ont une mutation du gène du facteur H ou du facteur I³⁹.

Lors de la conférence KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) de 2015, un comité d'experts a émis des recommandations relativement au diagnostic et au traitement du SHUa et de la GNC3 [Goodship *et al.*, 2017]. Selon ce groupe d'experts, l'analyse des protéines du complément (incluant le facteur I) et de leurs fragments dérivés devrait être considérée en plus de l'analyse génétique chez les patients atteints de SHUa et de GNC3.

D'un point de vue analytique, il est recommandé d'utiliser le sang prélevé sur EDTA pour le dosage des protéines du complément dans le plasma. L'EDTA bloque les voies classique et alterne du complément en chélatant les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} , ce qui prévient la consommation artificielle du complément durant le transport et la manipulation des échantillons, et la production de résultats erronés [Roumenina *et al.*, 2011].

Le comité de standardisation de l'International Complement Society (ICS) et de l'International Union of Immunological Societies (IUIS) a émis des recommandations pour l'analyse du complément [Prohaszka *et al.*, 2016].

- L'EDTA à une concentration finale de 10 mM est utilisé comme anticoagulant standard puisqu'il permet de bloquer l'activation du complément *in vitro* par la chélation des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} ;
- La méthode ELISA fait partie des méthodes recommandées pour la quantification des protéines du complément.

³⁹ La force des recommandations mentionnées dans ce paragraphe a été classée « forte » et la qualité de l'évidence « modérée » selon le système d'évaluation GRADE utilisé par les auteurs [Taylor *et al.*, 2010].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage quantitatif du facteur I

La recommandation de l'INESSS

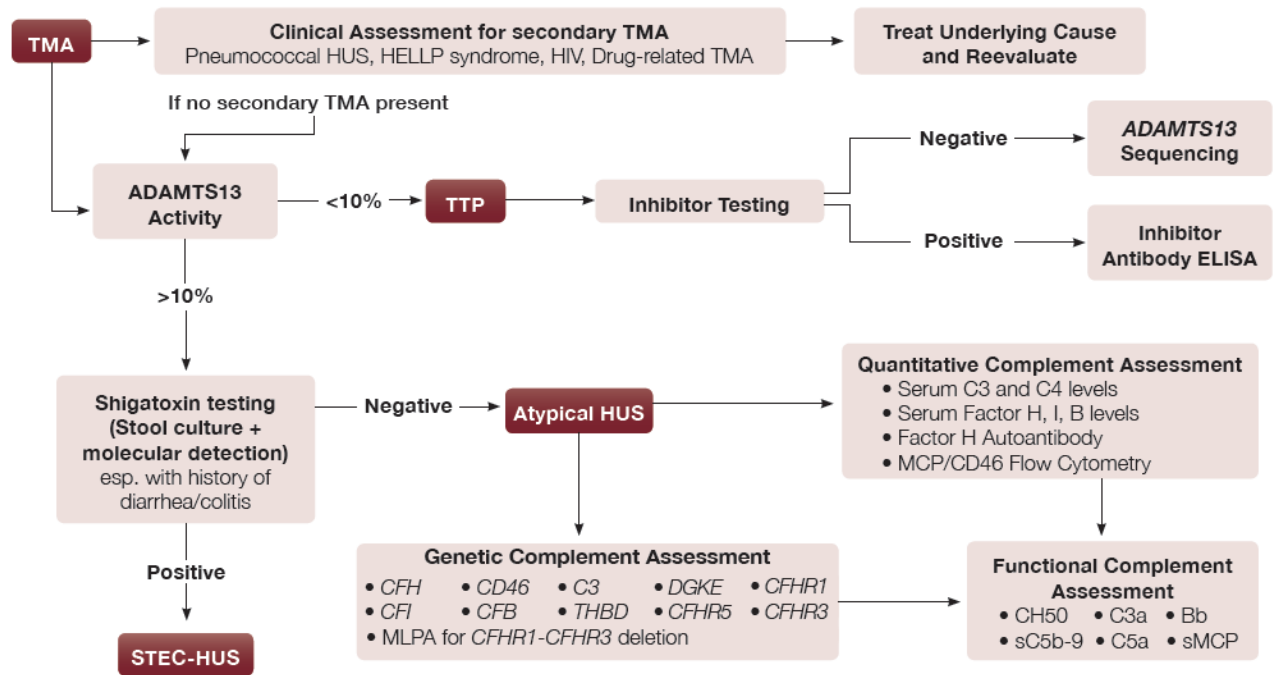
- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ La pertinence clinique de l'analyse :
 - correspond à un besoin clinique non comblé (confirmation diagnostique du SHU atypique);
 - a un impact potentiel sur la prescription d'éculizumab.
- ✓ Le temps réponse proposé de 4 semaines est acceptable pour les patients en attente d'une greffe rénale. Celui-ci devrait être inférieur à 2 semaines pour les cas de microangiopathies thrombotiques aiguës.
- ✓ L'introduction devrait être conditionnelle à la présentation d'un plan de validation locale et l'obtention des données qui démontrent la maîtrise de l'analyse par le laboratoire demandeur.

ANNEXE A : Algorithme diagnostique des microangiopathies thrombotiques

Thrombotic Microangiopathy Testing Algorithm



*aHUS can still be made as a diagnosis with completely normal genetic testing because all contributing genetic factors are not yet known.
Both patients with and without mutations seem to have the same response to eculizumab.



Molecular Genetics, Nephrology and Cancer & Blood Diseases Institute Clinical Laboratories
CLIA#: 36D0656333 • Phone: (513) 636-4530 • Fax: (513) 636-8924
Email: nephclinicalab@cchmc.org • www.cincinnatichildrens.org/tma

RÉFÉRENCES

- Abcam. Human complement factor I ELISA kit (ab195460) [site Web]. Toronto, ON : Abcam Inc.; 2015. Disponible à : <http://www.abcam.com/human-complement-factor-i-elisa-kit-ab195460.html>.
- Alba-Dominguez M, Lopez-Lera A, Garrido S, Nozal P, Gonzalez-Granado I, Melero J, et al. Complement factor I deficiency: A not so rare immune defect. Characterization of new mutations and the first large gene deletion. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:42.
- Bienaim F, Dragon-Durey MA, Regnier CH, Nilsson SC, Kwan WH, Blouin J, et al. Mutations in components of complement influence the outcome of Factor I-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 2010;77(4):339-49.
- Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108(4):1267-79.
- Cruzado JM, de Cordoba SR, Melilli E, Bestard O, Rama I, Sanchez-Corral P, et al. Successful renal transplantation in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome carrying mutations in both factor I and MCP. *Am J Transplant* 2009;9(6):1477-83.
- De Lorenzo A, Tallon S, Hernandez-Sevillano B, de Arriba G. C3 glomerulopathy: A new complement-based entity. *Rev Clin Esp (Barc)* 2014;214(5):266-74.
- Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Fremeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2017;91(3):539-51.
- Grumach AS et Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol* 2014;61(2):110-7.
- Haerynck F, Stordeer P, Vandewalle J, Van Coster R, Bordon V, De Baets F, et al. Complete factor I deficiency due to dysfunctional factor I with recurrent aseptic meningo-encephalitis. *J Clin Immunol* 2013;33(8):1293-301.
- Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33(6):508-30.
- Loirat C et Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60.
- Nilsson SC, Trouw LA, Renault N, Miteva MA, Genel F, Zelazko M, et al. Genetic, molecular and functional analyses of complement factor I deficiency. *Eur J Immunol* 2009;39(1):310-23.
- Prohaszka Z, Nilsson B, Frazer-Abel A, Kirschfink M. Complement analysis 2016: Clinical indications, laboratory diagnostics and quality control. *Immunobiology* 2016;221(11):1247-58.

- Roumenina LT, Loirat C, Dragon-Durey MA, Halbwachs-Mecarelli L, Sautes-Fridman C, Fremeaux-Bacchi V. Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods* 2011;365(1-2):8-26.
- Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Servais A, Noël LH, Roumenina LT, Le Quintrec M, Ngo S, Dragon-Durey MA, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies. *Kidney Int* 2012;82(4):454-64.
- Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.
- Taylor CM, MacHinn S, Wigmore SJ, Goodship THJ. Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol* 2010;148(1):37-47.

DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-FACTEUR H (RÉFÉRENCE - 2017.01.008)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine.

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017

1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Marc Lalancette (Interniste, hématologue et oncologue, CHU de Québec);
- D^r Paul Isenring (Néphrologue, CHU de Québec).

2 RÉSUMÉ

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de microangiopathie thrombotique (MAT) caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale. Une forme de SHUa caractérisée par le développement d'anticorps contre le facteur H du complément cause un dérèglement de la voie alterne du complément. Ainsi, l'identification d'anticorps anti-facteur H devrait permettre de déterminer la cause d'un SHUa chez certains patients, de choisir un traitement approprié, en l'occurrence l'immunosuppression, et d'évaluer l'efficacité de ce traitement.

La fréquence des anticorps anti-facteur H chez les patients atteints d'un SHUa varie de 4 % à 56 % dans la littérature. Une étude a rapporté que le SHUa associé à ces anticorps se manifeste plus tard au cours de l'enfance, en moyenne à huit ans comparativement à deux ans pour les autres formes de SHUa.

Quatre études ont montré que la concentration d'anticorps anti-facteur H était plus élevée en phase active d'un SHUa qu'en rémission. Une étude a associé un mauvais pronostic à une concentration élevée d'anticorps. Il a été rapporté qu'un niveau élevé d'anticorps à six mois suivant un épisode de SHUa était indicatif d'une récurrence. Toutefois, deux études n'ont pas permis d'observer de corrélation significative entre la concentration d'anticorps anti-facteur H et une progression clinique défavorable. Un suivi à long terme a montré que les anticorps anti-facteur H demeuraient détectables chez 88 % des patients, et ce, même en période de rémission. Des auteurs ont suggéré que les patients démontrant un niveau élevé d'anticorps devraient être soumis à un suivi étroit afin de repérer les risques de récurrence.

Quatre études ont démontré qu'il y avait une réduction significative de la concentration des anticorps anti-facteur H suivant un traitement de plasmathérapie (échanges plasmatiques ou infusion de plasma frais) seul ou combiné à un traitement d'immunosuppression bien que les anticorps demeuraient présents en rémission. Cette réduction était similaire chez les patients traités aux échanges plasmatiques ayant reçu une thérapie de maintien subséquente au cyclophosphamide ou au rituximab. Les patients atteints d'un SHUa associé aux anticorps anti-facteur H semblent démontrer une réponse favorable aux traitements d'échanges plasmatiques combinés à un traitement de maintien d'immunosuppression.

L'ajout de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-facteur H par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 53 000 \$ pour le total des trois premières années. L'utilisation future de l'analyse devrait permettre d'orienter et de consolider la pratique clinique en termes de suivi thérapeutique, notamment concernant l'usage de l'écilizumab et des agents immunosuppresseurs.

Le groupe Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO, 2017), le groupe SHU International (2016), le groupe international sur le purpura thrombotique et thrombocytopénique (PTT) et MAT associées et la clinique Mayo (2016) recommandent la recherche d'anticorps contre le facteur H chez les patients soupçonnés d'un SHUa. Le KDIGO recommande le dosage des anticorps anti-facteur H afin de guider la thérapie anticellulaire (immunosuppresseurs). Le groupe SHU International recommande d'effectuer un dosage d'anticorps anti-facteur H chez tous les patients atteints d'un SHUa considérés pour une greffe rénale.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage des anticorps anti-facteur H par ELISA (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) a pour but d'en déterminer la concentration dans un échantillon de plasma.

Cette analyse s'inscrit dans une série de tests visant à identifier la cause d'un déficit acquis de régulation de l'activation du complément à l'origine d'un syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa). Un résultat positif au test ELISA devrait permettre de préciser le diagnostic du SHUa complément-dépendant, prédire l'évolution de la maladie et orienter le traitement.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse repose sur la liaison d'un anticorps anti-facteur H présent dans l'échantillon sanguin du malade à l'antigène facteur H (disponible commercialement) préalablement fixé aux puits d'une microplaque. La présence d'anticorps anti-facteur H est ensuite détectée à l'aide d'un anticorps secondaire dirigé contre les immunoglobulines humaines (IgG, IgM et IgA) et couplé à la peroxydase. L'ajout d'un substrat de la peroxydase, l'orthophénylène diamine, résulte en une réaction enzymatique colorimétrique. Suite à l'ajout d'une solution d'arrêt, l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 492 nm. La valeur d'absorbance est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-facteur H présents dans l'échantillon et est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à l'aide d'échantillons positifs de concentration connue.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins sur citrate de sodium⁴⁰ effectués dans un établissement du réseau ou hors Québec seront acheminés puis analysés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine.

Cette analyse peut faire l'objet d'une demande au moment du diagnostic, de même que lors du traitement et du suivi du patient. À cet effet, la fréquence du test suggérée par le demandeur⁴¹ est :

- une fois par mois lors du traitement;
- une fois tous les trois mois en période de rémission (pendant deux ans);
- une fois tous les six mois par la suite.

Les résultats de cette analyse sont rarement traités en urgence. Le demandeur propose d'effectuer cette analyse mensuellement avec les informations cliniques et biologiques à l'appui et à la demande du directeur médical.

⁴⁰ Selon le demandeur, l'anticoagulant à utiliser est le citrate de sodium 3,2 % (0,109 M) standardisé afin d'obtenir un ratio citrate de sodium : sang total de 1 : 9. Source : Procédure opératoire normalisée PON-COAG-0083v2 (en vigueur le 1er mai 2017).

⁴¹ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

3.4 Société ou concepteur

Protocole maison.

3.5 Homologation

L'analyse proposée n'est pas homologuée.

3.6 Valeur pondérée : 160,86

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par l'analyse sont ceux qui présentent des manifestations cliniques ou para-cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et une activité ADAMTS-13 (de l'anglais *ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 13*) supérieure à 10 %.

4.2 Description de la maladie visée

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de MAT caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale [Caprioli *et al.*, 2006]. On distingue le SHUa de la forme typique de SHU chez les enfants, une forme qui est causée par une infection à certaines souches d'*Escherichia coli* produisant la Shiga-toxine (STEC-HUS, de l'anglais *Shiga toxin Escherichia coli associated hemolytic uremic syndrome*) [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007]. Il s'agit d'une maladie rare, constituant 10 % des SHU [Soudabeh *et al.*, 2014] et dont l'incidence annuelle est estimée à environ 0,5 à 2 par million [Goodship *et al.*, 2017; Kavanagh *et al.*, 2013]. Le SHUa peut survenir à tous les âges, de la période néonatale à l'âge adulte. Chez les enfants, 70 % ont un premier épisode de la maladie avant l'âge de deux ans [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007].

Le SHUa dit primaire est associé à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément (figure 1) menant à un état procoagulant avec formation de microthrombi dans la vascularisation rénale. Dans la moitié des cas, ce sont des mutations des gènes régulateurs du complément, notamment le facteur H, le facteur I et MCP (de l'anglais, *membrane cofactor protein*) qui mènent au développement du SHUa [Soudabeh *et al.*, 2014]. Par ailleurs, chez plusieurs patients présentant une prédisposition génétique, une condition initiatrice est requise afin que le SHUa se manifeste (SHUa secondaire) dont la greffe d'un tissu allogénique, une grossesse, le développement de certaines infections, des conditions auto-immunes ou métaboliques et la prise de certains médicaments [Kavanagh *et al.*, 2013; Caprioli *et al.*, 2006]. La présence d'autoanticorps contre le facteur H est observée chez 5 % à 10 % des patients souffrant du SHUa [Karpman *et al.*, 2017]. Chez la majorité des patients, une insuffisance rénale terminale se développe dans les deux ans suivant la présentation [Goodship *et al.*, 2017].

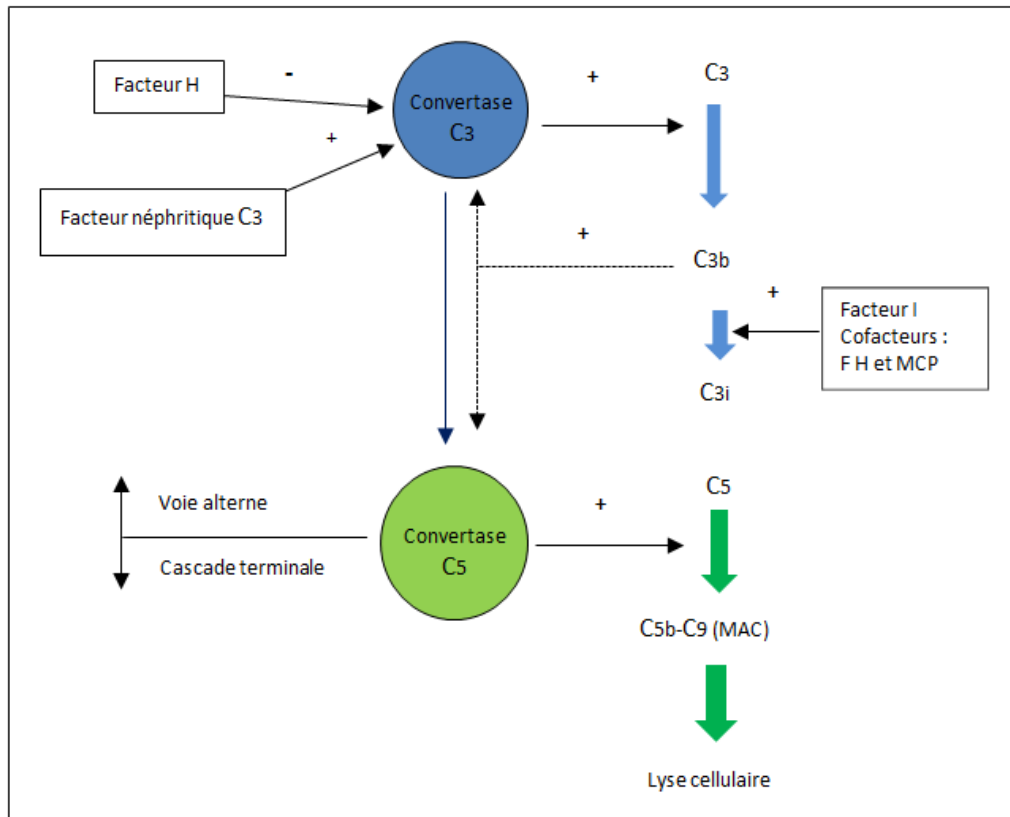


Figure 1 Voie alterne d’activation du complément

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

Source : adapté de [de Lorenzo *et al.*, 2014]

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

Le facteur H est une protéine impliquée dans la modulation de la voie alterne du complément. Cette protéine exerce son contrôle en se liant à la fraction C3b. Elle agit comme cofacteur au facteur I et prévient la formation des convertases C3 et C5. Ce contrôle prévient donc la formation du complexe d’attaque membranaire et la lyse cellulaire qui lui est associée [Noris et Remuzzi, 2015].

Chez la majorité des patients souffrant d’un SHUa qui possèdent des anticorps anti-facteur H, une thérapie plasmatique en phase aigüe accompagnée d’un traitement d’immunosuppression et une thérapie de maintien subséquente semblent suffisants [Sana *et al.*, 2014; Sinha *et al.*, 2014].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

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

4.4 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic du SHUa se base principalement sur un profil clinique ou une biopsie tissulaire suggestive de MAT et s'appuie aussi sur l'exclusion d'un PTT⁴² ou d'un STEC-HUS. Une recherche de mutations des composantes du complément (facteur H, facteur I, CD46, facteur B, protéine C3, thrombomoduline et *complement factor H related 1 and 5* [CFHR1 à 5]) accompagnée d'une recherche d'anti-facteur H sont souvent demandées en présence d'un cas soupçonné de SHUa^{43 44}. Le demandeur effectue déjà l'analyse du dosage d'anticorps anti-facteur H. Au cours de la dernière année, le demandeur a effectué 126 analyses dont environ 20 % provenaient de l'extérieur du Québec⁴⁵.

Le demandeur a fourni l'algorithme diagnostique de MAT du *Cincinnati Children's Hospital* (annexe A). Parmi les analyses suggérées, les suivantes sont inscrites dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2016-2017* (ci-après nommé *Répertoire*) :

20997 : Complément facteur H (antigène)

20769 : Composantes du complément

20771 : Complément sérique total (CH50) (activité)

20776 : Complément C3 (antigène)

20777 : Complément C4 (antigène)

20850 : Complément facteur B (antigène)

20995 : Activation du complément (ELISA)

Les analyses moléculaires des composantes du complément sont envoyées hors réseau (tableau 1).

Comparable

Il existe une trousse commerciale CFH IgG ELISA Kit^{MC} (Abnova)⁴⁶ pour le dosage des anticorps anti-facteur H. Toutefois, cette trousse n'est pas homologuée par Santé Canada et le demandeur n'aura pas recours à cette trousse.

⁴² Caractérisé par une activité ADAMTS-13 effondrée (analyse inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 20107* : ADAMTS-13 – activité).

⁴³ Information transmise par le D^r Marc Lalancette, interniste, hématologue et oncologue, CHU pavillon Hôtel-Dieu de Québec (29 mai 2017).

⁴⁴ Information transmise par le D^r Paul Isenring, interniste et néphrologue, CHU pavillon Hôtel-Dieu de Québec (11 juin 2017).

⁴⁵ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (15 juin 2017).

⁴⁶ antibodies-online.com. CFH IgG ELISA Kit [site Web], disponible à : <http://www.antibodies-online.com/kit/2683803/CFH+IgG+ELISA+Kit/> (consulté le 29 mai 2017).

4.5 Données médico-administratives

Le dosage des anticorps anti-facteur H n'est pas inscrit dans le *Répertoire*. Entre 2013 et 2016, 79 analyses ont été envoyées hors Québec, dont :

- 73 au Centre national de référence en microangiopathie thrombotique (CNR-MAT, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris);
- 2 au *Cincinnati Children's Hospital Medical Center* (150,96 \$ et 681,98 \$);
- 2 au *University of Iowa Molecular Laboratory* (326 \$ et 336 \$);
- une au *Sick Kids Toronto* (4 000 \$);
- et une au *Universitäts Klinikum Heidelberg* (35 \$).

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

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

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

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

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

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

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'analyse proposée devrait permettre le diagnostic du SHUa associé à la production d'anticorps contre le facteur H. Elle s'inscrit dans une série de tests visant à préciser un diagnostic de SHUa (activité fonctionnelle du complément CH50, complexe C5b-9 soluble, protéine C3, protéine C4, facteur H et facteur I).

Le dosage de ces anticorps devrait également permettre d'évaluer l'efficacité du traitement ou de le réorienter au besoin.

4.7 Assurance qualité

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Des anticorps anti-facteur H sont présents dans une sous-population de patients atteints d'un SHUa.

Dix études rapportant la fréquence des anticorps anti-facteur H ont été repérées dans la littérature et sont résumées au tableau 3 (critères d'inclusion à l'annexe B) [Song *et al.*, 2017; Sinha *et al.*, 2014; Fremeaux-Bacchi *et al.*, 2013; Hofer *et al.*, 2013; Foltyn Zadura *et al.*, 2012; Geerdink *et al.*, 2012; Moore *et al.*, 2010; Noris *et al.*, 2010; Abarrategui-Garrido *et al.*, 2009; Jozsi *et al.*, 2008]. La fréquence d'anticorps anti-facteur H varie de 4,6 % à 56,1 % entre les différentes cohortes étudiées et semble plus fréquente dans la population pédiatrique. Une forte corrélation a été démontrée entre la délétion homozygote des gènes des protéines du complément liées au facteur H 1 et 3 (de l'anglais *complement factor H related 1 and 3*; *CFHR1* et *CFHR3*) et la présence d'anti-facteur H (64 % à 90 % des patients avec des anticorps anti-facteur H ont une délétion du gène *CFHR1* et/ou 3) [Song *et al.*, 2017; Sinha *et al.*, 2014; Hofer *et al.*, 2013; Moore *et al.*, 2010; Noris *et al.*, 2010; Abarrategui-Garrido *et al.*, 2009; Jozsi *et al.*, 2008]. Deux études ont rapporté la présence d'anticorps anti-facteur H parmi des sujets sains à une fréquence de 5 % dans l'une et 1 % dans l'autre [Foltyn Zadura *et al.*, 2012; Moore *et al.*, 2010]. De plus, Sinha et ses collaborateurs [2014] ont observé la présence d'anticorps anti-facteur H chez 4 de 17 frères ou sœurs asymptomatiques. Hofer et ses collègues [2013] ont remarqué que le SHUa associé aux anticorps anti-facteur H se manifestait plus tard au cours de l'enfance (à 7,9 ans $\pm$ 3,4 ans) comparativement aux autres SHUa (2,2 ans [écart interquartile (EIQ) : 1,0 à 5,7]; $p < 0,001$). L'identification d'anticorps anti-facteur H permet de déterminer la cause de la pathologie dans une sous-population de patients atteints du SHUa et d'amener une précision diagnostique.

Tableau 3 Fréquence des anticorps anti-facteur H dans le SHUa

ÉTUDE	GROUPE (n)	ANTI-FACTEUR H n (%)	ÂGE DE LA COHORTE (ans) (âge des patients avec anti-facteur H)
Jozsi <i>et al.</i> , 2008	Patients (147)	16 (10,9)	< 18
	Sujets sains (100)	0 (0)	n.d.
Abarrategui-Garrido <i>et al.</i> , 2009	Patients (151)	7 (4,6)	(< 9)
	Témoins* (230)	n.d.	enfants et adultes
Moore <i>et al.</i> , 2010	Patients (142)	13 (9,2)	(1 à 11)
	Sujets sains (100)	1 (1)	≥ 18
Noris <i>et al.</i> , 2010	Patients (149)	10 (6,7)	< 18 (n = 6) ≥ 18 (n = 2)
	SHUa secondaires (47)	0 (0)	appariés aux patients pour l'âge et le sexe
Foltyn Zadura <i>et al.</i> , 2012	Patients (103)	12 (11,7) [†]	n.d.
	Sujets sains (20)	1 (5)	appariés aux patients pour l'âge et le sexe
Geerdink <i>et al.</i> , 2012	Patients (45)	6 (13,3)	< 18 (< 7)
Hofer <i>et al.</i> , 2013	Patients (100)	25 (25) [‡]	< 18 (7,9 ± 3,4)
	Sujets sains (42)	0 (0)	≥ 18
Fremaux-Bacchi <i>et al.</i> , 2013	Patients (214)	10 (11)	< 16
		4 (3,2)	≥ 16
Sinha <i>et al.</i> , 2014	Patients (246)	138 [§] (56,1)	< 18 (8,4 ± 4,1)
	Sujets sains (84)	0	n.d.
Song <i>et al.</i> , 2017	Patients (156)	33/156 (21,1)	< 18 (7,9 ± 3,2)

Abréviations : n.d. : non disponible; SHUa : syndrome hémolytique et urémique atypique.

* Formé de 68 sujets sains adultes, 37 enfants avant une chirurgie post-traumatique et 125 sujets sains appariés aux patients en âge.

[†] Fréquence d'anti-facteur H entre les patients et les sujets sains (p < 0,01).

[‡] Fréquence d'anti-facteur H entre les patients et les sujets sains (p < 0,001).

[§] Dont 87,7 % étaient âgés de plus de 5 ans.

5.2 Valeur pronostique

Quatre études présentant un suivi de patients atteints d'un SHUa avec des anticorps anti-facteur H ont été repérées dans la littérature [Song *et al.*, 2017; Khandelwal *et al.*, 2015; Sinha *et al.*, 2014; Dragon-Durey *et al.*, 2010].

Progression vers un pronostic défavorable chez les patients atteints du SHUa avec anti-facteur H

Sinha et ses collaborateurs [2014] ont évalué les caractéristiques cliniques et la progression du SHUa chez 138 patients pédiatriques. De ceux-ci, des données cliniques jusqu'à 3 mois étaient disponibles pour 122 patients. La concentration moyenne d'anticorps au moment du diagnostic des patients qui progressaient défavorablement à 3 mois (insuffisance rénale terminale, décès) était de $16\,156,4 \text{ UA}^{47}/\text{ml} \pm 6\,433,6 \text{ UA}/\text{ml}$ comparativement à $3\,977,2 \text{ UA}/\text{ml} \pm 428,6 \text{ UA}/\text{ml}$ ($p = 0,01$) chez les patients qui progressaient favorablement (tableau 4). En analyse multivariée, les auteurs ont montré qu'une concentration d'anticorps anti-facteur H supérieure ou égale à $8\,000 \text{ UA}/\text{ml}$ au diagnostic était associée à une issue défavorable à 3 mois (rapport de cotes (RC) : $6,92$ [IC95 % : $2,07$ à $23,14$]; $p = 0,002$). Une concentration supérieure ou égale à $8\,000 \text{ UA}/\text{ml}$ au diagnostic était également associée à une issue défavorable à long terme (rapport des risques instantanés (RRI) : $2,36$ [$1,27$ à $4,41$]; $p = 0,007$). Selon ces auteurs, une concentration d'anti-facteur H supérieure à $8\,000 \text{ UA}/\text{ml}$ serait associée à un mauvais pronostic.

Tableau 4 Progression du SHUa chez les patients avec anti-facteur H (n = 122)

FONCTIONS RÉNALES	ISSUE CLINIQUE n (%)	
	À 3 MOIS	À LONG TERME
Insuffisance rénale de stade 1 [*]		
▪ analyse d'urine normale	10 (8,2)	13 (10,7)
▪ hypertension de stade 2, hématurie ou protéinurie $\geq 2+$	52 (42,6)	58 (47,5)
Insuffisance rénale de stade 2 ou 3 [†]	24 (19,7)	10 (8,2)
Insuffisance rénale terminale ou décès (issue défavorable) [‡]	36 (29,5)	41 (33,6)

Source : Sinha *et al.*, 2014.

^{*} Taux estimé de filtration glomérulaire $\geq 90 \text{ ml}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$

[†] Taux estimé de filtration glomérulaire de 30 à $89 \text{ ml}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$

[‡] Taux estimé de filtration glomérulaire $< 30 \text{ ml}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$

Song et ses collègues [2017] ont évalué la progression du SHUa associé à la présence d'anticorps anti-facteur H chez 33 patients pédiatriques. La période moyenne de suivi des patients était de 12 mois (1 à 36 mois). La concentration d'anticorps anti-facteur H était significativement plus élevée chez les patients en phase aigüe que lors de la

⁴⁷ UA : unités arbitraires.

période de rémission⁴⁸ (671,37 UA/ml $\pm$ 213,04 UA/ml contre 375,41 UA/ml $\pm$ 295,30 UA/ml; p = 0,039) à l'exception d'un patient dont la concentration était plus élevée lors de la rémission. Quinze patients ont atteint une rémission complète, 12 une rémission partielle, 4 ont connu un échec au traitement et 14 ont pu être sevrés de la dialyse. Aucune corrélation entre les données cliniques et l'issue des patients n'a été observée en utilisant une analyse univariée de régression Cox pour la survie. L'issue défavorable chez les patients de l'étude a été définie par un décès, une insuffisance rénale terminale, une insuffisance rénale chronique, un doublement de la créatinine sérique, un échec de traitement ou une récurrence.

Risque de récurrence chez les patients atteints d'un SHUa avec anticorps anti-facteur H

Khandelwal et ses collègues [2015] ont étudié une cohorte de 45 patients atteints d'un SHUa associé aux anticorps anti-facteur H traités avec une combinaison d'échanges plasmatiques et d'immunosuppression sur une période de plus d'un an⁴⁹. Les auteurs ont observé que les patients avec une récurrence présentaient une concentration plus élevée à six et neuf mois (p = 0,03 et p < 0,001 respectivement). De plus, la concentration médiane d'anticorps anti-facteur H au moment d'une récurrence était de 2 383,7 UA/ml (EIQ : 1 601,1 à 6 955,4) comparativement à 470,0 UA/ml (EIQ : 273,6 à 613,2; p = 0,03) suivant la plasmaphérese. Une analyse de courbe ROC a montré qu'une concentration d'anticorps anti-facteur H supérieure ou égale à 1 300 UA/ml au 6^e mois du suivi était indicative d'une récurrence (aire sous la courbe de 0,70, sensibilité de 80 % et spécificité de 76,2 %). L'étude de Sinha et ses collaborateurs [2014], décrite en début de section, a montré que le niveau d'anticorps anti-facteur H diminuait en rémission (de 5 411,3 UA/ml $\pm$ 1 388,1 UA/ml à 844,3 UA/ml $\pm$ 215,4 UA/ml; p = 0,0008) et augmentait lors d'une récurrence (3 313,3 UA/ml $\pm$ 817,5 UA/ml; p = 0,006). Les auteurs de ces deux études ont suggéré que les patients démontrant une concentration élevée d'anticorps anti-facteur H devraient être soumis à un suivi étroit.

L'équipe de Dragon-Durey et ses collaborateurs [2010] a décrit les caractéristiques cliniques et la progression de la maladie chez une cohorte de 45 patients⁵⁰ atteints d'un SHUa associé aux anticorps anti-facteur H. Le suivi à long terme (moyenne de 39 mois, de 1 à 168 mois) a montré que les anticorps anti-facteur H demeuraient détectables chez 88 % des patients et ce, même en période de rémission. Les auteurs ont observé une récurrence chez 58 % des patients. Une progression vers une insuffisance rénale chronique⁵¹, terminale ou un décès a été constatée chez 39 %, 27 % et 9 % des patients respectivement. Aucune corrélation significative entre le niveau d'anticorps anti-facteur H et les complications rénales ou la récurrence a été observée. La concentration moyenne était de 13 470 UA/ml chez les patients avec des complications rénales ou une récurrence comparativement à 8 940 UA/ml chez les patients sans récurrence (p = 0,4). Selon les auteurs, l'activation de la voie alterne du complément serait un

⁴⁸ La rémission complète a été définie par une normalisation des paramètres hématologiques (hémoglobine > 100 g/l, numération plaquettaire > 150 x 10⁹ /l et lactate déshydrogénase < 450 U/l) et des fonctions rénales (taux estimé de filtration glomérulaire > 80 ml/min/1,73 m² et absence de protéinurie).

⁴⁹ L'âge médian de la cohorte était de 8 ans.

⁵⁰ La cohorte était formée de 38 enfants (âge médian de 9 ans) et 7 adultes (âge médian de 41 ans).

⁵¹ L'insuffisance rénale chronique a été définie par une diminution de la clairance de la créatinine calculée par la méthode de Schwartz ou de la MDRD (de l'anglais *modification of diet in renal disease*) ou par une concentration de créatinine supérieure à la normale pour l'âge.

facteur de mauvais pronostic pour la récurrence et la survie rénale. L'identification d'anticorps anti-facteur H pourrait aider à repérer les patients à risque élevé d'une issue défavorable.

5.3 Valeur thérapeutique

Quatre études repérées dans la littérature ont présentées des données de traitements chez les patients atteints d'un SHUa associé aux anticorps anti-facteur H [Song *et al.*, 2017; Khandelwal *et al.*, 2015; Sinha *et al.*, 2014; Hofer *et al.*, 2013].

L'étude de Hofer et ses collaborateurs [2013] portait sur une cohorte pédiatrique de 116 patients atteints d'un SHUa dont 26 étaient séropositifs pour les anticorps anti-facteur H. De ces patients, 14 ont reçu des échanges plasmatiques, 12 des perfusions de plasma, 18 des transfusions d'érythrocytes et 5 des transfusions de plaquettes. Les auteurs ont remarqué que la concentration d'anticorps anti-facteur H en phase aigüe ou lors d'une récurrence était plus élevée qu'en période de rémission. Douze échantillons prélevés au moment du diagnostic ou lors d'une récurrence montraient un niveau d'anticorps anti-facteur H significativement plus élevé que les 13 échantillons prélevés en période de rémission ($1\,342\text{ UA/ml} \pm 1\,458\text{ UA/ml}$ comparativement à $405\text{ UA/ml} \pm 116\text{ UA/ml}$; $p = 0,03$). Par ailleurs, chez les cinq patients pour lesquels un suivi de la concentration était disponible, les concentrations les plus élevées étaient toujours associées à l'apparition de la maladie ou à une récurrence.

Un pourcentage plus élevé de patients séropositifs pour les anticorps anti-facteur H ont reçu une plasmathérapie, notamment des échanges plasmatiques (74 % comparativement à 35 %; $p = 0,004$). Les auteurs ont suggéré d'effectuer un suivi du niveau d'anticorps anti-facteur H chez les patients séropositifs afin d'identifier la récurrence le plus tôt possible.

Sinha et ses collègues [2014] ont observé que la plasmathérapie seule ou accompagnée d'une perfusion d'immunoglobulines contribuaient à réduire la concentration d'anticorps anti-facteur H de $75,9\% \pm 35,0\%$ et de $76,1\% \pm 35,1\%$ respectivement. La concentration moyenne d'anticorps anti-facteur H mesurée chez 54 patients suivant une période médiane de 32 jours (EIQ : 11 à 84) d'échanges plasmatiques était significativement plus basse que la concentration à l'apparition de la maladie ($4\,807,6\text{ UA/ml} \pm 617,2\text{ UA/ml}$ contre $888,1\text{ UA/ml} \pm 146,2\text{ UA/ml}$; $p < 0,0001$).

Suivant des traitements de transfusions d'immunoglobulines accompagnés d'échanges plasmatiques ($n = 21$), il y avait une réduction significative de la concentration d'autoanticorps ($15\,987,6\text{ UA/ml} \pm 9\,251,2\text{ UA/ml}$ contre $1\,031,4\text{ UA/ml} \pm 242,5\text{ UA/ml}$; $p < 0,0001$) à une période médiane de 15 jours (EIQ : 9 à 28) de traitement. La majorité des patients de chacun des groupes recevaient également un traitement d'immunosuppression. Il est à noter que la concentration d'anticorps anti-facteur H demeurait supérieure à la valeur normale même en rémission. Les auteurs ont suggéré que leurs données prêtaient foi aux recommandations des experts concernant l'utilité des échanges plasmatiques pour réduire le niveau des anticorps anti-facteur H. Ils ont aussi affirmé que des études prospectives étaient nécessaires afin d'évaluer l'efficacité des traitements à normaliser les fonctions rénales et à prévenir les récurrences.

Song et ses collaborateurs [2017] ont étudié une cohorte de 31 patients qui possédaient des anticorps anti-facteur H traités pour un SHUa. Parmi ces patients, 3 ont reçu seulement du plasma frais, 7 des échanges plasmatiques seulement et 21 des perfusions de plasma ou des échanges plasmatiques combinés à un traitement d'immunosuppression. La majorité des patients répondaient bien à la combinaison d'échanges plasmatiques et de traitement d'immunosuppression avec un taux de rémission de 87 %. L'issue clinique des patients n'étaient pas significativement différente entre les différents groupes de traitements (rémission complète ou partielle $p = 1$; échec de traitement $p = 1$; cessation de la dialyse $p = 0,08$). Malgré une diminution significative de la concentration des anticorps anti-facteur H suivant le traitement, la concentration demeurait tout de même élevée en rémission. Les auteurs ont conclu que les patients atteints d'un SHUa associé aux anticorps anti-facteur H répondaient bien aux échanges plasmatiques combinés à un traitement d'immunosuppression.

Khandelwal et ses collègues [2015] ont analysé la concentration d'anticorps anti-facteur H chez 45 patients atteints d'un SHUa ayant reçu des échanges plasmatiques combinés à un traitement d'immunosuppression. Le traitement initial des patients était des échanges plasmatiques (60 ml/kg) sur une base journalière jusqu'à la rémission des paramètres hématologiques. La fréquence des traitements était ensuite diminuée à un traitement aux deux jours pour une période de deux semaines et deux fois par semaine pour une période de trois semaines. Un traitement d'immunosuppression à la prednisolone⁵² était initié au moment de la confirmation de la présence d'anticorps anti-facteur H. Les traitements au cyclophosphamide⁵³ ou au rituximab⁵⁴ ont débuté à la fin des échanges plasmatiques. Le mycophénolate mofétil⁵⁵ ou l'azathioprine⁵⁶ a servi de thérapie de maintien à deux ou trois mois suivant le début du traitement des patients. Suivant un nombre médian de 9 séances d'échanges plasmatiques, la concentration d'anticorps anti-facteur H diminuait de 87,1 % ($p < 0,0001$). La concentration médiane d'anticorps anti-facteur H, initialement de 2 266,0 UA/ml (EIQ : 1 257,1 à 6 520,1), a diminué à 515,5 UA/ml (EIQ : 348,2 à 986,6), 287,7 UA/ml (EIQ : 189,9 à 527,7) et 482,7 UA/ml (EIQ : 189,9 à 627,3) suivant 3, 5 et 7 séances d'échanges plasmatiques respectivement. Les auteurs ont attribué la diminution rapide de la concentration d'anticorps anti-facteur H aux échanges plasmatiques puisque la prednisolone était initiée suivant la troisième, cinquième ou septième séance d'échanges plasmatiques. Les auteurs ont constaté que la concentration d'anticorps anti-facteur H diminuait suivant le traitement d'échanges plasmatiques et que la réduction des autoanticorps était similaire chez les patients traités avec le cyclophosphamide et le rituximab.

⁵² À une dose de 1 mg/kg/jour pour 4 semaines et ensuite aux 2 jours pour 4 semaines.

⁵³ À une dose de 500 mg/m² à toutes les 3 semaines pour un total de 5 doses.

⁵⁴ À une dose de 375 mg/m² une fois par semaine pour 2 semaines.

⁵⁵ À une dose de 750 mg/m²/jour.

⁵⁶ À une dose de 1 à 2 mg/kg/jour.

5.4 Validité analytique

Aucune étude rapportant l'utilisation du protocole proposé par le demandeur n'a été repérée dans la littérature. Une des particularités de ce protocole est l'utilisation des anti-immunoglobulines humaines reconnaissant à la fois les IgG, les IgM et les IgA.

La méthode couramment utilisée pour mesurer la concentration d'anticorps anti-facteur H sérique est l'ELISA quantitatif du CNR-MAT à l'Hôpital européen Georges-Pompidou (Paris). Cette méthode standardisée est d'ailleurs celle préconisée par le groupe de travail européen sur la génétique du complément et les maladies rénales (de l'anglais *European Working Group on Complement Genetics and Renal Disease*, ECGRD) qui regroupe sept laboratoires possédant une expertise dans l'analyse d'autoanticorps de facteurs du complément [Watson *et al.*, 2014] et le groupe SHU International (Loirat *et al.*, 2016).

5.5 Données fournies par le demandeur

Les données de validation fournies par le demandeur sont présentées à l'annexe C.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-facteur H par ELISA. Cette analyse cible les patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 %. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 5. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Selon des informations reçues de la part du demandeur, le dosage des anticorps anti-facteur H est récemment réalisé dans son laboratoire et 102 analyses ont été effectuées en 2015 pour le Québec.
- En 2015-2016, 19 analyses ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 102 \$. Le rapatriement de ces analyses est prévu dès la première année.
- Ainsi, il est estimé que 121 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 160,86.

Tableau 5 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-facteur H par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse de dosage des anticorps anti-facteur H au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	19	19	19	57
Coûts	1 931 \$	1 931 \$	1 931 \$	5 793 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse de dosage des anticorps anti-facteur H au <i>Répertoire</i>				
Analyses par CHUSJ	121	121	121	363
Coûts	19 464 \$	19 464 \$	19 464 \$	58 392 \$
Impact net	17 533 \$	17 533 \$	17 533 \$	52 599 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			51 634 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			69 970 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-facteur H par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 53 000 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, bien que cette analyse puisse influencer le suivi thérapeutique des patients, la thérapie demeure très individualisée et il n'existe pas d'algorithme clair actuellement concernant l'ajustement de celle-ci en fonction des résultats de l'analyse proposée par le demandeur. L'utilisation future de l'analyse pourrait permettre d'orienter et de consolider la pratique clinique en termes de suivi thérapeutique, notamment concernant l'usage de l'éculizumab et des agents immunosuppresseurs.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

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

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

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)

Un groupe d'experts sur le SHUa et la GC3 a émis les recommandations suivantes concernant le dosage des anticorps anti-facteur H [Goodship *et al.*, 2017] :

- Exclure un diagnostic de PTT et de SHUa causé par la Shiga-toxine produite par *Escherichia coli* dans un premier temps.
- Un résultat positif devrait être confirmé sur un second échantillon prélevé au moins quatre semaines plus tard.
- Un dosage d'anticorps anti-facteur H devrait être effectué avant une greffe rénale.
- Chez les patients pédiatriques, le dosage devrait être effectué au moment du diagnostic et, si positif, au jour 7, 14, 28, aux mois et à 1 an.

- Le traitement du SHUa associé aux anticorps anti-facteur H implique l'utilisation d'un traitement anticellulaire et est guidé par la concentration des anticorps (algorithme de traitement, voir annexe D).

SHU International

Le groupe SHU International [Loirat *et al.*, 2016] a formulé les recommandations suivantes concernant le dosage des anticorps anti-facteur H (algorithme de traitement, voir annexe E):

- Effectuer un dosage d'anticorps contre le facteur H sur un échantillon de plasma prélevé avant la plasmathérapie chez tous les patients suspectés de présenter un SHUa. Ce test du complément est le seul qui doit être traité en urgence lors de la phase aigüe puisqu'il peut orienter la thérapie.
- La méthode de dosage recommandée est la méthode standardisée décrite par Watson et ses collaborateurs [2014].
- Un dépistage génétique⁵⁷ est également recommandé chez tous les patients même suite à un résultat positif pour les anticorps anti-facteur H. La prise en charge du patient devrait être réalisée par une approche de cas par cas en se basant sur la concentration d'anticorps anti-facteur H et la conséquence fonctionnelle de la mutation trouvée.
- Le dosage d'anticorps anti-facteur H est suggérée chez les patients considérés pour une greffe de rein en raison du risque de récurrence élevé chez ceux-ci.

Groupe de travail international sur le PTT et MAT associées

Ce groupe de travail international a élaboré un document [Scully *et al.*, 2017] afin de standardiser la terminologie du PTT et autres MAT et d'émettre des recommandations liées à ces pathologies. Il a été endossé par le EHA-SWG (de l'anglais *European Hematology Association Scientific Working Group platelet group*).

Le groupe suggère la recherche d'anticorps anti-facteur H et de mutations sur les gènes du complément (i.e. facteur H, facteur I, CFHR, CD46, fraction C3 et facteur B).

Le groupe de travail suggère un traitement d'immunosuppression pour le SHUa associé aux anticorps anti-facteur H.

Position de la clinique Mayo sur les MAT médiées par le complément

En présence d'un cas soupçonné de MAT complément-dépendante, le groupe recommande une série d'analyses visant à identifier la cause du défaut de l'activité du complément. Le groupe recommande ainsi le dosage d'anticorps anti-facteur H accompagné de tests fonctionnels du complément comme l'essai hémolytique CH50 et l'essai hémolytique de la voie alterne du complément AH50⁵⁸ [Go *et al.*, 2016].

Le traitement recommandé pour une MAT associée aux anticorps anti-facteur H par ce groupe est une combinaison de plasmathérapie et de prednisone.

⁵⁷ Recherche de mutations sur les gènes CFH (facteur du complément H), CFI (facteur du complément I), MCP (protéine cofacteur membranaire), C3 (composante du complément C3), CFB (facteur du complément B), THBD (thrombomoduline) et DGKE (kinase diacylglycérol epsilon).

⁵⁸ Accompagné d'analyses des composantes C3, C4, C4d, du complexe du complément terminal soluble C5b-9, des facteurs B, Bb, du facteur H et du facteur I.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage des anticorps anti-facteur H

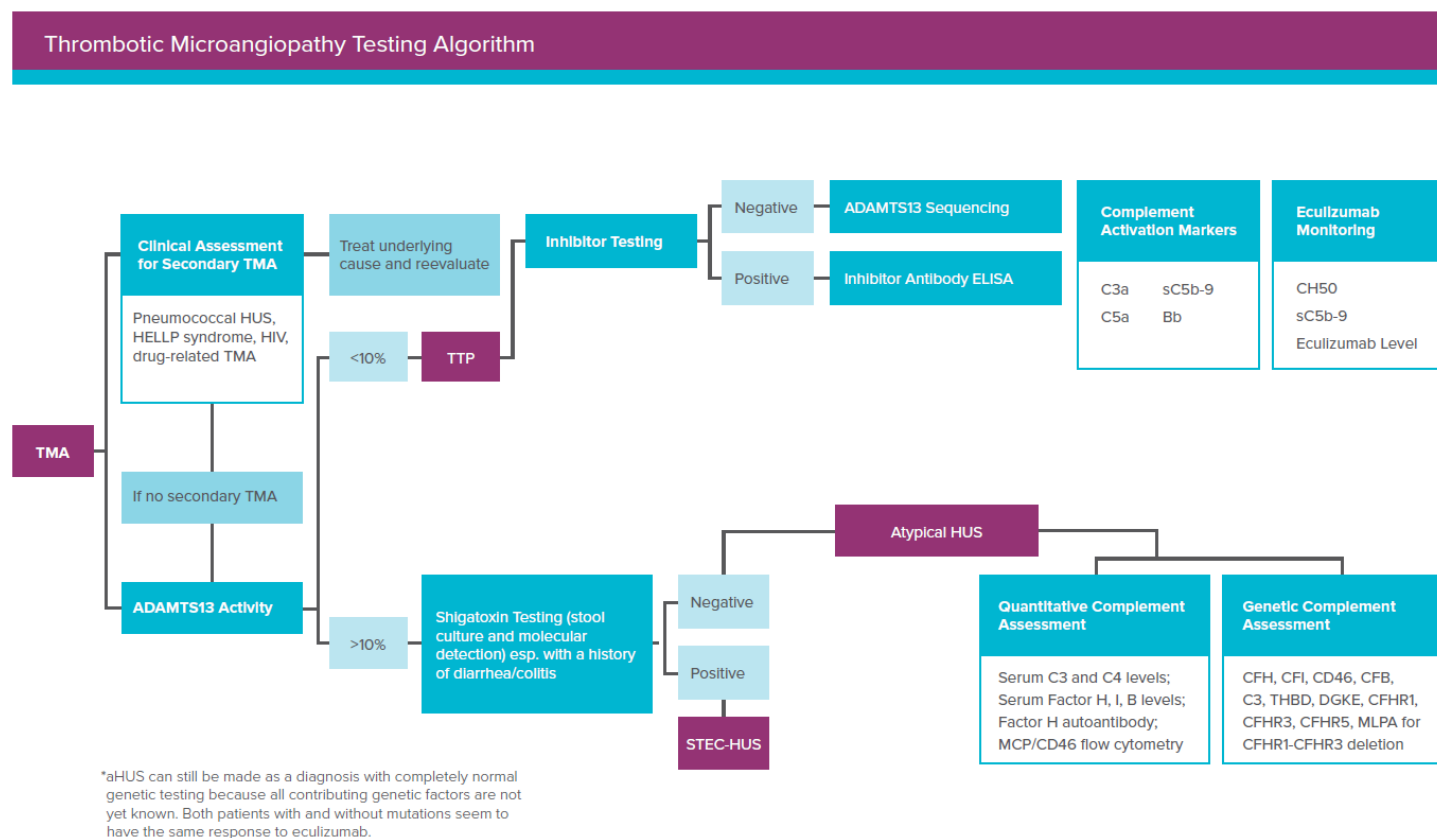
La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ La pertinence clinique de l'analyse est reconnue car :
 - elle correspond à un besoin clinique non comblé (confirmation diagnostique du SHU atypique);
 - elle a un impact potentiel sur la prescription d'éculizumab.
- ✓ Le temps réponse proposé de 4 semaines est acceptable pour les patients en attente d'une greffe rénale. Celui-ci devrait être inférieur à 2 semaines pour les cas de microangiopathies thrombotiques aiguës.
- ✓ L'introduction devrait être conditionnelle à la présentation d'un plan de validation locale et l'obtention des données qui démontrent la maîtrise de l'analyse par le laboratoire demandeur.

ANNEXE A : Algorithme diagnostic pour les microangiopathies thrombotiques du Cincinnati Children's hospital



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

ANNEXE B : Critères d'inclusion des études présentées

ÉTUDE	PATIENTS (n)	CRITÈRES D'INCLUSION
Jozsi <i>et al.</i> , 2008	147	Cohorte avec un diagnostic clinique de SHUa.
Abarrategui-Garrido <i>et al.</i> , 2009	151	Cohorte avec un diagnostic de SHUa.
Moore <i>et al.</i> , 2010	142	Cohorte avec un diagnostic clinique de SHUa.
Noris <i>et al.</i> , 2010	149	Niveau d'hématocrite inférieur à 30 %, un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, un niveau de lactate déshydrogénase supérieur à 460 U/l, une heptaglobine indétectable, la présence de schizocytes sur frottis sanguin, une numération plaquettaire inférieure à 150 000/ml et une insuffisance rénale. Les critères d'exclusion étaient un STEC-HUS et activité d'ADAMTS-13 inférieure à 20 %.
Foltyn Zadura <i>et al.</i> , 2012	103	Cohorte avec diagnostic clinique de SHUa
Geerdink <i>et al.</i> , 2012	45	Anémie hémolytique caractérisée par un niveau d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, thrombopénie avec numération plaquettaire inférieure à $150 \times 10^9/l$, un niveau élevé de lactate déshydrogénase et un test de Coombs négatif. Les patients avec un STEC-HUS étaient exclus de cette étude.
Hofer <i>et al.</i> , 2013	100	Anémie aigüe, thrombopénie, niveau de créatinine supérieur à la normale pour l'âge, protéine/créatinine urinaire supérieur à 0,2 g/g. Les patients avec un STEC-HUS étaient exclus de cette étude.
Fremaux-Bacchi <i>et al.</i> , 2013	214	Les SHUa primaires et causés par une grossesse étaient inclus dans cette étude alors que les autres SHUa secondaires étaient exclus. Plus particulièrement un niveau d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, niveau de lactate déshydrogénase supérieur à la limite normale, présence de schizocytes sur frottis, numération plaquettaire inférieure à 150 g/l, niveau de créatinine supérieur à la valeur normale pour l'âge et/ou protéinurie inférieure à 0.5 g/jour ou syndrome néphrotique et/ou lésion MAT sur la biopsie rénale.
Sinha <i>et al.</i> , 2014	246	Anémie hémolytique microangiopathique (érythrocytes fragmentés, réticulocytose, niveau de lactate déshydrogénase supérieur à 400 U/ml), thrombopénie (numération plaquettaire inférieure à 150 000 /mm ³) et insuffisance rénale aigüe. Les patients avec un sepsis, une coagulation intravasculaire disséminée ou une MAT secondaire (à une infection au virus de l'immunodéficience humaine ou la prise de médicaments) ont été exclus.

		La rémission hématologique était caractérisée par une absence d'anémie microangiopathique et de thrombopénie pour une période de deux semaines. La récurrence était définie par un nouvel épisode de SHUa plus de quatre semaines suivant la rémission.
Song <i>et al.</i> , 2017	156	Les critères d'inclusion pour l'étude étaient la présence d'une anémie hémolytique aigüe, de schizocytes sur frottis, d'une thrombopénie (numération plaquettaire < 150 x 10⁹/l), d'un niveau élevé de lactate déshydrogénase, d'un test de Coombs négatif et/ou d'une insuffisance rénale. La rémission complète était définie par une normalisation des paramètres hématologiques (hémoglobine supérieure à 100 g/l, numération plaquettaire supérieure à 150 x 10⁹/l, niveau de lactate déshydrogénase inférieur à 450 U/l) et des fonctions rénales (taux estimé de filtration glomérulaire supérieur à 80 ml/min/1,73m², absence de protéinurie). La rémission partielle était définie par une normalisation des paramètres hématologiques avec un taux estimé de filtration glomérulaire inférieur à 80 ml/min/1,73m² et/ou protéinurie et/ou hypertension. L'échec thérapeutique était défini par une absence de rémission suivant une période de trois mois de traitement.
Khandelwal <i>et al.</i> , 2015	45	Insuffisance rénale aigüe, anémie hémolytique microangiopathique avec schizocytes et thrombopénie (inférieur à 150 000/mm³). La rémission hématologique était définie par une numération plaquettaire supérieure à 150 000/mm³ et l'absence d'anémie microangiopathique. Un nouvel épisode de SHUa après plus de 2 semaines suivant la rémission était considérée comme une récurrence.
Dragon-Durey <i>et al.</i> , 2010	45	Anémie aigüe, schizocytes sur frottis sanguin, thrombopénie (inférieur à 150 g/l) et insuffisance rénale (taux de créatinine supérieur à la normale pour l'âge, protéine/créatinine urinaire supérieur à 0,2 g/g, protéinurie supérieure à 0,02 g/mm ou évidence histologique de dommages sur biopsie rénale).

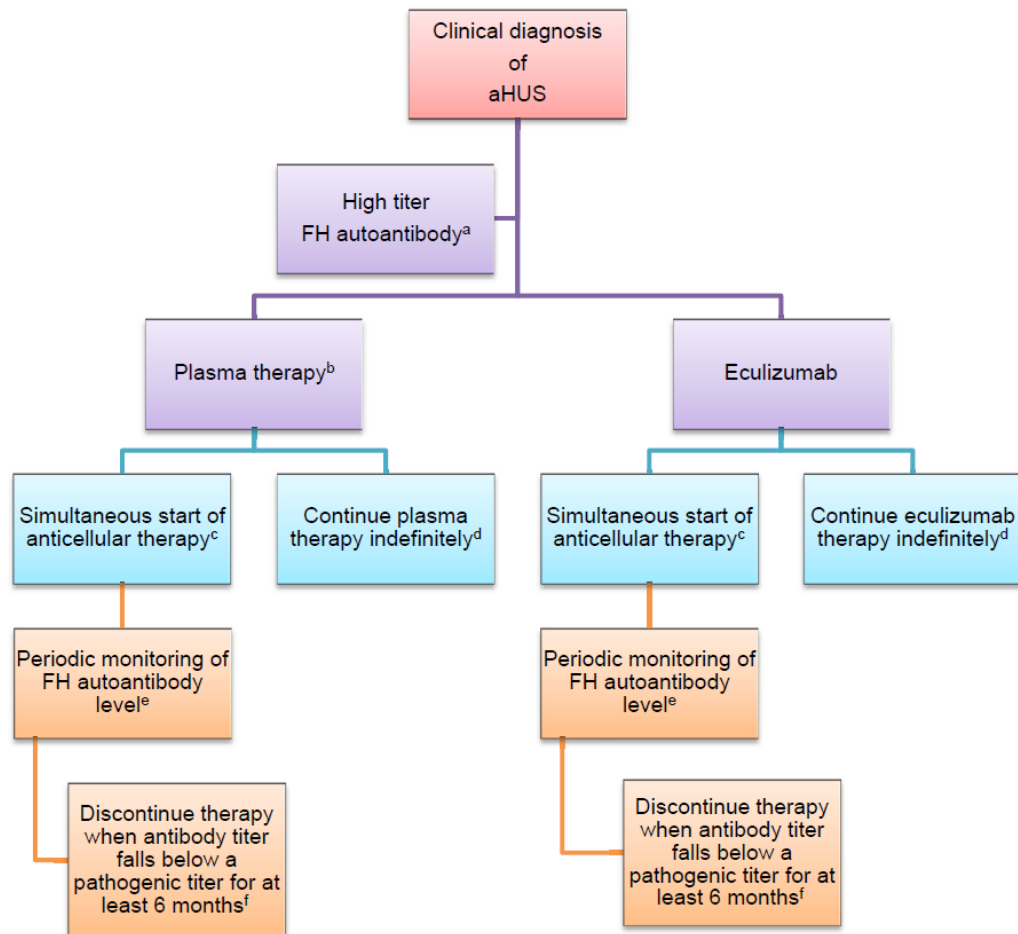
ANNEXE C : Données de validation de l'ELISA maison pour le dosage des anticorps anti-facteur H

Goat anti Human (Iga+M+G)-HRP 1/12500												
Layout	Plasmas normaux (PN)		Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Dilution
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	
A	NP F2	NP F2	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	6400
B	NP F21	NP F21	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	3200
C	NP F23	NP F23	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1600
D	NP H1	NP H1	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	800
E	NP H8	NP H8	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	400
F	NP H27	NP H27	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	200
G	CTL HEGP	CTL HEGP	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	100
H	Blanc	Blanc	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	50
dilution 1/50												
Données												
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution
A	0,061	0,061	0,064	0,067	0,064	0,063	0,063	0,064	0,069	0,068	0,064	0,066
B	0,06	0,068	0,096	0,098	0,076	0,074	0,085	0,074	0,083	0,082	0,077	0,077
C	0,071	0,076	0,112	0,11	0,094	0,091	0,091	0,089	0,104	0,103	0,092	0,096
D	0,068	0,074	0,125	0,132	0,122	0,119	0,123	0,12	0,145	0,141	0,125	0,132
E	0,072	0,062	0,178	0,199	0,175	0,175	0,172	0,172	0,203	0,206	0,178	0,183
F	0,071	0,07	0,237	0,255	0,235	0,229	0,228	0,244	0,264	0,265	0,234	0,235
G	0,313	0,33	0,301	0,322	0,31	0,311	0,309	0,303	0,346	0,358	0,303	0,304
H	0,049	0,051	0,355	0,371	0,35	0,351	0,35	0,355	0,38	0,391	0,357	0,361
Moyenne des blancs:		0,05										

Données - blanc														
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	TITRE	
A	0,011	0,011	0,014	0,017	0,014	0,013	0,013	0,014	0,019	0,018	0,014	0,016	128	
B	0,010	0,018	0,046	0,048	0,026	0,024	0,035	0,024	0,033	0,032	0,027	0,027	64	
C	0,021	0,026	0,062	0,060	0,044	0,041	0,041	0,039	0,054	0,053	0,042	0,046	32	
D	0,018	0,024	0,075	0,082	0,072	0,069	0,073	0,070	0,095	0,091	0,075	0,082	16	
E	0,022	0,012	0,128	0,149	0,125	0,125	0,122	0,122	0,153	0,156	0,128	0,133	8	
F	0,021	0,020	0,187	0,205	0,185	0,179	0,178	0,194	0,214	0,215	0,184	0,185	4	
G	0,263	0,280	0,251	0,272	0,260	0,261	0,259	0,253	0,296	0,308	0,253	0,254	2	
H	-0,001	0,001	0,305	0,321	0,300	0,301	0,300	0,305	0,330	0,341	0,307	0,311	1	
TITRES d'anticorps anti FH			64	64	32	32	64	32	64	32	32	32		
Moyennes des PN							Remarque							
0,011							Le titre d'anticorps correspond à la réciproque de la dernière dilution donnant une Abs492 nm supérieur à la moyenne de l'Abs492 nm des plasmas normaux + 3 déviations standard (valeur en rouge dans les données obtenues)							
0,014	Moyenne des PN													
0,024	SD													
0,021	Moyenne + 3SD													
0,017														
0,021														

Source : Information obtenue du demandeur par communication électronique en date du 19 mai 2017.

ANNEXE D : Algorithme de traitement du SHUa associé aux anticorps anti-facteur H



Source : Goodship *et al.*, 2017.

Il n'y a pas d'études prospectives contrôlées de patients atteints d'un SHUa associé aux anticorps anti-facteur H.

L'algorithme proposé repose sur un consensus.

^a La valeur d'une concentration anormale dépend du laboratoire.

^b Le choix d'un traitement de plasmathérapie ou d'eculizumab dépend de l'âge du patient et de la disponibilité locale

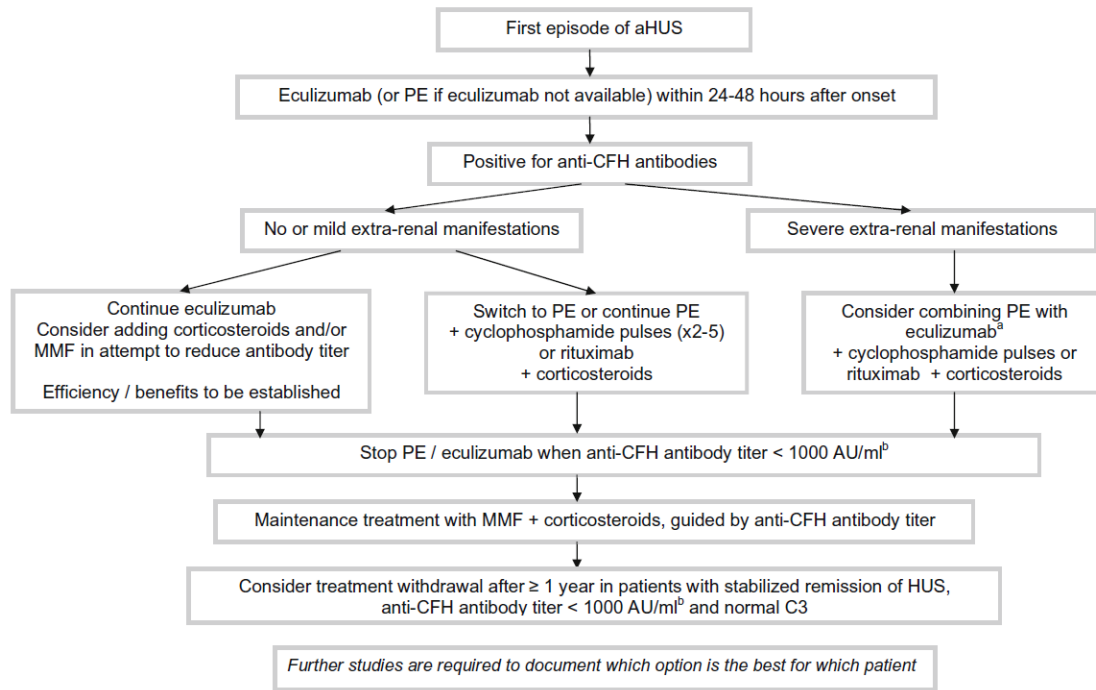
^c Cyclophosphamide, rituximab, ou mycophénolate mofetil.

^d Le choix de poursuivre le traitement indéfiniment n'est pas appuyé par les données.

^e L'intervalle peut être mensuel ou trimestriel et se base sur les ressources locales.

^f Cette recommandation est basée sur un nombre limité d'études rétrospectives de cas.

ANNEXE E : Algorithme de traitement du SHUa associé aux anticorps anti-facteur H



Source : Loirat *et al.*, 2016.

Abréviations : aHUS : syndrome hémolytique et urémique atypique; CFH : Facteur H du complément; MMF : mycophénolate mofetil; PE : échanges plasmatiques.

Algorithme de traitement proposé pour le SHUa associé aux anticorps anti-facteur H.

a Comme les échanges plasmatiques mènent à la clairance de l'écuzumab dans la circulation sanguine, il doit être administré après chaque traitement d'échanges plasmatiques.

b La concentration requise est inconnue lorsqu'une analyse non-standardisée est utilisée.

RÉFÉRENCES

- Abarrategui-Garrido C, Martinez-Barricarte R, Lopez-Trascasa M, de Cordoba SR, Sanchez-Corral P. Characterization of complement factor H-related (CFHR) proteins in plasma reveals novel genetic variations of CFHR1 associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2009;114(19):4261-71.
- Alba-Dominguez M, Lopez-Lera A, Garrido S, Nozal P, Gonzalez-Granado I, Melero J, et al. Complement factor I deficiency: A not so rare immune defect. Characterization of new mutations and the first large gene deletion. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:42.
- Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108(4):1267-79.
- De Lorenzo A, Tallon S, Hernandez-Sevillano B, de Arriba G. C3 glomerulopathy: A new complement-based entity. *Rev Clin Esp (Barc)* 2014;214(5):266-74.
- Dragon-Durey MA, Sethi SK, Bagga A, Blanc C, Blouin J, Ranchin B, et al. Clinical features of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2010;21(12):2180-7.
- Foltyn Zadura A, Zipfel PF, Bokarewa MI, Sturfelt G, Jonsen A, Nilsson SC, et al. Factor H autoantibodies and deletion of Complement Factor H-Related protein-1 in rheumatic diseases in comparison to atypical hemolytic uremic syndrome. *Arthritis Res Ther* 2012;14(4):R185.
- Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, et al. Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: A nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8(4):554-62.
- Geerdink LM, Westra D, van Wijk JA, Dorresteyn EM, Lilien MR, Davin JC, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome in children: Complement mutations and clinical characteristics. *Pediatr Nephrol* 2012;27(8):1283-91.
- Go RS, Winters JL, Leung N, Murray DL, Willrich MA, Abraham RS, et al. Thrombotic microangiopathy care pathway: A consensus statement for the Mayo Clinic Complement Alternative Pathway-Thrombotic Microangiopathy (CAP-TMA) Disease-Oriented Group. *Mayo Clin Proc* 2016;91(9):1189-211.
- Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Fremeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2017;91(3):539-51.
- Grumach AS et Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol* 2014;61(2):110-7.
- Hofer J, Janecke AR, Zimmerhackl LB, Riedl M, Rosales A, Giner T, et al. Complement factor H-related protein 1 deficiency and factor H antibodies in pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8(3):407-15.

- Jozsi M, Licht C, Strobel S, Zipfel SL, Richter H, Heinen S, et al. Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood* 2008;111(3):1512-4.
- Karpman D, Loos S, Tati R, Arvidsson I. Haemolytic uraemic syndrome. *J Intern Med* 2017;281(2):123-48.
- Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33(6):508-30.
- Khandelwal P, Gupta A, Sinha A, Saini S, Hari P, Dragon Durey MA, Bagga A. Effect of plasma exchange and immunosuppressive medications on antibody titers and outcome in anti-complement factor H antibody-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2015;30(3):451-7.
- Loirat C et Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60.
- Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31(1):15-39.
- Moore I, Strain L, Pappworth I, Kavanagh D, Barlow PN, Herbert AP, et al. Association of factor H autoantibodies with deletions of CFHR1, CFHR3, CFHR4, and with mutations in CFH, CFI, CD46, and C3 in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2010;115(2):379-87.
- Noris M et Remuzzi G. Glomerular diseases dependent on complement activation, including atypical hemolytic uremic syndrome, membranoproliferative glomerulonephritis, and C3 glomerulopathy: Core curriculum 2015. *Am J Kidney Dis* 2015;66(2):359-75.
- Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5(10):1844-59.
- Prohaszka Z, Nilsson B, Frazer-Abel A, Kirschfink M. Complement analysis 2016: Clinical indications, laboratory diagnostics and quality control. *Immunobiology* 2016;221(11):1247-58.
- Sana G, Dragon-Durey MA, Charbit M, Bouchireb K, Rousset-Rouviere C, Berard E, et al. Long-term remission of atypical HUS with anti-factor H antibodies after cyclophosphamide pulses. *Pediatr Nephrol* 2014;29(1):75-83.
- Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2017;15(2):312-22.
- Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Sinha A, Gulati A, Saini S, Blanc C, Gupta A, Gurjar BS, et al. Prompt plasma exchanges and immunosuppressive treatment improves the outcomes of anti-factor H

autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome in children. *Kidney Int* 2014;85(5):1151-60.

Song D, Liu XR, Chen Z, Xiao HJ, Ding J, Sun SZ, et al. The clinical and laboratory features of Chinese Han anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2017;32(5):811-22.

Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.

Watson R, Lindner S, Bordereau P, Hunze EM, Tak F, Ngo S, et al. Standardisation of the factor H autoantibody assay. *Immunobiology* 2014;219(1):9-16.

DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION DU FACTEUR IX PAR MÉTHODE CHROMOGÈNE

(RÉFÉRENCE - 2017.01.009)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017

1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Jean St-Louis, (Hématologue et oncologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont);
- D^{re} Stéphanie Cloutier, (Hématologue, CHA Hôpital Enfant-Jésus).

2 RÉSUMÉ

L'hémophilie B (maladie de Christmas) est une maladie génétique récessive liée au chromosome X caractérisée par un déficit congénital en facteur IX de coagulation. Ce déficit se traduit par un temps de coagulation prolongé menant à de fréquents épisodes de saignements aux articulations (hémarthroses) et aux tissus mous.

L'analyse chromogène est une méthode de dosage en deux temps qui permet de déterminer la concentration d'un facteur IX antihémophilique recombinant structurellement modifié lors du suivi des patients atteints d'hémophilie B traités pour un déficit en facteur IX de coagulation.

Des études montrent que les résultats du dosage chromogène sont plus près des valeurs de référence attendues et que cette analyse détermine avec sensibilité, précision et reproductibilité la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés.

L'analyse proposée consiste en une trousse commerciale non homologuée. Les données fournies par le fabricant de la trousse indiquent que la répétabilité des résultats est de 2,4 % et que leur reproductibilité se situe entre 5,6 % et 6,4 %.

Les coûts liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire* sont environ de 1 800 \$ pour le total des trois premières années.

Présentement, aucune trousse commerciale standardisée n'est homologuée à des fins de diagnostic pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur IX. De plus, les trousses disponibles sont peu nombreuses en plus d'être dispendieuses et de nécessiter un appareillage particulier ainsi que du personnel de laboratoire qualifié pour effectuer ce type d'analyses.

Le MASAC (Medical and Scientific Advisory Council) du NHF (National Hemophilia Foundation) favorise l'utilisation de la méthode chromogène pour déterminer la concentration plasmatique du facteur IX dans un contexte de suivi de patients traités avec des concentrés antihémophiliques recombinants.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Détermination, par la méthode chromogène, de la concentration d'un facteur IX antihémophilique recombinant structurellement modifié lors du suivi des patients atteints d'hémophilie B traités pour un déficit en facteur IX de coagulation.

Les personnes atteintes d'hémophilie B traitées avec des concentrés de facteur IX doivent faire régulièrement l'objet d'un suivi afin de veiller à ce que la concentration ciblée en facteurs de coagulation en circulation soit atteinte et apporter toute modification nécessaire au plan thérapeutique⁵⁹.

3.2 Description de la méthode

La méthode chromogène est une méthode en deux étapes qui mesure la concentration plasmatique du facteur IX. Cette technique exploite la capacité du facteur IX d'agir comme un cofacteur dans l'activation du facteur X.

Dans un premier temps, l'échantillon à tester est incubé en présence de thrombine, de phospholipides, de calcium et du facteur VIII activé. Tous les composants sont alors en excès dans le milieu réactionnel, excepté le facteur IX qui est le facteur limitant de la réaction. Un complexe est ensuite formé avec les facteurs IX et VIII activés et les phospholipides. Dans un second temps, ce complexe active le facteur X. Du facteur X activé est alors généré en quantité proportionnelle à la quantité du complexe FVIII-FIX-phospholipides contenu dans l'échantillon. Le facteur X activé entraîne le clivage d'un substrat chromogène et l'apparition d'une coloration induite par la libération de p-nitroaniline qui est mesurée par densité optique à la longueur d'onde de 405 nm comme l'illustre la figure 1.

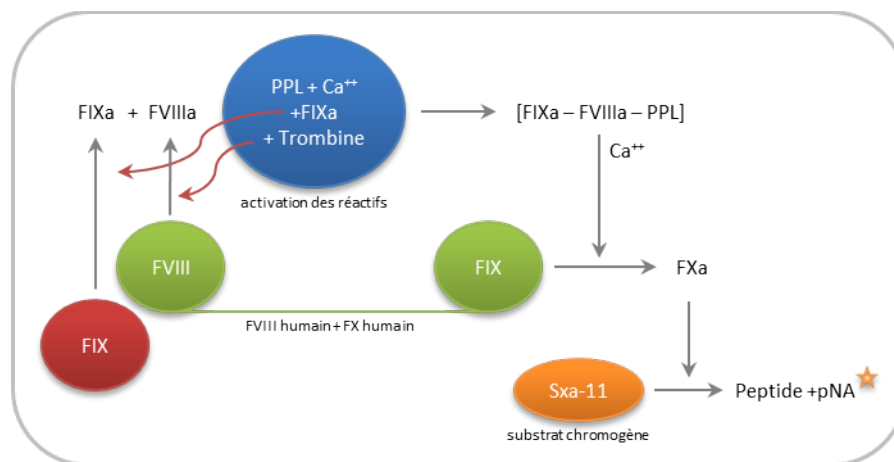


Figure 1 Principe de la méthode chromogène pour le dosage du facteur IX

Source : figure adaptée de Nodia BV. Biophen FIX [site Web], disponible à :

<http://www.nodia.be/site/haemostasis/biophen-fix/> (consulté le 25 avril 2017).

Abréviations : FIX : facteur IX; FIXa : facteur IX activé; FVIII : facteur VIII; FVIIIa : facteur VIII activé; PPL : phospholipides; Ca⁺⁺ : calcium; FX : facteur X; FXa : facteur X activé; Sxa-11 : substrat chromogène spécifique pour le facteur X activé; pNA : p-nitroaniline.

⁵⁹ Fédération mondiale de l'hémophilie. Troubles de coagulation [site Web], disponible à : <https://www.wfh.org/fr/abd/prophylaxis/prophylaxie-suivi-des-resultats> (consulté le 25 avril 2017).

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront effectués dans divers établissements de santé du Québec ou hors Québec. Après avoir effectué la partie préanalytique, les échantillons seront acheminés au laboratoire d'hémostase au Centre de référence québécois des inhibiteurs de la coagulation, le CHU Sainte-Justine.

La trousse Biophen FIX^{MC} de la compagnie Hyphen BioMed utilise la méthode chromogène pour mesurer la concentration plasmatique de facteur IX endogène humain ou issu de concentrés.

3.4 Société ou concepteur

Hyphen BioMed

3.5 Homologation

La trousse Biophen FIX^{MC} de la compagnie Hyphen BioMed respecte les normes de la CE (conformité européenne). Elle n'est homologuée ni par Santé Canada ni par la FDA (Food and Drug Administration).

3.6 Valeur pondérée : 51,14

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients atteints d'hémophilie B traités avec des concentrés recombinants structurellement modifiés pour un déficit en facteur IX de coagulation.

4.2 Description de la maladie visée

L'hémophilie B (maladie de Christmas) est une maladie génétique récessive liée au chromosome X caractérisée par un déficit congénital en facteur IX de coagulation. Sa prévalence est de moins d'une personne sur 50 000⁶⁰, soit 712 Canadiens en 2016 [World Federation of Hemophilia, 2016]. Les deux tiers des cas d'hémophilie B sont héréditaires tandis qu'un tiers survient *de novo*. Ce déficit se traduit par un temps de coagulation prolongé menant à de fréquents épisodes de saignements aux articulations (hémarthroses) et aux tissus mous [Duan et al., 2014]. Le déficit en facteur IX est qualifié de sévère, modéré ou léger lorsque le taux plasmatique mesuré est respectivement : inférieur à 1 %, entre 1 % et 5 % et entre 6 % et 30 %, et ce, comparativement aux personnes sans trouble de la coagulation.

La prise en charge des patients atteints d'hémophilie B sévère inclut le traitement épisodique et la prophylaxie au moyen de facteur IX de remplacement [Srivastava et al., 2013]. La prophylaxie primaire⁶¹ est le traitement standard pour les patients atteints d'hémophilie B sévère [Franchini, 2014]. Diverses stratégies ont été développées pour accroître la durée d'action des facteurs de coagulation de remplacement, dont les concentrés de facteur IX recombinants structurellement

⁶⁰ Société canadienne de l'hémophilie. Hémophilie A et B [site Web], disponible à : <http://www.hemophilia.ca/fr/troubles-de-la-coagulation/hemophilie-a-et-b/hemophilie-a-et-b/> (consulté le 25 avril 2017).

⁶¹ L'injection régulière de facteur IX débutant après la première hémarthrose ou avant l'âge de 2 ans [Franchini, 2014].

modifiés. De plus en plus de patients atteints d'hémophilie B sévère sont maintenant traités avec ces concentrés recombinants modifiés⁶². Les concentrés recombinants de facteur IX présentement offerts au Québec sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 Liste des différents concentrés recombinants de facteur IX offerts au Québec pour le traitement de l'hémophilie B

DISTRIBUTEUR	CONCENTRÉ RECOMBINANT	STRUCTURE
Héma-Québec	BeneFIX ^{MC}	Facteur IX recombinant, pleine longueur (rFIX)
	Rixubis ^{MC}	Facteur IX recombinant, pleine longueur (rFIX)
	Alprolix ^{MC}	Facteur IX recombinant, fusionné avec le fragment Fc des immunoglobulines (rFIX-Fc)

Source : données tirées du site Web d'Héma-Québec (www.hema-quebec.qc.ca) (consulté le 27 avril 2017).

Les patients traités avec des concentrés de facteur de coagulation peuvent développer des anticorps contre le facteur IX. La prévalence est d'environ 3 % à 5 % [Franchini, 2014; Fields *et al.*, 2001]. Le développement de tels anticorps est une complication sévère qui peut causer une réaction allergique, un choc anaphylactique ou un syndrome néphrotique [Franchini, 2014; DiMichele, 2007]. Ces anticorps interfèrent avec le dosage du facteur IX par la méthode chromométrique en un temps [Ruinemans-Koerts *et al.*, 2010].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime qu'environ 80 analyses sont effectuées annuellement au Québec et que ce nombre augmentera de manière considérable dans les prochaines années avec l'arrivée sur le marché d'autres concentrés de remplacement structurellement modifiés.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, au Québec, la méthode chromométrique en un temps est utilisée pour établir le diagnostic et pour effectuer le suivi des patients traités. Cette analyse est inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, ci-après nommé *Répertoire*, pour la période 2016-2017 sous le code 20082 avec une VP de 5,4.

Selon l'expérience de plusieurs instances compétentes en analyses diagnostiques (IEQAS, UK NEQAS, ECAT, RCPAQAP et CAP)⁶³ [Favaloro *et al.*, 2014; Jennings *et al.*, 2009] et un sondage des pratiques courantes [Kitchen *et al.*, 2015], la majorité des laboratoires cliniques utilisent actuellement la méthode chromométrique en un temps pour le diagnostic et le suivi de l'hémophilie B.

Le dosage des facteurs de coagulation par la méthode chromométrique en un temps a été décrit pour la première fois en 1953 [Biggs et Douglas, 1953]. Cette technique

⁶² Héma-Québec. Faits saillants, disponible à : http://www.hema-quebec.qc.ca/userfiles/file/media/francais/publications/ra_bilan_2004.pdf (consulté le 19 mai 2017).

⁶³ Abréviations : IEQAS (Programme international d'évaluation externe de la qualité), UK NEQAS (National External Quality Assessment Service), ECAT (External quality Control of diagnostic Assays and Tests), RCPAQAP (Royal College of Pathologists of Australasia Quality Assurance Programs), CAP (College of American Pathologists).

mesure la capacité d'un échantillon de plasma à raccourcir l'APTT (Activated Partial Thromboplastin Time) d'un plasma déficient en facteur IX [Mackie *et al.*, 2013; Kitchen *et al.*, 2010].

Les principaux obstacles à la méthode chronométrique en un temps résident dans l'hétérogénéité des méthodes disponibles et la variabilité intra et interlaboratoire élevée expliquée par la centaine de combinaisons possibles entre les réactifs APTT et les activateurs de la coagulation disponibles, sans parler des différents standards de calibration et des appareils de détection utilisés [Kitchen *et al.*, 2017; Kitchen *et al.*, 2015; Barrowcliffe, 2013; Pouplard *et al.*, 2009].

Cette variabilité du dosage chronométrique en un temps peut mener à une sous-estimation de 30 à 50 % de la concentration en facteur IX recombinant par rapport à la méthode chromogène, alors que cette dernière donne des résultats beaucoup plus homogènes et plus près des valeurs attendues [Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2016; Kitchen *et al.*, 2014; Wilmot *et al.*, 2014].

Malgré cette variabilité rapportée, les méthodes chromogène et chronométrique en un temps sont généralement comparables en termes de résultats en ce qui concerne le dosage du facteur IX endogène de même que dans le plasma de patients traités avec des facteurs de coagulation dérivés du plasma. Cependant, des discordances de plus grande envergure ont été mises en évidence entre ces deux méthodes lorsqu'il s'agit de déterminer la concentration plasmatique du facteur IX chez des patients traités avec des produits de remplacement recombinants dont la structure a subi des modifications [Kitchen *et al.*, 2017; Dodt *et al.*, 2015; Human Medicines Development and Evaluation, 2014; Kitchen *et al.*, 2014; Barrowcliffe, 2010].

4.5 Données médico-administratives

L'analyse chromogène ne remplacera pas l'analyse chronométrique en un temps déjà au *Répertoire*. Aucune mention ou statistique de production pour cette analyse.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

L'analyse chromogène viendra raffiner la méthode de dosage des concentrés recombinants structurellement modifiés spécifiquement lors des suivis de traitements. Selon le demandeur, cette nouvelle analyse répond à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement. Les avantages de l'analyse proposée sont :

- Favoriser une méthode de dosage plus précise et spécifique que la méthode chronométrique en un temps actuellement utilisée pour déterminer la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés de facteur IX;
- Offrir aux patients traités avec des concentrés recombinants structurellement modifiés de facteur IX un meilleur ajustement de leur médication;
- Offrir l'analyse localement.

4.7 Assurance qualité

Le centre demandeur effectue un contrôle de la qualité par un dosage du facteur IX sur des plasmas témoins lyophilisés STA-System^{MC} Control N et P (normal et pathologique) à chaque analyse d'un échantillon provenant d'un patient. Les valeurs de référence des

plasmas témoins sont déterminées par la compagnie et sont inscrites dans le manuel de l'utilisateur qui accompagne chacune des trousse.

Le demandeur se réserve aussi la possibilité d'utiliser le mélange de plasmas de référence du facteur IX établi par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) si un problème de calibration est décelé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Bien que le centre demandeur ne propose pas l'analyse chromogène pour établir le diagnostic, une étude primaire a été repérée dans laquelle Kihlberg et ses collaborateurs [Kihlberg *et al.*, 2017] ont mesuré le facteur IX dans 50 échantillons de plasmas de patients atteints d'hémophilie B avec les méthodes chromogène et chromométrique en un temps. Les résultats obtenus par les deux méthodes ont permis de diagnostiquer les 6 patients atteints d'hémophilie sévère. Parmi les 44 autres échantillons appartenant à des patients atteints d'hémophilie légère à modérée, des résultats erronés ont été obtenus pour 15 d'entre eux avec la méthode chromométrique en un temps. Quatorze de ces 15 patients présentaient des mutations dans le gène *F9*. Le mécanisme par lequel ces mutations interfèrent avec l'analyse chromométrique en un temps est à ce jour inconnu. Les auteurs concluent que la méthode chromogène devrait être utilisée pour préciser le diagnostic.

5.2 Valeur pronostique

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

5.3 Valeur thérapeutique

Bien que l'analyse chromogène puisse revêtir une valeur thérapeutique, aucune étude n'est présentée dans cette section étant donné la rareté des articles publiés et révisés par les pairs.

5.4 Validité analytique

Dosages comparatifs des différents produits de remplacement

La recherche documentaire a permis de repérer deux études évaluant les méthodes de dosage chromogène et chromométrique en un temps des concentrés recombinants présentant différentes modifications structurales [Sommer *et al.*, 2014; Wilmot *et al.*, 2014]. L'étude de Wilmot [2014] porte sur la comparaison du dosage d'un concentré recombinant et d'un produit dérivé du plasma alors que l'étude de Sommer [2014] compare le dosage d'un concentré recombinant pleine longueur à un concentré fusionné avec le fragment Fc des immunoglobulines. Ces études sont résumées à l'annexe A.

Wilmot et ses collaborateurs [2014] ont mené une étude collaborative dans le cadre du remplacement du 3^e standard international de l'OMS⁶⁴ pour le facteur IX. Différents

⁶⁴ Lot de l'étalon international de concentré de facteur IX distribué par l'Organisation mondiale de la Santé.

lots de concentrés recombinants et de concentrés dérivés du plasma ont été analysés à diverses concentrations. Les laboratoires effectuant les analyses ont tous utilisé les mêmes réactifs APTT et les deux laboratoires parmi les 30 qui ont procédé au test chromogène ont employé la trousse Biophen FIX^{MC}. Toutes les analyses ont été réalisées avec le même standard de référence pour un concentré de facteur IX recombinant et le 4^e standard international de l'OMS ainsi que le même appareil de détection. Les auteurs ont constaté que lorsque le 4^e standard de l'OMS est utilisé, la performance du test chromogène est inférieure à celle du test chromométrique en un temps pour le dosage du concentré recombinant (tableau 2).

Tableau 2 Comparaison du dosage du facteur IX d'un dérivé de plasma et d'un concentré recombinant par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps avec deux standards

DOSAGE COMPARATIF SELON LA MÉTHODE ET LE STANDARD	4 ^e STANDARD DE L'OMS		RÉFÉRENCE FIX	
	DÉRIVÉ DU PLASMA (100 UI/dl)	rFIX (100 UI/dl)	DÉRIVÉ DU PLASMA (100 UI/dl)	rFIX (100 UI/dl)
Méthode chromométrique en un temps (UI/ml)	91	108	118	107
Méthode chromogène (UI/ml)	99	83	97	98
Valeur de p	> 0,05	< 0,002	0,027	> 0,05
% CV*	1,8-5,1	19,1-23,8	16,3-34,4	4,0-7,9

Source : Wilmot *et al.*, 2014.

Abréviation : OMS : Organisation mondiale de la Santé; rFIX : concentré recombinant de facteur IX; UI : unité internationale; dl : décilitre, CV : coefficient de variation.

* Coefficient de variation géométrique entre les deux méthodes.

Dans cette étude, les auteurs mettent en relief l'importance de faire progresser l'harmonisation des normes de référence et l'uniformité des réactifs dans un souci d'améliorer la précision globale de la mesure des produits recombinants de facteur IX.

Sommer et ses collègues [2014] ont réalisé une étude internationale multicentrique ayant comme objectif principal d'élucider les causes de la variabilité de la méthode de dosage chromométrique en un temps accomplie de routine par chacun des laboratoires impliqués. À titre comparatif, ils ont aussi fait un dosage chromogène des échantillons de référence aux trois concentrations. Les laboratoires effectuant les analyses chromométriques en un temps ont tous employé le 4^e standard international de l'OMS mais chacun a utilisé ses propres réactifs APTT. La trousse Biophen FIX^{MC} a servi pour les dosages chromogènes. Des échantillons de plasmas issus de patients souffrant d'hémophilie B sévère ont été enrichis de trois concentrations connues de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC}. Le coefficient de variation intralaboratoire pour les dosages chromométriques en un temps de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC} grimpaient jusqu'à 40 % alors que celui représentant la variabilité interlaboratoire passait de 12 % à 30% pour BeneFIX^{MC} et de 26 % à 44 % pour Alprolix^{MC} (tableau 3).

Tableau 3 Dosage de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC} par la méthode chronométrique en un temps

FACTEUR IX	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	MÉTHODE EN UN TEMPS (UI/dl)	% VALEUR ATTENDUE	% CV INTRA-LABORATOIRE (n = 3)	% CV INTER-LABORATOIRE (30 laboratoires)
BeneFIX^{MC}	80	96,6	121	0-25,0	12,1
	20	28,9	144	0-21,4	19,7
	5	8,4	168	0-39,8	29,8
Alprolix^{MC} (domaine B, protéine de fusion)	80	70,7	88	0-18,4	26,3
	20	21,4	107	1,4-20,9	35,5
	5	6,6	132	0-36,7	44,1

Source : Sommer *et al.*, 2014.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation; n : nombre d'expériences indépendantes.

La variabilité observée parmi les laboratoires effectuant les dosages chronométriques en un temps sont tributaires des réactifs APTT utilisés, surtout les activateurs. Des valeurs comparables ont été obtenues pour les deux concentrés avec l'acide ellagique alors que les valeurs ont été sous-estimées avec la silice et davantage avec le kaolin. En excluant les résultats des dosages utilisant le kaolin, plus de 90 % des laboratoires rapportent des résultats à l'intérieur de 30 % des valeurs attendues pour la méthode chronométrique en un temps.

En ce qui concerne la méthode chromogène, BeneFIX^{MC} présentait des valeurs de dosage significativement réduites par rapport aux résultats d'analyse chronométrique en un temps, alors que les résultats pour Alprolix^{MC} étaient plus près des valeurs attendues (tableau 4).

Tableau 4 Dosage de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC} par la méthode chromogène

FACTEUR IX	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	MÉTHODE CHROMOGÈNE (UI/dl) (n = 3)	% DE LA VALEUR ATTENDUE
BeneFIX^{MC}	80	76,3 ± 3,1	95
	20	15,4 ± 1,2	77
	5	3,1 ± 0,7	62
Alprolix^{MC} (domaine B, protéine de fusion)	80	80,8 ± 7,2	101
	20	18,7 ± 2,0	94
	5	4,2 ± 0,5	84

Source : Sommer *et al.*, 2014.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; n : nombre d'expériences indépendantes.

À la lumière des résultats obtenus avec la méthode chronométrique en un temps, les auteurs concluent que la variété des réactifs APTT utilisés pour doser les concentrés ainsi que les différentes méthodologies et normes de référence utilisées contribuent à générer une grande variabilité interlaboratoire dans une majorité de cas. Les résultats de cette étude suggèrent même que pour certains sites où les analyses chronométriques en un temps ont été effectuées, les résultats de dosage obtenus ne devraient pas être considérés pour ajuster la médication car la variabilité et la non-linéarité élevées observées entre les deux méthodes de dosage pour BeneFIX^{MC} et Alprolix^{MC} peuvent rendre les calculs de dose erronés.

Comparaison des trousses

Bowyer et ses collaborateurs [Bowyer *et al.*, 2016] ont mené une étude qui visait notamment à comparer l'efficacité de dix méthodes commerciales de dosage chromométrique en un temps et de deux trousses chromogènes, Biophen FIX^{MC} et Rox Factor IX^{MC}. Des échantillons de plasmas provenant de patients atteints d'hémophilie B sévère enrichis de quatre concentrations connues de BeneFIX^{MC} et d'un concentré dérivé du plasma ont été testés avec les deux méthodes de dosage incluant toutes deux le 4^e standard international de l'OMS. Les résultats obtenus pour le concentré BeneFIX^{MC} avec la trousse Rox Factor IX^{MC} étaient très près des valeurs attendues alors qu'avec la trousse Biophen FIX^{MC} les concentrations les plus faibles ont été sous-estimées (tableau 5).

Tableau 5 Dosage d'un dérivé du plasma et de BeneFIX^{MC} avec deux trousses chromogènes

TROUSSE CHROMOGÈNE*	FACTEUR IX	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	DOSAGE† (UI/dl) (n = 3)	% VALEUR ATTENDUE
Biophen FIX ^{MC}	Dérivé du plasma	79	89 (85-94)	112
		52	62 (58-66)	117
		17	18 (17-20)	95
		2,6	3 (3-3)	102
	BeneFIX ^{MC}	87	67 (65-71)	77
		58	42 (41-44)	73
		19	12 (11-13)	62
		2,9	2 (1-2)	52
Rox Factor IX ^{MC}	Dérivé du plasma	79	96 (77-30)	121
		52	55 (48-59)	104
		17	17 (15-19)	94
		2,6	4 (3-4)	133
	BeneFIX ^{MC}	87	69 (63-74)	79
		58	49 (46-52)	85
		19	14 (12-17)	73
		2,9	5 (2-8)	104

Source : Bowyer *et al.*, 2016.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; n : nombre d'échantillons par expérience.

* Un seul laboratoire a analysé les échantillons avec les deux trousses.

† Moyenne des dosages de trois expériences indépendantes (gamme des résultats).

Les auteurs concluent que, malgré la variabilité observée, les méthodes chromogène et chromométrique en un temps peuvent doser de manière appropriée le facteur IX du dérivé du plasma et du concentré BeneFIX^{MC}. Selon les auteurs, les deux trousses chromogènes à l'étude sont adéquates.

Trousse Biophen FIX^{MC} de la compagnie Hyphen BioMed

Sensibilité : La limite de détection est inférieure à 2 % pour le spectre de concentrations élevées et inférieure à 0,5 % pour le spectre de concentrations faibles.

Précision : La répétabilité de la trousse, c'est-à-dire la variabilité intra-essai, montre un coefficient de variation de 1,2 % pour des échantillons normaux⁶⁵ et de 2,4 % pour des échantillons ayant un déficit en facteur IX. La reproductibilité, soit la variabilité inter-essai se situe entre 4,9 % et 6,2 % pour des échantillons normaux et entre 5,6 % et 6,4 % pour des échantillons déficitaires en facteur IX (tableau 6).

Tableau 6 Données de précision de la trousse Biophen FIX^{MC}

ÉCHANTILLON	SPECTRE DES CONCENTRATIONS ÉLEVÉES			SPECTRE DES CONCENTRATIONS FAIBLES					
	INTRA-ESSAI			INTER-ESSAI			INTER-ESSAI		
	n	% FIX	% CV	n	% FIX	% CV	n	% FIX	% CV
Normal	30	85,7	1,2	80	83,1	4,9	80	8,3	6,2
Déficitaire en facteur IX	30	36,5	2,4	80	35,7	5,6	80	3,6	6,4

Source : Tableau adapté du manuel de l'utilisateur fourni par Hyphen BioMed [2016].

Abréviations : n : nombre d'échantillons; FIX : facteur IX; CV : coefficient de variation.

Les performances analytiques de la trousse sont rapportées plus en détails dans le manuel de l'utilisateur fourni par le fabricant [Hyphen BioMed, 2016].

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur n'a pas été en mesure de fournir des données de validation.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur IX par méthode chromogène. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 7. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée par le demandeur cible des patients atteints d'hémophilie B sévère recevant un facteur IX qualifié de longue action (par exemple, associé à une protéine de fusion ou pégylé) par les experts consultés.
- Selon la base de données du registre canadien de l'hémophilie de l'Université McMaster, il est anticipé que 40, 40 et 41 patients⁶⁶ seront atteints d'hémophilie B sévère au Québec au cours des trois prochaines années, respectivement.
- L'analyse serait effectuée pour assurer le suivi des concentrations du

⁶⁵ La valeur du taux de facteur IX dite normale est en général entre 70 % et 130 % alors que celle des hémophiles est inférieure à 25 %. Ces valeurs de référence sont données à titre informatif uniquement puisque la courbe d'étalonnage doit être réalisée par chaque laboratoire afin d'établir ses propres valeurs relatives [Hyphen BioMed, 2016].

⁶⁶ Cela tient compte d'une augmentation du nombre de patients équivalente au taux de croissance de la population québécoise en 2015, soit de 0,61 %. Ceci étant basé sur la plus récente mise à jour de l'Institut de la statistique du Québec.

facteur IX à raison d'une à deux fois par année et plus fréquemment lors d'accidents ou de chirurgies majeures.

- L'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 51,14.
- Les coûts liés à une modification de la prise en charge des patients, notamment en ajustement posologique, à la suite de cette analyse n'ont pas été considérés par manque de données scientifiques.
- Selon les données du MSSS, le traitement des patients atteints d'hémophilie B sévère au Québec est presque exclusivement réalisé à l'aide d'agents à courte action, dont le dosage est effectué par analyse chromométrique en un temps. L'usage des produits à action prolongée est actuellement rare. Il est toutefois anticipé que ces produits prendront progressivement une faible part de marché.
- Ainsi, il est anticipé que 12, 14 et 14 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement. Une diminution équivalente du nombre d'analyses chromométriques en un temps est prévue pour cette période.

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur IX par méthode chromogène

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses par méthode chromogène	12	14	14	40
Coûts	614 \$	716 \$	716 \$	2 046 \$
Analyses par méthode chromométrique en un temps	12	14	14	40
Coûts	65 \$	76 \$	76 \$	217 \$
Impact net	549 \$	640 \$	640 \$	1 829 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			457 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			2 744 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur IX par méthode chromogène pourrait générer des coûts d'environ 1 800 \$ pour le total des trois premières années. Cela inclut une diminution d'un nombre équivalent d'analyses chromométriques en un temps (code : 20082, VP : 5,4) générant une réduction de coûts d'environ 200 \$. Par ailleurs, advenant que la méthode chromogène puisse permettre un dosage plus adéquat, le nombre d'unités de concentré de facteur utilisé pourrait être optimisé et cela pourrait influencer les coûts de traitement.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Présentement, les trousses commerciales standardisées et homologuées à des fins de diagnostic disponibles pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur IX sont peu nombreuses en plus d'être dispendieuses et nécessitent un appareillage particulier ainsi que du personnel de laboratoire qualifié pour effectuer ce type d'analyses [Kitchen *et al.*, 2016]. Les enjeux organisationnels dépendent donc du déploiement des nouveaux produits de remplacement structurellement modifiés à venir.

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

Le MASAC (Medical and Scientific Advisory Council) du NHF (National Hemophilia Foundation) recommande que les laboratoires qui effectuent de routine des analyses pour déterminer la concentration plasmatique de facteurs de coagulation à partir d'échantillons de patients atteints d'hémophilie A et B considèrent l'application de la méthode chromogène lorsqu'elle est disponible et approuvée par les autorités locales [Kitchen *et al.*, 2016; Medical and scientific advisory council, 2014].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détermination de la concentration du facteur IX par méthode chromogène

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 comité recommande une introduction conditionnelle à la production de données locales de vérification de la trousse.

ANNEXE A : Tableau de comparaison des méthodes de dosage chromogène et chronométrique en un temps des différents concentrés de facteur ix offerts au Québec

AUTEUR	ÉTUDE ET OBJECTIF	ÉCHANTILLONS	CONCENTRÉ (STRUCTURE)	TEST CHROMOGÈNE	TEST CHRONO EN UN TEMPS	VARIABILITÉ INTRA-LABORATOIRE (% CV)		VARIABILITÉ INTER-LABORATOIRE (% CV)		CONCLUSION
						Chromogène	Chrono en un temps	Chromogène	Chrono en un temps	
Facteur IX recombinant, pleine longueur (rFIX)										
[Wilmot et al., 2014]	Étude comparative (30 laboratoires dont 2 effectuant le test chromogène) des deux méthodes pour le dosage d'un concentré recombinant (rFIX) et d'un produit dérivé du plasma (pdFIX)	Produits de remplacement de concentration connue	rFIX	Standard : 4 ^e standard de l'OMS ou la référence rFIX Trousse Biophen FIX ^{MC} Instrument : ACL TOP 500	Standard : 4 ^e standard de l'OMS ou la référence rFIX Réactifs APTT : APTT-SP, SynthAFax, Actin FS Instrument : ACL TOP 500	s.o.	19-24% pour rFIX et 2-5% pour pdFIX lorsque le 4 ^e standard de l'OMS est utilisé 4-8% pour rFIX et 16-34% pour pdFIX lorsque la référence rFIX est utilisé	s.o.	s.o.	Une différence significative est observée entre les deux méthodes pour le dosage du rFIX lorsque que le 4 ^e standard de l'OMS est utilisé, alors que les résultats pour le pdFIX sont similaires. L'inverse se produit lorsque la référence rFIX est utilisée comme standard. Lorsque le 4 ^e standard de l'OMS est utilisé, la performance du test chromogène est inférieure à celle du test chronométrique en un temps. Leur performance redevient similaire lorsque la référence du rFIX est utilisée.
Facteur IX recombinant, lié au domaine FC des immunoglobulines (rFIX-Fc)										
[Sommer et al., 2014]	Étude internationale multicentrique (30 laboratoires et 7 pays) avec objectif d'élucider les causes de la variabilité du dosage chronométrique en un temps utilisé de routine	Plasmas de patients atteints d'hémophilie B sévère enrichis de 3 concentrations connues de BeneFIX ^{MC} ou Alprolix ^{MC}	BeneFIX ^{MC} (rFIX) Alprolix ^{MC} (rFIX-Fc)	4 ^e standard de l'OMS Trousse Biophen FIX ^{MC} Instrument : SpectraMax M5	4 ^e standard de l'OMS ou le standard Precision Biologic Différents réactifs APTT et différents instruments utilisés selon les laboratoires	s.o.	Jusqu'à 40% pour BeneFIX ^{MC} Jusqu'à 37% pour Alprolix ^{MC}	s.o.	12-30% pour BeneFIX ^{MC} 26-44% pour Alprolix ^{MC} (variabilité significative)	Dépendance aux activateurs observée : valeurs comparables pour les deux concentrés avec l'acide ellagique, valeurs sous-estimées avec la silice et davantage avec la kaolin. En excluant les valeurs avec la kaolin, plus de 90 % des laboratoires rapportent des valeurs de dosage à l'intérieur de 30 % des valeurs attendues.

Abréviations : CV : coefficient de variation; rFIX : facteur IX recombinant; pdFIX : facteur IX dérivé du plasma; OMS : Organisation mondiale de la Santé; APTT : *Activated Partial Thromboplastin Time*; s.o. : sans objet; rFIX-Fc : facteur IX recombinant lié au domaine Fc des immunoglobulines.

RÉFÉRENCES

- Barrowcliffe TW. Laboratory testing and standardisation. *Haemophilia* 2013;19(6):799-804.
- Barrowcliffe TW. Insights from factor IX activation studies with chromogenic assays: Implications of disparate product results. *Haemophilia* 2010;16(Suppl 6):9-12.
- Biggs R et Douglas AS. The thromboplastin generation test. *J Clin Pathol* 1953;6(1):23-9.
- Bowyer AE, Van Veen JJ, Goodeve AC, Kitchen S, Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013;98(12):1980-7.
- Committee for medicinal products for human use (CHMP). Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor VIII products. EMA/CHMP/BPWP/144533/2009 rev.1. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2016. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/02/WC500201773.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- DiMichele D. Inhibitor development in haemophilia B: An orphan disease in need of attention. *Br J Haematol* 2007;138(3):305-15.
- Dodt J, Hubbard AR, Wicks SJ, Gray E, Neugebauer B, Charton E, Silvester G. Potency determination of factor VIII and factor IX for new product labelling and postinfusion testing: Challenges for caregivers and regulators. *Haemophilia* 2015;21(4):543-9.
- Duan X, Tang M, Zhang J, Yu H, Xu R. Promising coagulation factor VIII bypassing strategies for patients with haemophilia A. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014;25(6):539-52.
- Favaloro EJ, Verbruggen B, Miller CH. Laboratory testing for factor inhibitors. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):94-8.
- Fields PA, Arruda VR, Armstrong E, Chu K, Mingozzi F, Hagstrom JN, et al. Risk and prevention of anti-factor IX formation in AAV-mediated gene transfer in the context of a large deletion of F9. *Mol Ther* 2001;4(3):201-10.
- Franchini M. Current management of hemophilia B: Recommendations, complications and emerging issues. *Expert Rev Hematol* 2014;7(5):573-81.
- Human Medicines Development and Evaluation. Workshop report: Characterisation of new clotting factor concentrates (FVIII, FIX) with respect to potency assays used for labelling and testing of post infusion samples. EMA/135928/2014. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2014. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2014/07/WC500169760.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- Hyphen BioMed. Biophen FIX (Ref 221802). Méthode chromogène pour dosage du Facteur IX sur plasma ou concentrés thérapeutiques. Neuville-sur-Oise, France : Hyphen BioMed; 2016. Disponible à : http://www.hyphen-biomed.com/images/Notices/BI-BIOPHEN/FR-D750-01/01-1802_FIX%202-5ml.pdf (consulté le 11 mai 2017).

- Jennings I, Kitchen DP, Woods TA, Kitchen S, Walker ID, Preston FE. Laboratory performance in the World Federation of Hemophilia EQA programme, 2003-2008. *Haemophilia* 2009;15(2):571-7.
- Kihlberg K, Strandberg K, Rosen S, Ljungs R, Astermark J. Discrepancies between the one-stage clotting assay and the chromogenic assay in haemophilia B. *Haemophilia* 2017;23(4):620-7.
- Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor activity assays for monitoring extended half-life FVIII and Factor IX replacement therapies. *Semin Thromb Hemost* 2017;43(3):331-7.
- Kitchen S, Blakemore J, Friedman KD, Hart DP, Ko RH, Perry D, et al. A computer-based model to assess costs associated with the use of factor VIII and factor IX one-stage and chromogenic activity assays. *J Thromb Haemost* 2016;14(4):757-64.
- Kitchen S, Signer-Romero K, Key NS. Current laboratory practices in the diagnosis and management of haemophilia: A global assessment. *Haemophilia* 2015;21(4):550-7.
- Kitchen S, Gray E, Mertens K. Monitoring of modified factor VIII and IX products. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):36-42.
- Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. Le diagnostic de l'hémophilie et des autres troubles de coagulation – Manuel de laboratoire. Deuxième édition. Montréal, Qc : Fédération mondiale de l'hémophilie (FMH); 2010. Disponible à : <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1285.pdf> (consulté le 3 mai 2017).
- Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2013;35(1):1-13.
- National Hemophilia Foundation (NHF). MASAC statement regarding use of various clotting factor assays to monitor factor replacement therapy. MASAC Document #228. New York, NY : NHF; 2014. Disponible à : <https://www.hemophilia.org/sites/default/files/document/files/masac-228.pdf> (consulté le 3 mai 2017).
- Pouplard C, Trossaert M, Le Querrec A, Delahousse B, Giraudeau B, Gruel Y. Influence of source of phospholipids for APTT-based factor IX assays and potential consequences for the diagnosis of mild haemophilia B. *Haemophilia* 2009;15(1):365-8.
- Ruinemans-Koerts J, Peterse-Stienissen I, Verbruggen B. Non-parallelism in the one-stage coagulation factor assay is a phenomenon of lupus anticoagulants and not of individual factor inhibitors. *Thromb Haemost* 2010;104(5):1080-2.
- Sommer JM, Buyue Y, Bardan S, Peters RT, Jiang H, Kamphaus GD, et al. Comparative field study: Impact of laboratory assay variability on the assessment of recombinant factor IX Fc fusion protein (rFIXFc) activity. *Thromb Haemost* 2014;112(5):932-40.
- Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1-47.
- Wilmot HV, Hogwood J, Gray E. Recombinant factor IX: Discrepancies between one-stage clotting and chromogenic assays. *Haemophilia* 2014;20(6):891-7.

World Federation of Hemophilia. Report on the annual global survey 2015. Montréal, Qc :
World Federation of Hemophilia; 2016. Disponible à :
<http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1669.pdf> (consulté le 3 mai 2017).

DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION DU FACTEUR VIII PAR MÉTHODE CHROMOGÈNE (RÉFÉRENCE - 2017.01.010)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Jean Saint-Louis, (Hématologue et oncologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont);
- D^{re} Stéphanie Cloutier, (Hématologue, CHA Enfant-Jésus).

2 RÉSUMÉ

L'hémophilie A est une maladie génétique récessive liée au chromosome X caractérisée par un déficit congénital en facteur VIII de coagulation. Ce déficit se traduit par un temps de coagulation prolongé menant à de fréquents épisodes de saignements aux articulations (hémarthroses) et aux tissus mous.

L'analyse chromogène est une méthode de dosage en deux temps qui permet de déterminer la concentration d'un facteur VIII antihémophilique recombinant structurellement modifié lors du suivi des patients atteints d'hémophilie A traités pour un déficit en facteur VIII de coagulation.

Des études montrent que les résultats du dosage chromogène sont plus près des valeurs de référence attendues et que cette analyse détermine avec sensibilité, précision et reproductibilité la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés.

L'analyse proposée consiste en une trousse commerciale homologuée. Les données fournies par le fabricant de la trousse indiquent que la répétabilité des résultats se situe entre 2,4 % et 3,0 % et que leur reproductibilité se situe entre 2,1 % et 5,9 %.

L'introduction de l'analyse au *Répertoire* selon le profil d'usage actuel des facteurs VIII se traduirait par une économie estimée à 2 400 \$ pour les trois premières années. D'autres scénarios ont été envisagés où l'introduction de l'analyse au *Répertoire* en fonction d'une augmentation faible et importante du marché des facteurs VIII à longue action pourrait engendrer des économies d'environ 164 000 \$ pour les trois premières années.

L'utilisation d'équipements de laboratoire spécifiques et la nécessité d'avoir un personnel de laboratoire qualifié pour l'exécution des analyses engendrent des coûts importants associés à l'emploi des trousses commerciales pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur VIII.

Le MASAC (Medical and Scientific Advisory Council) du NHF (National Hemophilia Foundation), l'EMA (European Medicines Agency), ainsi que la Pharmacopée Européenne favorisent l'utilisation de la méthode chromogène pour déterminer la concentration plasmatique du facteur VIII dans un contexte de suivi de patients traités avec des concentrés antihémophiliques recombinants.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Détermination, par la méthode chromogène, de la concentration d'un facteur VIII antihémophilique recombinant structurellement modifié lors du suivi des patients atteints d'hémophilie A traités pour un déficit en facteur VIII de coagulation.

Les personnes atteintes d'hémophilie A traitées avec des concentrés de facteur VIII doivent faire régulièrement l'objet d'un suivi afin de veiller à ce que la concentration ciblée en facteurs de coagulation en circulation soit atteinte et apporter toute modification nécessaire au plan thérapeutique⁶⁷.

3.2 Description de la méthode

La méthode chromogène est une méthode en deux étapes qui mesure la concentration plasmatique du facteur VIII. Cette technique exploite la capacité du facteur VIII à agir comme cofacteur dans l'activation du facteur X.

Dans un premier temps, l'échantillon à tester est incubé en présence de thrombine, de phospholipides, de calcium et du facteur IX activé. Tous les composants sont alors en excès dans le milieu réactionnel, excepté le facteur VIII qui constitue l'élément limitant de la réaction. Un complexe est ensuite formé avec les facteurs VIII et IX activés et les phospholipides. Dans un second temps, ce complexe active le facteur X. Du facteur X activé est alors généré en quantité proportionnelle à la quantité du complexe FVIII-FIX-phospholipides contenu dans l'échantillon. Le facteur X activé entraîne le clivage d'un substrat chromogène et l'apparition d'une coloration induite par la libération de p-nitroaniline qui est mesurée par densité optique à la longueur d'onde de 405 nm tel que l'illustre la figure 1.

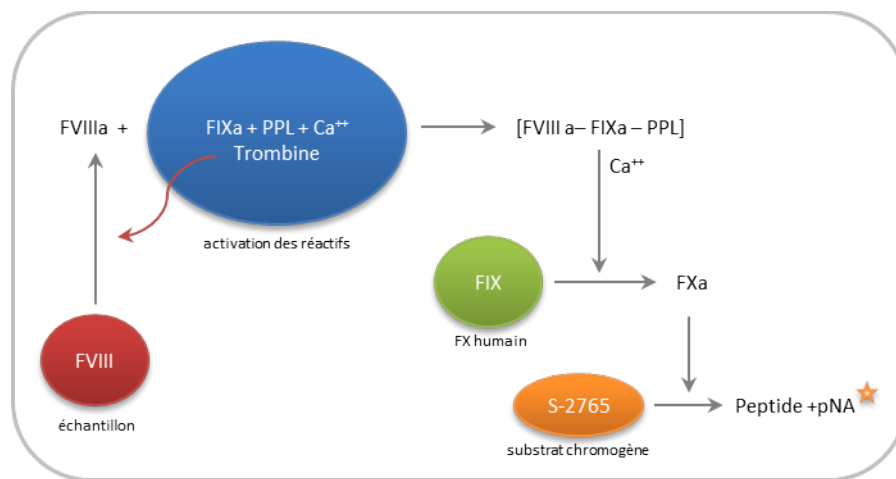


Figure 1 Principe de la méthode chromogène pour le dosage du facteur VIII

Source : Figure adaptée de Nodia BV. Biophen FIX [site Web], disponible à :

<http://www.nodia.be/site/haemostasis/biophen-factor-viii/> (consulté le 25 avril 2017).

Abréviations : FVIII : facteur VIII; FVIIIa : facteur VIII activé; FIXa : facteur IX activé; PPL : phospholipides; Ca⁺⁺ : calcium; FX : facteur X; FXa : facteur X activé; S-2765 : substrat chromogène pour le facteur X activé; pNA : p-nitroaniline.

⁶⁷ Fédération mondiale de l'hémophilie. Troubles de coagulation [site Web], disponible à : <https://www.wfh.org/fr/abd/prophylaxis/prophylaxie-suivi-des-resultats> (consulté le 25 avril 2017).

Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront effectués dans divers établissements de santé du Québec ou hors Québec. Après avoir effectué la partie préanalytique, les échantillons seront acheminés au laboratoire d'hémostase au Centre de référence québécois des inhibiteurs de la coagulation, le CHU Sainte-Justine.

La trousse Coamatic Factor VIII^{MC} de la compagnie Chromogenix utilise la méthode chromogène pour mesurer la concentration plasmatique de facteur VIII endogène humain ou issu de concentrés et préconise l'utilisation d'un mode cinétique automatisé mais permet aussi l'utilisation d'un mode point par point manuel. Le demandeur utilise la méthode chromogène automatisée dans son laboratoire.

3.3 Société ou concepteur

Chromogenix

3.4 Homologation

La trousse Coamatic Factor VIII^{MC} de la compagnie Chromogenix a été homologuée par Santé Canada le 24 août 1999 (no. 10442) ainsi que par la FDA (Food and Drug Administration) le 16 avril 1998 (no. K981038) et respecte les normes de la CE (Conformité Européenne).

3.5 Valeur pondérée : 23,14

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients atteints d'hémophilie A et traités avec des concentrés recombinants structurellement modifiés pour un déficit en facteur VIII de coagulation.

4.2 Description de la maladie visée

L'hémophilie A est une maladie génétique récessive liée au chromosome X caractérisée par un déficit congénital en facteur VIII de coagulation. Sa prévalence est de moins d'une personne sur 10 000⁶⁸, soit 3 110 Canadiens en 2016 [World Federation of Hemophilia, 2016]. Il s'agit de l'hémophilie dite classique puisqu'elle constitue la forme la plus commune de déficit en facteurs de coagulation. Ce déficit se traduit par un temps de coagulation prolongé menant à de fréquents épisodes de saignements aux articulations (hémarthroses) et aux tissus mous [Duan et al., 2014]. Le déficit en facteur VIII est qualifié de sévère, modéré ou léger lorsque le taux plasmatique mesuré est respectivement : inférieur à 1 %, entre 1 % et 5 % et entre 6 % et 30 %, et ce, comparativement aux personnes sans trouble de la coagulation. Considérant l'ensemble des cas avec un déficit congénital en facteur VIII, 50% ont un déficit sévère, 10% à 20% un déficit modéré et 30% à 40% un déficit léger⁶⁹.

La prise en charge des patients atteints d'hémophilie A sévère inclut le traitement épisodique et la prophylaxie au moyen de facteur VIII de remplacement [Srivastava *et al.*,

⁶⁸ Société canadienne de l'hémophilie. Hémophilie A et B [site Web], disponible à : <http://www.hemophilia.ca/fr/troubles-de-la-coagulation/hemophilie-a-et-b/hemophilie-a-et-b/> (consulté le 25 avril 2017).

⁶⁹ Encyclopédie Orphanet Grand Public. L'hémophilie. Disponible à : <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Hemophilie-FRfrPub646.pdf> (consulté le 4 mai 2017).

2013]. La demi-vie du facteur VIII est d'une heure comparativement à 12 heures lorsque 95 % du facteur VIII est lié au facteur de von Willebrand (FvW) [Pipe *et al.*, 2016; Oldenburg et Albert, 2014]. Diverses stratégies ont été développées pour accroître la durée d'action des facteurs de coagulation de remplacement, dont les concentrés de facteur VIII recombinants structurellement modifiés. De plus en plus de patients atteints d'hémophilie A sévère sont maintenant traités avec ces concentrés recombinants modifiés⁷⁰. Les concentrés recombinants de facteur VIII présentement offerts au Québec sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 Liste des différents concentrés recombinants de facteur VIII offerts au Québec pour le traitement de l'hémophilie A

DISTRIBUTEUR	CONCENTRÉ RECOMBINANT	STRUCTURE
Héma-Québec	Advate ^{MC}	Facteur VIII recombinant, pleine longueur (rFVIII)
	Xyntha ^{MC} (ReFacto ^{MC} FS)	Facteur VIII recombinant, dépourvu du domaine B (BDD rFVIII)
	Eloctate ^{MC}	Facteur VIII recombinant, dépourvu du domaine B, fusionné avec le fragment Fc des immunoglobulines (BDD rFVIII-Fc)
Non distribué actuellement	Nuwiq ^{MC}	Facteur VIII recombinant, dépourvu du domaine B (BDD rFVIII)
	Afstyla ^{MC}	Facteur VIII recombinant, chaîne unique, dépourvu du domaine B (BDD rFVIII-Single Chain)
	Adynovate ^{MC}	Facteur VIII recombinant, pleine longueur, pégylé (rFVIII-PEG)

Source : données tirées du site Web d'Héma-Québec (www.hema-quebec.qc.ca) et du site Web de la Société canadienne du sang (www.blood.ca/fr) (consultés le 25 avril 2017).

Les dernières données statistiques fournies par Héma-Québec indiquent qu'au Québec, Advate^{MC} et Xyntha^{MC} sont prescrits à 12 % et 88 % respectivement.

Les patients traités avec des concentrés de facteurs de coagulation peuvent développer des anticorps contre le facteur VIII. La prévalence est d'environ 20 % chez les patients atteints d'hémophilie A sévère [Witmer et Young, 2013; Blanco *et al.*, 2002]. Ces patients peuvent aussi présenter des immunoglobulines (IgG, IgM ou IgA), plus communément appelées anticoagulants lupiques, qui sont dirigées contre les phospholipides et interfèrent avec la réaction de coagulation [Ruinemans-Koerts *et al.*, 2010; Blanco *et al.*, 2002]. Le nombre de patients présentant à la fois des anticorps anti-facteur VIII et des anticoagulants lupiques est estimé à 1,6 %, ce qui représente 24 % des patients ayant développé des anticorps contre le facteur VIII [Blanco *et al.*, 2002]. Ces anticorps et ces inhibiteurs, bien qu'ils agissent sur des cibles différentes de la réaction de coagulation, interfèrent tous deux avec le dosage du facteur VIII par la méthode chromométrique en un temps [Ruinemans-Koerts *et al.*, 2010; Teruya *et al.*, 2007].

⁷⁰ Héma-Québec. Faits saillants, disponible à : http://www.hema-quebec.qc.ca/userfiles/file/media/francais/publications/ra_bilan_2004.pdf (consulté le 19 mai 2017).

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime qu'environ 400 analyses sont effectuées annuellement au Québec et que ce nombre augmentera de manière considérable dans les prochaines années avec l'arrivée sur le marché d'autres concentrés de remplacement structurellement modifiés.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, au Québec, la méthode chromométrique en un temps est utilisée pour établir le diagnostic et pour effectuer le suivi des patients traités. Cette analyse est inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, ci-après nommé *Répertoire*, pour la période 2016-2017 sous le code 20087 avec une VP de 4,9.

Selon l'expérience de plusieurs instances compétentes en analyses diagnostiques (IEQAS, UK NEQAS, ECAT, RCPAQAP et CAP)⁷¹ [Favaloro *et al.*, 2014; Jennings *et al.*, 2009] et un sondage des pratiques courantes [Kitchen *et al.*, 2015], la majorité des laboratoires cliniques utilisent actuellement la méthode chromométrique en un temps pour le diagnostic et le suivi de l'hémophilie A.

Le dosage des facteurs de coagulation par la méthode chromométrique en un temps a été décrit pour la première fois en 1953 [Biggs et Douglas, 1953]. Cette technique mesure la capacité d'un échantillon de plasma à raccourcir l'APTT (Activated Partial Thromboplastin Time) d'un plasma déficient en facteur VIII [Mackie *et al.*, 2013; Kitchen *et al.*, 2010].

Les principaux obstacles à la méthode chromométrique en un temps résident dans l'hétérogénéité des méthodes disponibles et la variabilité intra et interlaboratoire élevée expliquée par la centaine de combinaisons possibles entre les réactifs APTT, les activateurs de la coagulation, sans parler des différents standards de calibration et appareils de détection utilisés [Kitchen *et al.*, 2017; Kitchen *et al.*, 2015; Gu *et al.*, 2014; Poret et Mourey, 2014; Barrowcliffe, 2013; Mikaelsson et Oswaldsson, 2002] et du fait que le dosage des facteurs de coagulation par cette technique est inhibé par les anticoagulants lupiques et l'héparine [Poret et Mourey, 2014; Peetz, 2007; Chandler *et al.*, 2003].

Cette variabilité du dosage chromométrique en un temps peut mener à une sous-estimation de 20 à 50 % de la concentration en facteur VIII par rapport à la méthode chromogène, alors que cette dernière donne des résultats beaucoup plus homogènes et plus près des valeurs attendues [Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2016b; Poret et Mourey, 2014; Mikaelsson et Oswaldsson, 2002].

Malgré cette variabilité rapportée, les méthodes chromogène et chromométrique en un temps sont généralement comparables en termes de résultats en ce qui concerne le dosage du facteur VIII endogène de même que dans le plasma de patients traités avec des facteurs de coagulation dérivés du plasma. Cependant, des discordances de plus grande envergure ont été mises en évidence entre ces deux méthodes lorsqu'il s'agit

⁷¹ Définitions des abréviations: IEQAS (Programme international d'évaluation externe de la qualité), UK NEQAS (National External Quality Assessment Service), ECAT (External quality Control of diagnostic Assays and Tests), RCPAQAP (Royal College of Pathologists of Australasia Quality Assurance Programs), CAP (College of American Pathologists).

de déterminer la concentration plasmatique du facteur VIII chez des patients traités avec des produits de remplacement recombinants dont la structure a subi des modifications [Mikaelsson et Oswaldsson, 2002].

4.5 Données médico-administratives

L'analyse chromogène ne remplacera pas l'analyse chromométrique en un temps déjà au *Répertoire*. La base de données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) concernant la liste des envois hors Québec a été consultée (tableau 2). Aucune mention ou statistique de production pour cette analyse en 2013-2014.

Tableau 2 Envois hors Québec de l'analyse chromogène pour les années 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT TOTAL	LABORATOIRE
2014-2015	4	700 \$	Kingston General Hospital (Ontario)
2015-2016	8	1 000 \$	Kingston General Hospital (Ontario)

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

L'analyse chromogène viendra raffiner la méthode de dosage des concentrés recombinants structurellement modifiés spécifiquement lors des suivis de traitements. Selon le demandeur, cette nouvelle analyse répond à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement. Les avantages de l'analyse proposée sont :

- Favoriser une méthode de dosage plus précise et spécifique que la méthode chromométrique en un temps actuellement utilisée pour déterminer la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés de facteur VIII;
- Offrir aux patients traités avec des concentrés recombinants structurellement modifiés de facteur VIII un meilleur ajustement de leur médication;
- Cesser l'envoi de ces analyses à l'extérieur du Québec et l'offrir localement à moindre coût.

4.7 Assurance qualité

Le laboratoire du centre demandeur participe au programme de contrôle de qualité externe du NASCOLA (North American Specialized Coagulation Laboratory Association) pour cette analyse. L'organisme envoie quatre fois par année un échantillon à doser.

Le centre demandeur effectue également un contrôle de la qualité par un dosage du facteur VIII sur des plasmas témoins lyophilisés STA-System^{MC} Control N et P (normal et pathologique) à chaque analyse d'un échantillon provenant d'un patient. Les valeurs de référence des plasmas témoins sont déterminées par la compagnie et sont inscrites dans le manuel de l'utilisateur qui accompagne chacune des trousse.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Bien que le centre demandeur ne propose pas l'analyse chromogène pour établir le diagnostic, une étude primaire a été repérée dans laquelle Bowyer et ses collaborateurs [Bowyer *et al.*, 2013] ont mesuré le facteur VIII chez 82 patients atteints d'hémophilie A modérée avec les méthodes chromogène et chromométrique en un temps. Dans cette étude, 4 % des patients testés ont obtenu un diagnostic erroné avec la méthode chromométrique en un temps. Les auteurs concluent que la méthode chromogène devrait être utilisée pour confirmer un diagnostic d'hémophilie modérée. De plus, chez certains patients, l'hémophilie A modérée causée par des mutations du gène *F8* peut engendrer des résultats erronés par la méthode chromométrique en un temps. Dans de tels cas, les résultats du dosage ne reflètent pas le phénotype clinique observé. Le groupe de travail du Nordic Hemophilia Council a émis un guide de pratique dans lequel il suggère alors d'utiliser la méthode chromogène afin de préciser le diagnostic [Armstrong *et al.*, 2015].

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

Efficacité du traitement

La recherche documentaire a permis de retenir deux études évaluant les liens entre l'efficacité du traitement et le dosage chromogène du facteur VIII [Chandler *et al.*, 2003; Blanco *et al.*, 2002].

Blanco et ses collaborateurs [2002] ont évalué la capacité de la méthode chromogène à détecter et à mesurer le facteur VIII en présence d'anticorps anti-facteur VIII développés chez des patients souffrant d'hémophilie A ainsi qu'en présence d'anticoagulants lupiques. Trois groupes d'échantillons ont été formés, soit 6 échantillons de plasmas provenant de patients ayant développé des anticorps anti-facteur VIII, 12 échantillons de plasmas contenant des anticoagulants lupiques et 5 échantillons de plasmas contenant des anticoagulants lupiques et des anticorps contre le facteur VIII. Les analyses chromogènes ont été réalisées avec la trousse Coamatic Factor VIII^{MC}. Les résultats de dosage obtenus avec les deux méthodes étaient identiques lorsqu'il s'agissait de mesurer le facteur VIII dans du plasma contenant des anticorps contre le facteur VIII. L'analyse du plasma contenant des anticoagulants lupiques a été sous-estimée par la méthode chromométrique en un temps, soulignant l'interférence induite par ce type d'inhibiteurs. Quant au dosage des échantillons contenant simultanément des anticorps anti-facteur VIII et des anticoagulants lupiques, il s'avère faussé lorsque le facteur VIII est mesuré avec le test chromométrique en un temps (tableau 3).

Tableau 3 Comparaison du dosage du facteur VIII dans des échantillons de plasmas contenant ou non des anticorps contre le facteur VIII et des anticoagulants lupiques par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps

COMPARAISON DES MÉTHODES*	ANTICORPS ANTI-FACTEUR VIII (n = 6)	ANTICOAGULANTS LUPIQUES (n = 12)	ANTICORPS ANTI-FACTEUR VIII ET ANTICOAGULANTS LUPIQUES (n = 5)
Méthode chromométrique en un temps (UI/dl)	0,1 (0,01-15,0)	45,1 (12,0-100,0)	1,5 (0,01-5,7)
Méthode chromogène (UI/dl)	0,1 (0,01-17,0)	129,0 (64,0-200,0)	0,1 (0,01-13,0)
Valeur de p [†]	< 0,001	0,991	< 0,001

Source : Blanco *et al.*, 2002.

Abréviations : n : nombre d'échantillons; UI : unité internationale; dl : décilitre.

* Valeur médiane (valeur minimale, valeur maximale).

† Significativité statistique entre les deux méthodes.

Cette étude montre que la méthode chromogène permet de détecter et de mesurer de manière spécifique la présence d'anticorps dirigés contre le facteur VIII en contrecarrant l'interférence induite par les anticoagulants lupiques. Les auteurs concluent que, chez des patients ayant ces deux types d'inhibiteurs, il serait plus fiable de doser le facteur VIII par la méthode chromogène.

L'étude de Chandler et ses collaborateurs [2003] avait comme but de comparer trois méthodes de dosage (chromométrique en un temps, chromogène et immunologique) du facteur VIII et d'évaluer leur précision ainsi que leur sensibilité à l'héparine, aux inhibiteurs de thrombine et aux anticoagulants lupiques. Vingt-sept échantillons de plasma contenant des anticoagulants lupiques ont été analysés. Les résultats ont montré que l'ajout au plasma de 2 U/ml d'héparine ou de 5 µg/ml de lépirudine⁷² n'affecte pas le dosage du facteur VIII par les méthodes chromogène et immunologique alors que l'ajout au plasma de doses aussi faibles que 0,7 U/ml d'héparine ou de 0,1 µg/ml de lépirudine interfère avec le dosage du facteur VIII par la méthode chromométrique en un temps. Les auteurs concluent que la méthode chromogène est optimale comparativement à la méthode chromométrique en un temps puisqu'elle est insensible à l'interférence engendrée par l'héparine, les inhibiteurs de thrombine et les anticoagulants lupiques qui peuvent se retrouver dans le plasma des patients hémophiles.

5.4 Validité analytique

Suivi du traitement

La recherche documentaire a permis de retenir deux études portant sur la capacité de faire un suivi avec la méthode chromogène [Klukowska *et al.*, 2015; Powell *et al.*, 2012].

⁷² La lépirudine est un anticoagulant inhibiteur direct et hautement spécifique de la thrombine mis au point par recombinaison génétique à partir de l'hirudine.

Une étude de phase I/II réalisée par Powell et ses collaborateurs [2012] a comparé la pharmacocinétique d'Advate^{MC} et d'Eloctate^{MC} mesurée soit avec la méthode chromogène, soit avec la méthode chronométrique en un temps, chez 16 patients âgés de 12 ans et plus, atteints d'hémophilie A sévère, et ayant à leur actif plus de 100 jours d'exposition à un traitement de remplacement. Les participants ont été scindés en deux cohortes. Six patients ont reçu une faible dose (25 UI/kg) d'Advate^{MC}, puis 3 à 4 jours plus tard d'Eloctate^{MC}. Les dix autres patients ont reçu le même type de traitement mais à une plus forte dose (65 UI/kg). Ces deux doses représentent des concentrations administrées de routine aux patients traités. La pharmacocinétique des concentrés a été déterminée par dosage des échantillons plasmatiques avec la méthode chronométrique en un temps ainsi qu'avec la trousse chromogène Biophen FVIII:C^{MC} (annexe A). Une étroite corrélation entre les résultats obtenus avec la méthode chromogène et la méthode chronométrique en un temps a été observée avec des coefficients de corrélation (R^2 de Pearson) de 0,94 et 0,95 pour le dosage d'Advate^{MC} et d'Eloctate^{MC} respectivement. Les auteurs concluent que le concentré Eloctate^{MC} peut être dosé de manière fiable tant par la méthode chronométrique en un temps que par la méthode chromogène.

Une étude de phase III réalisée par Klukowska et ses collaborateurs [2015] a comparé la pharmacocinétique de Nuwiq^{MC} avec les deux méthodes de dosage. Aucune mention n'est faite au sujet des réactifs ni de la trousse utilisés. Cinquante-neuf patients âgés entre 2 ans et 12 ans, atteints d'hémophilie A sévère et sous traitement prophylactique avec Nuwiq^{MC} depuis plus de 50 jours ont été recrutés. Cette étude est divisée en deux volets, mais le premier seulement sera abordé. Ce volet comprend deux cohortes : 13 enfants de 2 ans à 5 ans et 13 enfants de 6 ans à 12 ans auxquels on a administré Nuwiq^{MC} à une dose de 50 UI/kg. La pharmacocinétique du concentré a été suivie par dosage avec les méthodes chromogène et chronométrique en un temps (annexe B). Les auteurs concluent que les paramètres pharmacocinétiques analysés pour Nuwiq^{MC} par ces deux méthodes sont comparables, comme en témoigne l'aire sous la courbe.

Dosages comparatifs des différents produits de remplacement

Plusieurs études ont évalué la variabilité intra et inter-essai des dosages chromogène et chronométrique en un temps pour les différents produits de remplacement recombinants modifiés structurellement. Sept études primaires comparant les deux méthodes de dosage des concentrés recombinants présentant différentes modifications structurelles ont été retenues. Ces études sont résumées dans l'annexe C. Parmi les études retenues, quatre d'entre elles se penchent sur le dosage des concentrés recombinants dépourvus de domaine B [Kitchen *et al.*, 2016b; Pouplard *et al.*, 2016; Cauchie *et al.*, 2013; Pouplard *et al.*, 2011], deux concernent les concentrés recombinants dépourvus du domaine B et qui sont fusionnés avec le fragment Fc des immunoglobulines [Sommer *et al.*, 2014; Powell *et al.*, 2012] et une concerne un concentré recombinant pégylé [Turecek *et al.*, 2016].

Concentrés recombinants dépourvus de domaine B

Les quatre études présentées ci-après portent en particulier sur le concentré Xyntha^{MC} et se penchent sur l'évaluation de la performance des deux méthodes de dosage d'intérêt et sur l'impact des standards utilisés, soit un mélange de plasmas ou le standard RAFLS (pour *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}).

En 2011, Pouplard et ses collaborateurs [2011] ont mené une étude multicentrique visant l'analyse d'échantillons de plasmas enrichis de quatre concentrations connues de Xyntha^{MC}. La trousse chromogène Biophen FVIII:C^{MC} a été utilisée par tous les laboratoires. Des variations interlaboratoires allant de 2,5 % à 10,6 % ont été observées entre les deux méthodes. Selon les auteurs, la méthode chromogène est toutefois plus reproductible avec 5,1 % à 7,2 % de coefficient de variation (tableau 4).

Tableau 4 Reproductibilité du dosage du facteur VIII par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps avec différents standards

REPRODUCTIBILITÉ DES MÉTHODES	MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS/PLASMA (n = 6)				MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS/RAFLS (n = 6)				MÉTHODE CHROMOGÈNE/PLASMA (n = 6)			
Concentration connue (UI/dl)	92	64	36	16	92	64	36	16	92	64	36	16
Dosage* (UI/dl)	73 ± 4,7	51 ± 3,0	27 ± 2,3	14 ± 1,4	91 ± 3,3	64 ± 1,6	33 ± 1,7	18 ± 1,9	101 ± 5,5	71 ± 3,6	38 ± 2,1	20 ± 1,4
% CV	6,5	5,8	8,5	9,2	3,7	2,5	5,0	10,6	5,4	5,1	5,6	7,2

Source : Pouplard *et al.*, 2011.

Abréviations : n : nombre de laboratoires; RAFLS : *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}; UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation.

* Dosage moyen ± écart-type.

Des variations interlaboratoires ont également été observées avec un coefficient de variation de l'ordre de 0,5 % à 17,1 %. Les auteurs concluent que le dosage chromogène est plus précis, comme le témoigne un coefficient de variation allant de 1,2 % à 9,5 % (tableau 5).

Tableau 5 Répétabilité du dosage du facteur VIII par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps avec différents standards

RÉPÉTABILITÉ DE LA MÉTHODE	MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS/PLASMA				MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS/RAFLS				MÉTHODE CHROMOGÈNE/PLASMA			
Concentration connue (UI/dl)	92	64	36	16	92	64	36	16	92	64	36	16
% CV*	2,1- 9,4	3,4- 12,3	4,1- 17,1	3,2- 11,2	2,1- 9,8	0,5- 15,0	2,4- 13,3	3,2- 13,9	1,2- 7,9	2,6- 7,7	2,7- 9,5	2,7- 8,5
Écart-type* (%)	1,4- 8,7	1,7- 6,3	1,1- 4,7	0,5- 1,7	1,8- 8,8	0,2- 9,8	0,8- 4,2	0,6- 2,6	2,1- 7,8	2,6- 7,7	1,0- 3,4	0,6- 1,7

Source : Pouplard *et al.*, 2011.

Abréviations : RAFLS : *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}; UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation.

* Gamme des valeurs.

Cauchie et ses collaborateurs [2013] ont également réalisé une étude afin de comparer les deux méthodes de dosage du Xyntha^{MC}. Ils ont utilisé la trousse chromogène Biophen FVIII:C^{MC}. L'équipe de Cauchie a fait les analyses sur des échantillons de plasmas provenant de patients traités avec Xyntha^{MC} qui avaient fait l'objet d'une étude antérieure. Lorsque les dosages étaient effectués en utilisant un mélange de plasmas en guise de standard, la différence observée entre les deux méthodes grimpait jusqu'à 58 % alors que lorsque le standard RAFLS était utilisé, la différence observée entre les deux méthodes était de 26 % (tableau 6).

Tableau 6 Variabilité du dosage du Xyntha^{MC} et d'Advate^{MC} par les méthodes chromogène et chronométrique en un temps avec différents standards

FACTEUR VIII	PRÉLÈVEMENT-PATIENT	LOT DE RÉACTIF CHRONO EN UN TEMPS/CHROMOGÈNE	% DIFFÉRENCE MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS (RAFLS) CONTRE MÉTHODE CHROMOGÈNE (PLASMA)	% DIFFÉRENCE MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS (PLASMA) CONTRE MÉTHODE CHROMOGÈNE (PLASMA)
Xyntha^{MC} (domaine B)	S1-P1	1/1	-1,5	-38,5
	S2-P1	1/1	-0,5	-34,6
	S3-P1	1/1	-3,8	-39,3
	S4-P1	1/1	-12,2	-50,4
	S5-P1	2/1	-25,9	-57,6
	S6-P1	2/1	-18,6	-47,4
	S7-P1	2/1	-20,3	-47,5
Advate^{MC}	S25-P18	2/1	s.o	-27,1
	S26-P18	2/1	s.o	-34,1
	S27-P19	2/1	s.o	-48,6
	S28-P19	2/1	s.o	-46,5
	S29-P20	3/2	s.o	-26,5
	S30-P20	3/2	s.o	-30,4
	S31-P20	3/2	s.o	-32,4

Source : Cauchie *et al.*, 2013.

Abréviations : RAFLS : *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}; s.o. : sans objet.

Les auteurs arrivent à la conclusion que l'utilisation du standard RAFLS contribue à réduire les discordances observées entre les deux méthodes.

Pouplard et son équipe [2016] ont refait une autre étude multicentrique quelques années plus tard. Le but de l'étude était le même qu'en 2011, soit évaluer la performance du standard RAFLS pour les deux méthodes d'analyse du facteur VIII. Toutefois, dans cette deuxième étude, ils ont également comparé les résultats du dosage de plasmas de patients souffrant d'hémophilie A modérée à sévère traités au Xyntha^{MC}, avec d'autres concentrés recombinants pleine longueur tels que Helixate^{MC}/Kogenate^{MC} et Advate^{MC} pour un total de 78 échantillons analysés. Tous les laboratoires ont utilisé le standard RAFLS ainsi que le même lot de plasma standard. Par contre, plusieurs réactifs différents ont été employés pour le dosage avec la méthode chronométrique en un temps. La trousse chromogène Biophen FVIII:C^{MC} a été utilisée. Cette étude démontre que les différences des niveaux de facteur VIII mesurés avec les méthodes chromogène et chronométrique en un temps chez les patients traités par Xyntha^{MC}, sont réduites lorsque le standard RAFLS est employé (tableau 7).

Tableau 7 Variabilité du dosage de Xyntha^{MC}, Helixate^{MC}/Kogenate^{MC} et Advate^{MC} par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps avec différents standards

FACTEUR VIII	% DIFFÉRENCE MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS (RAFLS) CONTRE MÉTHODE CHROMOGÈNE	% DIFFÉRENCE MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS (PLASMA) CONTRE MÉTHODE CHROMOGÈNE
Xyntha ^{MC} (domaine B)	-8,4	-22,3
Advate ^{MC}	s.o.	-9,2
Helixate ^{MC} /Kogenate ^{MC}	s.o.	-17,8

Source : Pouplard *et al.*, 2016

Abréviations : RAFLS : *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}; s.o. : sans objet.

Au même moment, Kitchen et ses collaborateurs [2016b] ont réalisé une étude multicentrique poursuivant le même objectif que Pouplard et ses collègues [2016]. Ils ont procédé à l'analyse de trois échantillons de plasmas de patients atteints d'hémophilie A traités avec Xyntha^{MC}, pour les comparer à ceux d'autres patients sous traitement avec Helixate^{MC}/Kogenate^{MC} ou Advate^{MC}. Tous les laboratoires ont utilisé le même lot de plasma standard ainsi que le standard RAFLS. Par contre, plusieurs réactifs différents pour le dosage avec la méthode chromométrique en un temps ont été employés. Différentes trousses chromogènes ont été utilisées (Coamatic Factor VIII^{MC}, Biophen FVIII:C^{MC}, Electrachrome^{MC}, Technochrom^{MC}, FVIII Chromogenic^{MC}). La variabilité interlaboratoire observée oscillait entre un coefficient de variation de 12 % à 26 % pour les deux méthodes de dosage (tableau 8).

Tableau 8 Reproductibilité de Xyntha^{MC}, Helixate^{MC}/Kogenate^{MC} et Advate^{MC} par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps avec différents standards

REPRODUCTIBILITÉ DE LA MÉTHODE	FACTEUR VIII*	XYNTHA ^{MC} (domaine B)		HELIXATE ^{MC} / KOGENATE ^{MC}	ADVATE ^{MC}
	STANDARD	PLASMA	RAFLS	PLASMA	PLASMA
Méthode chromométrique en un temps (46 laboratoires)	Dosage [†] (UI/dl)	58,3 (40,0-73,9)	62,6 (36,5-97,6)	52,0 [‡] (42,2-72,0)	43,0 [§] (31,6-63,6)
	% CV	17	19	12	17 [§]
Méthode chromogène (10 laboratoires)	Dosage [†] (UI/dl)	64,9 (37,9-77,0)	55,0 (29,2-86,5)	68,6 [‡] (44,0-78,0)	41,6 (23,2-49,0)
	% CV	22	26	15	19

Source : Kitchen *et al.*, 2016b.

Abréviations : RAFLS : *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}; UI : unité internationale; dl : décilitre.

* Les valeurs attendues de la concentration en facteur VIII ne sont pas mentionnées dans l'article.

† Valeur médiane (valeur minimale, valeur maximale).

‡ Valeur significative avec un p < 0,0001.

§ Un laboratoire a été exclu des calculs pour Advate^{MC} parce que les valeurs rapportées étaient < 1 UI/dl.

Tout comme les études de Pouplard [Pouplard *et al.*, 2016; Pouplard *et al.*, 2011], Cauchie [2013] et Kitchen [2016b] l'ont montré, le standard RAFLS offre une alternative au dosage chromométrique en un temps puisqu'il contribue à réduire l'écart des variations entre les deux méthodes. Les auteurs soutiennent donc l'importance d'utiliser un standard approprié dépendamment du concentré à doser. Cependant, étant donné qu'il peut devenir laborieux, du point de vue d'un laboratoire clinique, de mettre au point et d'utiliser de routine un standard spécifique pour chacun des concentrés à doser, les auteurs des études présentées s'accordent pour conclure que le test chromogène s'avère la meilleure option pour un dosage fiable des concentrés recombinants structurellement modifiés.

Concentrés recombinants dépourvus de domaine B, fusionnés avec le fragment Fc des immunoglobulines

Deux études traitant des concentrés dépourvus de domaine B et fusionnés avec le fragment Fc des immunoglobulines ont été retenues [Sommer *et al.*, 2014; Powell *et al.*, 2012].

Powell et ses collaborateurs [2012] ont mené une étude multicentrique clinique de phase I/II portant sur la sécurité d'administration et la pharmacocinétique du concentré Eloctate^{MC}. Dans le cadre de cette étude, des dosages avec les deux méthodes d'intérêt ont été effectués sur des échantillons de plasmas provenant de patients souffrant d'hémophilie A sévère traités avec Eloctate^{MC} et comparés avec ceux sous traitement avec Advate^{MC}. Pour les analyses chromogènes, la trousse Biophen FVIII:C^{MC} a été utilisée et concernant les analyses chronométriques en un temps, les mêmes réactifs ont été employés par tous les laboratoires. Pour toutes les analyses, le 5^e standard de l'OMS⁷³ a été utilisé. Bien que les résultats des deux méthodes soient étroitement corrélés, les valeurs obtenues avec la méthode chromogène sont légèrement plus élevées de 32 % et de 21 % pour Advate^{MC} et Eloctate^{MC} respectivement, quoique non statistiquement significatives.

L'étude de Sommer et ses collaborateurs [2014] porte également sur le concentré Eloctate^{MC}. Il s'agit d'une étude multicentrique ayant comme objectif d'évaluer la performance des deux méthodes de dosage utilisées de routine dans chacun des laboratoires impliqués. Les échantillons testés consistaient en du plasma de patients atteints d'hémophilie A auquel trois concentrations connues d'Eloctate^{MC} ou d'Advate^{MC} ont été ajoutées. Une grande diversité de standards et de réactifs pour le test chronométrique en un temps ainsi que plusieurs trousse chromogènes (Coamatic Factor VIII^{MC}, Biophen FVIII:C^{MC}, Coatest^{MC}, Electrachrome^{MC}, Technochrom^{MC}, FVIII Chromogenic^{MC}) ont été employés dans cette étude. La variabilité intralaboratoire avec des coefficients de variation de 2,9 % à 12,5 % et interlaboratoire avec des coefficients de 10 % à 38 % étaient similaires pour les deux techniques, et ce, à toutes les concentrations testées. Les valeurs de dosage obtenues avec les deux méthodes étaient elles aussi comparables, quoique légèrement plus élevées avec la méthode chromogène (tableau 9).

⁷³ Lot de l'étalon international de concentré de facteur VIII distribué par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS).

Tableau 9 Répétabilité et reproductibilité du dosage d'Advate^{MC} et d'Eloctate^{MC} par les méthodes chromogène et chromométrique en un temps

RÉPÉTABILITÉ ET REPRODUCTIBILITÉ	FACTEUR VIII	VALEUR ATTENDUE (UI/dl)	% VALEUR ATTENDUE	% CV INTRA LABORATOIRE	% CV INTER LABORATOIRE
Méthode chromométrique en un temps (30 laboratoires)	Advate^{MC}	80	96,7	6,3	10
		20	110,2	7,8	19
		5	118,1	7,4	34
	Eloctate^{MC} (domaine B, protéine de fusion)	80	94,6	6,0	16
		20	106,0	8,7	17
		5,4	115,7	10,3	31
Méthode chromogène (10 laboratoires)	Advate^{MC}	80	108,1	4,4	18
		20	112,4	11,7	26
		5	101,8	12,5	38
	Eloctate^{MC} (domaine B, protéine de fusion)	80	119,0	2,9	19
		20	133,4	7,0	23
		5,4	120,2	8,3	31

Source : Sommer *et al.*, 2014.

Abréviations : UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation, n : nombre d'échantillons.

Les auteurs des études de Powell [2012] et Sommer [2014] arrivent à la conclusion que le concentré Eloctate^{MC}, bien qu'il soit dépourvu de son domaine B et fusionné avec le fragment Fc des immunoglobulines, peut être dosé de manière adéquate autant avec la méthode chromométrique en un temps qu'avec la méthode chromogène.

Concentrés recombinants pleine longueur, pégylés

L'étude de Turecek et ses collaborateurs [Turecek *et al.*, 2016] est la seule qui a été retenue pour la comparaison des méthodes chromogène et chromométrique en un temps pour les concentrés recombinants pégylés. Ils ont réalisé une étude ayant pour but de comparer les deux méthodes employées dans la pratique courante. Des mélanges de plasmas commercialement disponibles issus de patients atteints d'hémophilie A ont été enrichis avec trois concentrations déterminées des concentrés Adynovate^{MC}, Advate^{MC} et Obizur^{MC} (concentré recombinant dépourvu du domaine B). Une grande variété de standards, de réactifs et de trousses chromogènes (Coamatic Factor VIII^{MC}, FVIII Chromogenic^{MC}, Berichrom FVIII^{MC}, Electrachrome^{MC}) ont été utilisés. Les variations intra et interlaboratoires passent d'un coefficient de variation de 6,8 % à 17,3 % et de 9,0 % à 33,7 % respectivement pour les deux méthodes à toutes les concentrations d'Advate^{MC} et d'Adynovate^{MC}. Toutefois, les deux méthodes ont tendance à être plus variables aux concentrations les plus faibles, en particulier pour le concentré Obizur^{MC} avec des variations intra et interlaboratoires allant jusqu'à 29,5 % et 46,8 % respectivement. Les résultats montrent également que la méthode chromogène sous-estime le dosage du concentré Obizur^{MC} (tableau 10).

Tableau 10 Répétabilité et reproductibilité du dosage d'Advate^{MC}, Obizur^{MC} et Adynovate^{MC} par les méthodes chromogène et chronométrique en un temps

RÉPÉTABILITÉ ET REPRODUCTIBILITÉ	FACTEUR VIII	VALEUR ATTENDUE (UI/dl)	% VALEUR ATTENDUE*	% CV INTRA LABORATOIRE	% CV INTER LABORATOIRE
Méthode chronométrique en un temps (35 laboratoires)	Advate^{MC}	80	91,2	6,8	10,9
		20	26,0	8,8	13,0
		5	6,9	12,9	16,1
	Obizur^{MC} (domaine B)	80	91,5	8,9	15,8
		20	23,9	12,3	16,1
		5	6,3	15,4	21,6
	Adynovate^{MC} (pégylé)	80	80,8	7,4	14,7
		20	22,6	9,5	17,8
		5	6,2	12,4	17,5
Méthode chromogène (11 laboratoires)†	Advate^{MC}	80	103,2	7,7	9,0
		20	25,5	4,8	13,9
		5	4,6	15,1	32,5
	Obizur^{MC} (domaine B)	80	48,7	9,3	13,2
		20	11,0	12,0	28,8
		5	2,2	29,5	46,8
	Adynovate^{MC} (pégylé)	80	99,2	7,6	10,1
		20	24,7	5,4	15,9
		5	4,8	17,3	33,7

Source : Turecek *et al.*, 2016.

Abréviations : UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation.

* Exprimée en moyenne géométrique.

† Deux des onze laboratoires n'ont pas été en mesure de doser le concentré Obizur^{MC} à la plus faible concentration.

Les auteurs de cette étude concluent que les méthodes chromogène et chronométrique en un temps peuvent adéquatement mesurer la concentration plasmatique des concentrés Adynovate^{MC} et Advate^{MC} sans égards pour le type d'instrument de détection, les réactifs ou les standards utilisés.

Comparaison des trousses

Deux études comparant la variabilité, la sensibilité et la reproductibilité des trousses commerciales disponibles sur le marché permettant la détermination de la concentration plasmatique du facteur VIII sont présentées dans cette section [Pickering *et al.*, 2016; Rodgers *et al.*, 2009].

Rodgers et ses collaborateurs [2009] ont comparé trois trousses chromogènes commerciales (Coamatic Factor VIII^{MC}, Biophen FVIII:C^{MC}, Dade-Behring^{MC}). Les analyses ont été réalisées avec le plasma de sept patients atteints d'hémophilie A dont le dosage du facteur VIII était connu pour donner des valeurs discordantes et quatre patients connus pour des résultats de dosage équivalents avec les méthodes chromogène et chronométrique en un temps. Chacune des trousses a fait preuve d'une très bonne reproductibilité pour les trois essais effectués comme le montrent les coefficients de variation de 4,1 % pour Coamatic Factor VIII^{MC}, 2,4 % pour Biophen FVIII:C^{MC} et 7,4 % pour Dade-Behring^{MC}. La trousse Dade-Behring^{MC} a été classée parmi

les moins souhaitables pour le dosage du facteur VIII. La sensibilité des trousses Coamatic Factor VIII^{MC} et Biophen FVIII:C^{MC} a été jugée adéquate mais elle l'est davantage lorsque les temps d'incubation recommandés par les manufacturiers sont prolongés (passant de 300 secondes à 500 secondes). Les auteurs recommandent donc l'utilisation des trousses Biophen FVIII:C^{MC} et Coamatic Factor VIII^{MC}.

L'étude de Pickering et ses collaborateurs [2016] consistait à comparer différentes trousses (annexe D) pour le dosage chromogène des concentrés N8-GP^{MC} (recombinant, pleine longueur, pégylé) et Zonovate^{MC} (concentré recombinant dépourvu du domaine B) dans du plasma de patients atteints d'hémophilie A sévère auquel des quantités déterminées de concentrés ont été ajoutées. Deux types de standards ont également fait l'objet d'une comparaison dans cette étude, il s'agit du 8^e standard de l'OMS et d'un plasma humain standard (SHP, Siemens) (tableau 11).

Tableau 11 Comparaison du dosage de N8-GP^{MC} et de Zonovate^{MC} avec quatre trousses chromogènes et deux standards

TROUSSE	FACTEUR VIII	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	PLASMA STANDARD SHP		8 ^e STANDARD DE L'OMS	
			DOSAGE* (UI/dl)	% CV	DOSAGE* (UI/dl)	% CV
Coamatic Factor FVIII ^{MC}	N8-GP ^{MC} (pégylé)	90	112,5 ± 3,9	3,5	89,2 ± 3,9	4,3
		60	71,8 ± 4,6	6,4	58,4 ± 2,4	4,2
		20	21,7 ± 1,1	4,9	16,6 ± 1,8	10,9
	Zonovate ^{MC} (domaine B)	90	120,2 ± 7,4	6,1	93,8 ± 4,2	4,5
		60	72,1 ± 6,6	9,2	58,8 ± 3,5	5,9
		20	20,6 ± 0,9	4,5	15,9 ± 1,7	10,4
Biophen FVIII:C ^{MC}	N8-GP ^{MC} (pégylé)	90	105,8 ± 5,2	4,9	95,3 ± 4,0	4,2
		60	75,1 ± 5,6	7,4	66,9 ± 2,0	3,0
		20	31,6 ± 1,7	5,4	26,1 ± 2,2	8,4
	Zonovate ^{MC} (domaine B)	90	121,5 ± 7,6	6,2	111,3 ± 5,3	4,7
		60	76,5 ± 7,1	9,4	71,9 ± 9,6	13,4
		20	31,8 ± 2,2	6,9	27,0 ± 1,1	4,1
Coatest ^{MC}	N8-GP ^{MC} (pégylé)	90	99,3 ± 1,4	1,4	86,5 ± 4,5	5,2
		60	63,8 ± 3,2	4,9	57,0 ± 4,6	8,1
		20	19,9 ± 0,2	0,8	19,0 ± 2,0	10,5
	Zonovate ^{MC} (domaine B)	90	108,2 ± 5,9	5,5	93,8 ± 8,1	8,7
		60	66,5 ± 5,9	5,5	59,3 ± 5,8	9,8
		20	20,6 ± 0,8	4,9	19,6 ± 1,5	7,6
FVIII Chromogenic ^{MC}	N8-GP ^{MC} (pégylé)	90	101,9 ± 14,8	14,6	77,7 ± 2,3	2,9
		60	70,3 ± 7,7	10,9	53,8 ± 4,0	7,5
		20	23,1 ± 3,0	12,9	17,6 ± 1,6	8,8
	Zonovate ^{MC} (domaine B)	90	112,0 ± 17,5	15,7	85,4 ± 1,3	1,6
		60	69,5 ± 11,4	16,4	52,9 ± 1,1	2,0
		20	24,1 ± 2,5	10,8	18,4 ± 2,0	10,8

Source : Pickering *et al.*, 2016.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; SHP : Plasma standard humain de la compagnie Siemens; OMS : Organisation mondiale de la Santé; CV : coefficient de variation.

* Moyenne des dosages de trois expériences indépendantes ± écart-type.

Les résultats générés avec le standard de l'OMS étaient plus près des valeurs attendues qu'avec le plasma standard SHP. Les trousse employées ont démontré un niveau de précision approprié avec un coefficient de variation en deçà de 20 %. L'étude permet aux auteurs de conclure que la composition pourtant différente des trousse chromogènes utilisées n'a pas un impact notable sur le dosage du facteur VIII. Les résultats de dosage de chaque trousse étaient à ± 10 % des valeurs moyennes de toutes les trousse, ce qui confirme qu'elles sont robustes et fiables pour le dosage du facteur VIII.

Conclusion générale

Les études présentées dans cette section ont permis de constater que le dosage plasmatique du facteur VIII avec la méthode chronométrique en un temps et la méthode chromogène donne des résultats comparables même si on ne peut nier la variabilité qui subsiste dans certaines conditions. Cette variabilité peut s'accroître selon le type de modification structurale des concentrés recombinants. De façon générale, la méthode chromogène surestime, la plupart du temps de manière non significative, la concentration du facteur VIII comparativement à la méthode chronométrique en un temps. Toutefois, la majorité des études démontrent que les résultats du dosage chromogène sont plus près des valeurs attendues. Les variations entre les deux méthodes sont vraisemblablement reliées à la grande diversité des réactifs APTT disponibles, pour le test chronométrique en un temps. Plusieurs études préconisent l'utilisation de standards spécifiques à chaque concentré dosé, ce qui implique des étapes supplémentaires de mise au point. Dans l'ensemble, la capacité de la méthode chromogène à mesurer avec davantage de sensibilité, de précision et de reproductibilité la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés fait de cette technique une méthode fiable pour le suivi du traitement des patients atteints d'hémophilie A.

Informations de la trousse Coamatic Factor VIII^{MC} de la compagnie Chromogenix

Sensibilité : La limite de détection de la trousse se situe à 5 UI/dl pour le spectre de concentrations plasmatiques normales⁷⁴ (allant de 5 UI/dl à 150 UI/dl) et à 0,5 UI/dl pour le spectre de concentrations faibles (0,5 UI/dl à 5 UI/dl).

Précision : La répétabilité de la trousse a été évaluée par le dosage de 42 échantillons pour chacune des trois concentrations de plasma. Cette variabilité intra-essai montrait un coefficient de variation allant de 2,4 % à 3,0 %. La reproductibilité de la trousse a été évaluée par le dosage de six échantillons de plasma de chacune des trois concentrations, et ce, à sept reprises, c'est-à-dire lors de sept expériences réalisées de manière distincte (différentes journées, différents techniciens)⁷⁵. Cette variabilité inter-essai se situe entre 2,1 % et 5,9 % de coefficient de variation selon la concentration des échantillons analysés (tableau 12).

⁷⁴ Les concentrations de facteur VIII mesuré chez 61 sujets sains (28 hommes et 33 femmes âgés de 21 ans à 55 ans) se situaient dans la fourchette de 50 UI/dl à 200 UI/dl avec une médiane à 113 UI/dl et un écart-type de 39 UI/dl, où 100 UI/dl est équivalent à un taux de facteur VIII de 100 % [Chromogenix, 2013].

⁷⁵ Les précisions quant au nombre d'échantillons et d'expériences distinctes effectuées ont été confirmées lors d'un échange de courriels avec le fournisseur de la trousse, Diapharma Group Inc. le 15 juin 2017.

Tableau 12 Données de précision de la trousse Coamatic Factor VIII^{MC}

ÉCHANTILLON FVIII	n	% CV INTRA-ESSAI	SÉRIES	n	% CV INTER-ESSAI
100 UI/dl	42	2,4	7	6	2,1
25 UI/dl	42	2,6	7	6	5,9
3 UI/dl	42	3,0	7	6	3,9

Source : Source : Tableau adapté du manuel de l'utilisateur fourni par Chromogenix [2013].

Abréviations : FVIII : facteur VIII; n : nombre de réplicats dans chaque série; CV : coefficient de variation; UI : unité internationale; dl : décilitre.

Ces données concernant les limites de détection ainsi que celles ayant trait à la précision sont présentées à titre informatif uniquement puisque la courbe d'étalonnage doit être réalisée à chaque analyse afin d'établir les valeurs appropriées à chaque dosage. Les performances analytiques de la trousse sont rapportées plus en détail dans le manuel de l'utilisateur fourni par le manufacturier [Chromogenix, 2013].

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a effectué la validation de l'analyse chromogène avec la trousse Coamatic Factor VIII^{MC} de la compagnie Chromogenix en utilisant un plasma humain standard (Siemens lot #503253) dont la valeur attendue déterminée par l'OMS est 100 UI/dl et trois échantillons de plasmas humains commercialement disponibles à des concentrations déterminées de 26 UI/dl, 30 UI/dl et 88 UI/dl (Siemens lots #509996B, lot #509998A et lot #507731, respectivement). La variabilité intra-essai a été évaluée en dosant deux plasmas humains à 30 UI/dl et 88 UI/dl avec la trousse Coamatic Factor VIII^{MC} (lot #N0177165) et la répétabilité varie avec des coefficients de variation de 9,1 % et 7,3 %, respectivement pour ces deux concentrations. La variabilité inter-essai a quant à elle été évaluée en dosant trois plasmas humains à 26 UI/dl, 30 UI/dl et 88 UI/dl avec la trousse Coamatic Factor VIII^{MC} (lot #N0965025) et la reproductibilité varie avec des coefficients de variation de 8,7 %, 7,2 % et 6,3 %, respectivement pour ces trois concentrations. Les données de validation fournies par le demandeur sont présentées plus en détail à l'annexe E.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur VIII par méthode chromogène. Trois scénarios sont présentés. Le premier considère l'usage du test en fonction du profil d'utilisation actuel des facteurs VIII qualifiés de courte et de longue action (par exemple, associé à une protéine de fusion ou pégylé) par les experts consultés pour le traitement de l'hémophilie A sévère. Le second scénario considère une éventuelle prise de marché plus importante des agents à longue action. Le dernier scénario considère une utilisation presque exclusive des facteurs VIII à longue action au terme d'un horizon temporel de 3 ans. Les coûts sont projetés 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 13. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée par le demandeur cible des patients atteints d'hémophilie A sévère recevant un facteur VIII à action prolongée seulement.

- Selon la base de données du registre canadien de l'hémophilie de l'Université McMaster, il est anticipé que 190, 192 et 193 patients⁷⁶ seront atteints d'hémophilie A sévère au Québec au cours des trois prochaines années, respectivement.
- L'analyse serait effectuée pour assurer le suivi des concentrations du facteur VIII à raison d'une à deux fois par année et plus fréquemment lors d'accidents ou de chirurgies majeures.
- L'analyse proposée a fait l'objet de 8 envois hors Québec au cours de l'année 2015-2016 pour un coût moyen de 125 \$ par analyse. Le rapatriement de l'ensemble de ces tests est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 23,14.
- Les coûts liés à une modification de la prise en charge des patients, notamment en ajustement posologique, à la suite de cette analyse n'ont pas été considérés par manque de données scientifiques.

Scénario 1 : ajout de la méthode chromogène au Répertoire selon le profil d'usage actuel des facteurs VIII

- Selon les données du MSSS, le traitement des patients atteints d'hémophilie A sévère au Québec est presque exclusivement réalisé à l'aide d'agents à courte action, dont le dosage est effectué par analyse chronométrique en un temps. L'usage des produits à longue action est actuellement marginal (< 1 %).
- Dans ce contexte, il est anticipé que 8 analyses, correspondant à celles envoyées hors Québec, seraient réalisées annuellement au cours des trois prochaines années.

Scénario 2 : ajout de la méthode chromogène au Répertoire en fonction d'une augmentation du marché des facteurs VIII à longue action (5 %, 10 % et 15 % du marché des FVIII)

- Advenant une utilisation plus importante de facteurs VIII à action prolongée, il est anticipé que ceux-ci pourraient représenter 5 %, 10 % et 15 % des parts de marchés de l'ensemble des facteurs VIII au cours des trois prochaines années, respectivement.
- Ainsi, il est anticipé que 40, 76 et 116 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement.

Scénario 3 : ajout de la méthode chromogène au Répertoire en fonction d'une augmentation importante du marché des facteurs VIII à longue action (50 %, 70 % et 90 % du marché des FVIII)

- Advenant une utilisation presque exclusive des facteurs VIII à longue action au terme de l'horizon temporel projeté, il est anticipé que ceux-ci pourraient

⁷⁶ Cela tient compte d'une augmentation du nombre de patients équivalente au taux de croissance de la population québécoise en 2015, soit de 0,61 %. Ceci étant basé sur la plus récente mise à jour de l'Institut de la statistique du Québec.

représenter 50 %, 70 % et 90 % des parts de marchés de l'ensemble des facteurs VIII au cours des trois prochaines années, respectivement.

- Ainsi, il est anticipé que 380, 536 et 696 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement.

Tableau 13 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur VIII par méthode chromogène

SCÉNARIOS	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse par méthode chromogène au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	8	8	8	24
Coûts	1 000 \$	1 000 \$	1 000 \$	3 000 \$
Scénario 1: ajout de la méthode chromogène au <i>Répertoire</i> selon le profil d'usage actuel des facteurs VIII				
Analyses par méthode chromogène	8	8	8	24
Coûts	185 \$	185 \$	185 \$	555 \$
Impact net	-815 \$	-815 \$	-815 \$	-2 445 \$
Scénario 2: ajout de la méthode chromogène au <i>Répertoire</i> en fonction d'une augmentation du marché des facteurs VIII à longue action (5 %, 10 % et 15 % du marché des FVIII)				
Analyses	40	76	116	232
Coûts hors Québec	5 000 \$	9 500 \$	14 500 \$	29 000 \$
Coûts par méthode chromogène	926 \$	1 759 \$	2 684 \$	5 369 \$
Impact net	-4 074 \$	-7 741 \$	-11 816 \$	-23 631 \$
Scénario 3: ajout de la méthode chromogène au <i>Répertoire</i> en fonction d'une augmentation du marché des facteurs VIII à longue action (50 %, 70 % et 90 % du marché des FVIII)				
Analyses	380	536	696	1 612
Coûts hors Québec	47 500 \$	67 000 \$	87 000 \$	201 500 \$
Coûts par méthode chromogène	8 793 \$	12 403 \$	16 105 \$	37 301 \$
Impact net	-38 707 \$	-54 597 \$	-70 895 \$	-164 199 \$

Ainsi, en considérant l'usage actuel des facteurs VIII, l'ajout de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur VIII par méthode chromogène pourrait générer une réduction de coûts d'environ 2 400 \$ pour le total des trois premières années. Toutefois, en considérant un usage futur plus important des facteurs VIII à action prolongée, une réduction de coûts plus importante, soit d'environ 164 000 \$, serait réalisée pour le total des trois premières années. Par ailleurs, advenant que la méthode chromogène puisse permettre un dosage plus adéquat, le nombre d'unités de concentré de facteur utilisé pourrait être optimisé et cela pourrait influencer les coûts de traitement.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Présentement, les trousses commerciales standardisées et homologuées à des fins de diagnostic disponibles pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur VIII sont dispendieuses et nécessitent un appareillage particulier ainsi que du personnel de laboratoire qualifié pour effectuer ce type d'analyses [Kitchen *et al.*, 2016a]. Les enjeux organisationnels dépendent donc du déploiement des nouveaux produits de remplacement structurellement modifiés à venir.

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

L'EMA (European Medicines Agency) a émis un guide de pratique concernant le dosage des concentrés de facteur VIII [Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2016b]. L'EMA préconise l'utilisation de la méthode chromogène pour déterminer la concentration du facteur VIII dans un contexte de suivi de patients traités avec des produits de remplacement afin d'échapper à la fois à la variabilité observée avec la méthode chronométrique en un temps qui est induite par la grande quantité de standards et de réactifs différents utilisés [Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2016a; Human Medicines Development and Evaluation, 2014; Hubbard *et al.*, 2013] mais aussi à la vulnérabilité de ce test aux anticoagulants lupiques et à l'héparine [Poret et Mourey, 2014; Peetz, 2007].

Le MASAC (Medical and Scientific Advisory Council) du NHF (National Hemophilia Foundation) recommande que les laboratoires qui effectuent de routine des analyses pour déterminer la concentration plasmatique de facteurs de coagulation à partir de plasmas de patients atteints d'hémophilie A et B considèrent l'application de la méthode chromogène lorsqu'elle est disponible et approuvée par les autorités locales [Kitchen *et al.*, 2016a; Medical and scientific advisory council, 2014].

La Pharmacopée Européenne suggère l'utilisation de la méthode chromogène pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur VIII étant donné le nombre croissant de produits de remplacement structurellement modifiés maintenant disponibles pour le traitement des patients atteints d'hémophilie A [Dodt *et al.*, 2015; Kitchen *et al.*, 2014; Concil of Europe, 2005].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détermination de la concentration du facteur VIII par méthode chromogène

La recommandation de l'INESSS

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

ANNEXE A : Pharmacocinétique d'Advate^{MC} et d'Eloctate^{MC} suivant l'administration d'une dose de 25 UI/kg à des patients atteints d'hémophilie A âgés de 12 ans et plus

PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES*	ADVATE ^{MC} (n = 6)		ELOCTATE ^{MC} (n = 6) (domaine B, protéine de fusion)	
	MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS	MÉTHODE CHROMOGÈNE	MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS	MÉTHODE CHROMOGÈNE
C _{max} (UI/dl)	63,6 (59,1-68,3)	75,5 (65,5-87,1)	60,5 (53,1-69,0)	76,5 (64,9-90,1)
ASC _{inf} (h x UI/dl)	994 (723-1370)	1060 (822-1360)	1480 (1160-1880)	1660 (1300-2120)
Demi-vie (h)	12,2 (9,1-16,3)	10,5 (8,5-12,9)	18,8 (14,8-23,8)	16,7 (13,8-20,1)
TRM (h)	17,5 (13,1-23,4)	15,0 (12,2-18,6)	27,0 (21,3-34,2)	23,9 (19,8-28,9)
CL (ml/h/kg)	2,49 (1,80-3,45)	2,35 (1,80-3,06)	1,68 (1,31-2,15)	1,49 (1,16-1,92)
V _{eq} (ml/kg)	43,9 (39,3-49,0)	35,5 (30,5-41,3)	45,4 (39,3-52,5)	35,9 (30,4-42,3)
RP (UI/dl par UI/kg)	2,56 (2,36-2,78)	3,05 (2,62-3,54)	2,44 (2,12-2,81)	3,09 (2,61-3,66)

Source : [Powell *et al.*, 2012].

Abréviations : n : nombre d'échantillons; C_{max} : concentration maximale; UI : unité internationale; dl : décilitre; ASC_{inf} : aire sous la courbe en fonction du temps zéro extrapolé à l'infini; h : heure; TRM : temps de résidence moyen; CL : clairance pondérée en fonction du poids corporel; ml : millilitre; kg : kilogramme; V_{eq} : volume de distribution à l'état d'équilibre; RP : récupération progressive.

* Les paramètres pharmacocinétiques sont exprimés en moyenne géométrique (intervalle de confiance à 95 %).

Pharmacocinétique d'Advate^{MC} et d'Eloctate^{MC} suivant l'administration d'une dose de 65 UI/kg à des patients atteints d'hémophilie A âgés de 12 ans et plus

PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES*	ADVATE ^{MC} (n = 9)†		ELOCTATE ^{MC} (n = 9)† (domaine B, protéine de fusion)	
	MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS	MÉTHODE CHROMOGÈNE	MÉTHODE CHRONO EN UN TEMPS	MÉTHODE CHROMOGÈNE
C _{max} (UI/dl)	133 (105-168)	175 (143-215)	119 (103-136)	182 (146-227)
ASC _{inf} (h x UI/dl)	1800 (1350-2400)	227 (1670-3070)	2800 (1980-3970)	4280 (2960-6190)
Demi-vie (h)	11,0 (8,8-13,9)	10,8 (8,2-14,2)	18,8 (14,3-24,5)	19,8 (14,3-27,5)
TRM (h)	15,8 (12,6-19,9)	15,4 (11,7-20,4)	27,0 (20,6-35,3)	28,5 (20,5-39,6)
CL (ml/h/kg)	3,61 (2,71-4,83)	2,87 (2,12-3,89)	2,32 (1,64-3,29)	1,52 (1,05-2,20)
V _{eq} (ml/kg)	57,4 (487,3-68,3)	44,5 (36,7-54,1)	32,8 (55,2-71,5)	43,4 (38,2-49,4)
RP (UI/dl par UI/kg)	2,04 (1,61-2,59)	2,70 (2,20-3,31)	1,83 (1,59-2,10)	2,80 (2,24-3,50)

Source : Powell *et al.*, 2012.

Abréviations : n : nombre d'échantillons; C_{max} : concentration maximale; UI : unité internationale; dl : décilitre; ASC_{inf} : aire sous la courbe en fonction du temps zéro extrapolé à l'infini; h : heure; TRM : temps de résidence moyen; CL : clairance pondérée en fonction du poids corporel; ml : millilitre; kg : kilogramme; V_{eq} : volume de distribution à l'état d'équilibre; RP : récupération progressive.

* Les paramètres pharmacocinétiques sont exprimés en moyenne géométrique (intervalle de confiance à 95 %).

† Des dix patients initialement inclus, un patient a été exclu parce qu'il n'a pas respecté les consignes pendant la période d'élimination.

ANNEXE B : Pharmacocinétique de Nuwiq^{MC} suivant l'administration d'une dose de 50 UI/kg à des patients atteints d'hémophilie A âgés de 2 ans à 12 ans

PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES*†	NUWIQ ^{MC} (domaine B)			
	2-5 ANS (n = 13)		6-12 ANS (n = 13)	
	MÉTHODE EN UN TEMPS	MÉTHODE CHROMOGÈNE	MÉTHODE EN UN TEMPS	MÉTHODE CHROMOGÈNE
Demi-vie (h)	11,91 (5,36)	9,49 (3,32)	13,08 (2,59)	9,99 (1,88)
ASC _{norm} (h x UI/dl par UI/kg)	22 (10)	22 (10)	26 (6)	25 (6)
C _{max norm} (UI/dl par UI/kg)	2,0 (0,2)	2,0 (0,3)	2,0 (0,4)	2,0 (0,4)
RI (% par UI/kg)	1,57 (0,17)	1,87 (0,27)	1,64 (0,38)	1,88 (0,44)
TRM (h)	15,11 (7,35)	11,92 (4,93)	16,53 (2,87)	12,74 (2,34)
CL (ml/h/kg)	5,41 (2,32)	5,40 (2,37)	4,05 (0,92)	4,33 (1,21)
V _{eq} (ml/kg)	68,29 (10,42)	55,32 (7,07)	66,07 (15,99)	54,45 (14,80)

Source : Klukowska *et al.*, 2015.

Abréviations : n : nombre d'échantillons; h : heure; ASC_{norm} : aire sous la courbe en fonction du temps normalisée à la dose administrée; UI : unité internationale; dl : décilitre; kg : kilogramme; C_{max norm} : concentration maximale normalisée à la dose administrée; RI : récupération *in vivo*; TRM : temps de résidence moyen; CL : clairance pondérée en fonction du poids corporel; ml : millilitre; V_{eq} : volume de distribution à l'état d'équilibre.

* Les paramètres pharmacocinétiques sont exprimés en moyenne (écart-type).

† Suivant l'injection de 0,5, 2, 5, 10, 24 et 48 heures.

ANNEXE C : Tableau de comparaison des méthodes de dosage chromogène et chronométrique en un temps des différents concentrés de facteur VIII offerts au Québec

AUTEUR	ÉTUDE ET OBJECTIF	ÉCHANTILLONS	CONCENTRÉ (STRUCTURE)	TEST CHROMOGÈNE	TEST CHRONO EN UN TEMPS	VARIABILITÉ INTRA-LABORATOIRE (% CV)		VARIABILITÉ INTER-LABORATOIRE (% CV)		CONCLUSION
						Chromogène	Chrono en un temps	Chromogène	Chrono en un temps	
Facteur VIII recombinant, dépourvu du domaine B (BDD rFVIII)										
Pouplard <i>et al.</i> , 2011	Étude multicentrique (6 sites) portant sur l'évaluation de l'efficacité du standard RAFLS pour diminuer les discordances entre les deux méthodes	Plasma déficitaire en facteur VIII enrichi de 4 concentrations connues de Xyntha ^{MC}	Xyntha ^{MC} (BDD rFVIII)	Standard RAFLS Trousse Biophen FVIII:C ^{MC} Chaque laboratoire utilise son propre plasma déficitaire en facteur VIII et ses instruments de détection	Standard RAFLS Chaque laboratoire utilise son propre plasma déficient en facteur VIII, ses réactifs d'APTT et ses instruments de détection	0,5-4 % pour les deux méthodes à toutes les concentrations		2-10 % pour les deux méthodes à toutes les concentrations		L'utilisation du standard RAFLS lors du dosage chronométrique en un temps contribue à réduire les discordances avec la méthode chromogène et de doser le Xyntha ^{MC} de manière précise et adéquate.
Cauchie <i>et al.</i> , 2013	Étude monocentrique avec objectif secondaire d'évaluer la relation entre le dosage et les standards utilisés	Plasmas de patients traités avec Xyntha ^{MC} (utilisés dans une autre étude)	Xyntha ^{MC} (BDD rFVIII) Advate ^{MC} (rFVIII) Helixate ^{MC} / Kogenate ^{MC} (rFVIII)	Standard RAFLS et mélange de plasmas Trousse Biophen FVIII:C ^{MC} Instrument : ACL-TOP analyser	Standard RAFLS et mélange de plasmas Réactifs APTT : HemosIL SynthASil aPTT Instrument : ACL-TOP analyser	0,5-26 % entre les deux méthodes lorsque le standard RAFLS est utilisé 7-58 % entre les deux méthodes lorsqu'un mélange de plasmas est utilisé comme standard		s.o.		La méthode chronométrique en un temps sous-estime le dosage d'Advate ^{MC} et de Helixate ^{MC} /Kogenate ^{MC} de 6-49 % peu importe le standard utilisé. L'utilisation du standard RAFLS contribue à réduire les discordances entre les deux méthodes.
Pouplard <i>et al.</i> , 2016	Étude multicentrique (6 sites en France) pour évaluer la performance du standard RAFLS lors du dosage par les deux méthodes dans la pratique clinique courante	Plasmas provenant de patients atteints d'hémophilie A modérée/sévère traités avec Xyntha ^{MC} (n = 21), Advate ^{MC} (n = 26), Helixate ^{MC} / Kogenate ^{MC} (n = 16), Factane ^{MC} (n = 15)	Xyntha ^{MC} (BDD rFVIII) Advate ^{MC} (rFVIII) Helixate ^{MC} / Kogenate ^{MC} (rFVIII) Factane ^{MC} (dérivé du plasma)	Mêmes lots de plasma standard et standard RAFLS Trousse Biophen FVIII:C ^{MC} Différents instruments de détection	Mêmes lots de plasma standard et standard RAFLS Réactifs APTT : CK Prest ^{MC} , APTT SP ^{MC} , SynthASil aPTT, Triniclot APTT HS ^{MC} Différents instruments de détection	s.o.		s.o.		Le test chronométrique en un temps avec le standard RAFLS offre une alternative au test chromogène pour le dosage du Xyntha ^{MC} car il réduit les différences entre les deux méthodes.

AUTEUR	ÉTUDE ET OBJECTIF	ÉCHANTILLONS	CONCENTRÉ (STRUCTURE)	TEST CHROMOGÈNE	TEST CHRONO EN UN TEMPS	VARIABILITÉ INTRA-LABORATOIRE (% CV)		VARIABILITÉ INTER-LABORATOIRE (% CV)		CONCLUSION
						Chromogène	Chrono en un temps	Chromogène	Chrono en un temps	
Kitchen <i>et al.</i> , 2016b	Étude multicentrique (52 sites, Royaume-Uni) pour évaluer l'impact du standard RAFLS sur le dosage du facteur VIII avec les deux méthodes dans une grande cohorte	3 échantillons de plasmas de patients atteints d'hémophilie A traités avec Xyntha ^{MC} , Helixate ^{MC} /Kogenate ^{MC} ou Advate ^{MC} provenant des sites où sont effectués les tests	Xyntha ^{MC} (BDD rFVIII) Helixate ^{MC} / Kogenate ^{MC} (rFVIII) Advate ^{MC} (rFVIII)	Standard RAFLS et plasma standard Trousses différentes à travers les 10 laboratoires : Biophen FVIII ^{MC} , Coamatic Factor VIII ^{MC} , Coatest ^{MC} , Electrachrome ^{MC} , Technochrom ^{MC} , FVIII Chromogenic	Standard RAFLS et plasma standard Réactifs APTT : SynthASIL aPTT, Actin FS APTT	s.o.	s.o.	15-26 %	12-19%	La méthode chromogène donne des résultats plus élevés pour Helixate ^{MC} /Kogenate ^{MC} . Advate ^{MC} et Xyntha ^{MC} donnent des résultats similaires avec les deux méthodes et la variabilité serait due aux différents réactifs utilisés (activateurs des réactifs APTT : acide ellagique ou silice).
Facteur VIII recombinant, dépourvu du domaine B, lié au domaine FC d'une immunoglobuline (BDD rFVIII-Fc)										
Powell <i>et al.</i> , 2012	Étude multicentrique clinique de phase I/II portant sur la sécurité d'administration et la pharmacocinétique	Patients atteints d'hémophilie A sévère traités avec Elocate ^{MC} ou Advate ^{MC}	Elocate ^{MC} (BDD rFVIII-Fc)	5 ^e standard de l'OMS Trousse Biophen FVIII ^{MC}	5 ^e standard de l'OMS Réactifs APTT Dade Actin FSL	s.o.		s.o.		Les résultats des deux méthodes sont étroitement corrélés, cependant, les valeurs obtenues avec le dosage chromogène sont légèrement plus élevées mais non significativement différentes (21 % pour Advate ^{MC} et 32 % pour Elocate ^{MC}).
Sommer <i>et al.</i> , 2014	Étude multicentrique (30 sites, 7 pays) globale évaluant la performance des deux méthodes de dosage utilisées de routine par les laboratoires	Plasmas de patients atteints d'hémophilie A enrichis avec 3 concentrations d'Elocate ^{MC} ou Advate ^{MC}	Elocate ^{MC} (BDD rFVIII-Fc)	Standards différents selon les laboratoires Diverses trousses dont Biophen FVIII ^{MC} , FVIII Chromogenic, Technochrom ^{MC} , Coatest ^{MC} , Coamatic Factor VIII ^{MC}	Standards différents selon les laboratoires Différents réactifs APTT utilisés	3 % à la concentration la plus élevée et jusqu'à 7-8 % pour les concentrations basses/moyennes	6-8 % aux concentrations moyennes/élevées et jusqu'à 10 % à la plus basse concentration	19-23 % aux concentrations moyennes/élevées et jusqu'à 31 % à la plus basse concentration	16-17 % aux concentrations moyennes/élevées et jusqu'à 31 % à la plus basse concentration	Le dosage d'Elocate ^{MC} chronométrique en un temps est comparable à Advate ^{MC} alors que des résultats plus élevés ont été observés avec la méthode chromogène. Somme toute, le concentré Elocate ^{MC} peut être adéquatement dosé par les deux méthodes.

AUTEUR	ÉTUDE ET OBJECTIF	ÉCHANTILLONS	CONCENTRÉ (STRUCTURE)	TEST CHROMOGÈNE	TEST CHRONO EN UN TEMPS	VARIABILITÉ INTRA-LABORATOIRE (% CV)		VARIABILITÉ INTER-LABORATOIRE (% CV)		CONCLUSION
						Chromogène	Chrono en un temps	Chromogène	Chrono en un temps	
Facteur VIII recombinant, pleine longueur, pegylé (rFVIII-PEG)										
Turecek <i>et al.</i> , 2016	Étude collaborative internationale (35 sites, 25 pays) pour comparer les deux méthodes dans la pratique clinique courante	Mélange de plasmas commercialement disponibles issus de patients atteints d'hémophilie A enrichis avec 3 concentrations d'Adynovate ^{MC} , Advate ^{MC} ou Obizur ^{MC}	Adynovate ^{MC} (rFVIII peg) Advate ^{MC} (rFVIII) Obizur ^{MC} (BDD rFVIII)	Standards différents selon les laboratoires Diverses troussees dont FVIII Chromogenic, Berichrom FVIII, Coamatic Factor VIII ^{MC} , Electrachrome ^{MC}	Standards différents selon les laboratoires Différents réactifs APTT utilisés	5-30 % pour toutes les concentrations Tendance à une plus grande variabilité avec les deux méthodes aux concentrations les plus faibles pour tous les concentrés, en particulier Obizur ^{MC}	7-15 % pour toutes les concentrations Tendance à une plus grande variabilité avec les deux méthodes aux concentrations les plus faibles pour tous les concentrés, en particulier Obizur ^{MC}	9-47 % pour toutes les concentrations Tendance à une plus grande variabilité avec les deux méthodes aux concentrations les plus faibles pour tous les concentrés, en particulier Obizur ^{MC}	11-22 % pour toutes les concentrations Tendance à une plus grande variabilité avec les deux méthodes aux concentrations les plus faibles pour tous les concentrés, en particulier Obizur ^{MC}	Adynovate ^{MC} et Advate ^{MC} peuvent être dosés avec les deux méthodes sans égard aux réactifs, instruments ou standards. Le dosage chromogène sous-estime la concentration d'Obizur ^{MC} . Les concentrés sans modification du domaine B peuvent être dosés adéquatement par les deux méthodes.

Abréviations : CV : coefficient de variation; BDD rFVIII : facteur VIII recombinant dépourvu du domaine B; RAFLS : *ReFacto AF Laboratory Standard*^{MC}; APTT : *Activated Partial Thromboplastin Time*; s.o. : sans objet; n : nombre d'échantillons; rFVIII : facteur VIII recombinant; BDD rFVIII-Fc : facteur VIII recombinant dépourvu du domaine B et lié au domaine FC d'une immunoglobuline; OMS : Organisation mondiale de la Santé; rFVIII-PEG : facteur VIII recombinant pleine longueur pegylé.

ANNEXE D : Description du contenu des troussees chromogenes de l'étude de Pickering et collègues [2016]

Kit name*	Coamatic® Factor VIII	Coatest® SP FVIII	Biophen FVIII:C	Technochrom® FVIII:C	DG-chrom FVIII	Factor VIII chromogenic
Vendor	Chromogenix	Chromogenix	Hyphen BioMed	Technoclone	Grifols	Siemens
Intended use	Plasma samples and concentrates	Plasma samples and concentrates	Plasma samples and concentrates	Plasma samples	Plasma samples	Plasma samples
Protein origin:						
1.FX	Bovine	Bovine	Human	Not specified	Not specified	Bovine
2.FIX	Bovine	Bovine	Human	Not specified	Not specified	Bovine
3.Thrombin	Bovine	Not specified	Human	Not specified	Not specified	Bovine
Dilution buffer	25 mM Tris, 1%BSA, pH 7.9	50 mM Tris, 10mg/l Ciprofloxacin, 1%BSA, pH 7.3	Tris-BSA (1%)	3.4g/l Imidazole, 5.85g/l NaCl, 0.2% BSA, pH7.4	3.4g/l Imidazole, 5.85g/l NaCl, 0.2% BSA	0.9% NaCl
FVIII activation	Thrombin 1 NIH-U	Prothrombin (not specified in the package insert)	Thrombin	Thrombin	Thrombin	Thrombin (0.6 nmol)
Phospholipids	Not specified	Highly purified with 10mg/l Ciprofloxacin	Synthetic	Not specified	Not specified	Not specified
Plasma sample dilution (microtiter plate)	81-fold	121-fold (20-150%) 81-fold (1-20%)	40-fold (20-200%) 10-fold (0-25%)	41-fold 10-fold (0-20%)	41-fold 10-fold (0-20%)	01:31
Incubation time:						
1.Sample	3-4 min;	4-5 min	N/A	N/A	N/A	N/A
2.Factor reagent and CaCl ₂	2 min	5 min (<20%, 10 min)	5 min	5 min	5 min	1.5 min
3.Substrate	2 min	5 min (<20%, 10 min)	5 min	3 min	3 min	1 min
FXa substrate and thrombin inhibitor	S-2765: N-a-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA I-2581 (synthetic)	S-2765: N-a-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA I-2581 (synthetic)	SXa-11 (pNA) Thrombin inhibitor	FXa-1 (pNA) α-NAPAP	FXa-1 (pNA) α-NAPAP	CH ₃ OCO-D-CHG-Gly-Arg-pNA.AcOH; α-NAPAP

* Des six troussees prévues à l'étude dont le contenu est décrit dans ce tableau, quatre seulement ont été utilisées pour fins d'analyse, les deux autres (Technochrom^{MC}, DG-chrom^{MC}) étant soit non disponible au moment de l'étude, soit non compatible avec l'appareil de détection en place.

ANNEXE E : Données de répétabilité de la trousse Coamatic Factor VIII^{MC} (lot #N0177165)

VALIDATION INTRA-ESSAI	CONTRÔLE Plasma humain normal Siemens lot #507731 (n = 10)	CONTRÔLE Plasma humain pathologique Siemens lot #509998A (n = 10)
Échantillons	88	30
	88	30
	92	34
	86	25
	86	29
	100	32
	86	28
	79	28
	88	29
	100	26
Valeur attendue (UI/dl)	88	30
Variation acceptée (UI/dl)	70-106	22-38
Moyenne	89,3	29,1
Écart-type	6,5	2,6
% CV	7,3	9,1

Abréviations : n : nombre d'échantillon; UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation.

DONNÉES DE REPRODUCTIBILITÉ DE LA TROUSSE COAMATIC FACTOR VIII^{MC} (LOT #N0965025)

VALIDATION INTER-ESSAI	STANDARD Plasma humain Siemens lot #503253 (n = 10)	CONTRÔLE Plasma humain normal Siemens lot #507731 (n = 9)	CONTRÔLE Plasma humain pathologique Siemens lot #509996B (n = 6)	CONTRÔLE Plasma humain pathologique Siemens lot #509998A (n = 3)
Échantillons	105	78	22	29
	104	82	20	28
	094	76	24	28
	100	77	21	
	98	83	21	
	99	91	25	
	100	82		
	95	89		
	101	86		
99				
Valeur attendue (UI/dl)	100	88	26	30
Variation acceptée (UI/dl)		70-106	19-33	22-38
Moyenne	99,5	82,7	22,2	28,3
Écart-type	3,4	5,2	1,9	0,6
% CV	3,5	6,3	8,8	2,0

Abréviations : n : nombre d'échantillon; UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation.

RÉFÉRENCES

- Armstrong E, Astermark J, Baghaei F, Berntorp E, Brodin E, Clausen N, et al. Nordic hemophilia guidelines. Nordic Hemophilia Council; 2015.
- Barrowcliffe TW. Laboratory testing and standardisation. *Haemophilia* 2013;19(6):799-804.
- Biggs R et Douglas AS. The thromboplastin generation test. *J Clin Pathol* 1953;6(1):23-9.
- Blanco AN, Peirano AA, Grosso SH, Gennari LC, Perez Bianco R, Lazzari MA. A chromogenic substrate method for detecting and titrating anti-factor VIII antibodies in the presence of lupus anticoagulant. *Haematologica* 2002;87(3):271-8.
- Bowyer AE, Van Veen JJ, Goodeve AC, Kitchen S, Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013;98(12):1980-7.
- Cauchie M, Toelen J, Peerlinck K, Jacquemin M. Practical and cost-effective measurement of B-domain deleted and full-length recombinant FVIII in the routine haemostasis laboratory. *Haemophilia* 2013;19(3):e133-8.
- Chandler WL, Ferrell C, Lee J, Tun T, Kha H. Comparison of three methods for measuring factor VIII levels in plasma. *Am J Clin Pathol* 2003;120(1):34-9.
- Chromogenix. Coamatic^{MC} Factor VIII - 82 2585 63. Français - Révision de la notice 03/2013. Milan, Italie : Instrumentation Laboratory SpA; 2013. Disponible à : http://diapharma.com/wp-content/uploads/2015/07/K822585_302143R4_chromogenix_coamatic_fviii_insert.pdf (consulté le 14 juin 2017).
- Committee for medicinal products for human use (CHMP). Guideline on core SmPC for human plasma-derived and recombinant coagulation factor VIII products. EMA/CHMP/BPWP/1619/1999 rev.2. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2016a. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/02/WC500201771.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- Committee for medicinal products for human use (CHMP). Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor VIII products. EMA/CHMP/BPWP/144533/2009 rev.1. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2016b. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/02/WC500201773.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- Council of Europe. 2.7.4. Assay of human coagulation factor VIII. Dans : *European Pharmacopoeia*. 5^e éd. Strasbourg, France : European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM), Council of Europe; 2005 : 194-5. Disponible à : http://library.njucm.edu.cn/yaodian/ep/EP5.0/02_methods_of_analysis/2.7.__biological_assays/2.7.4.%20Assay%20of%20human%20coagulation%20factor%20VIII.pdf (consulté le 3 mai 2017).

- Dodt J, Hubbard AR, Wicks SJ, Gray E, Neugebauer B, Charton E, Silvester G. Potency determination of factor VIII and factor IX for new product labelling and postinfusion testing: Challenges for caregivers and regulators. *Haemophilia* 2015;21(4):543-9.
- Duan X, Tang M, Zhang J, Yu H, Xu R. Promising coagulation factor VIII bypassing strategies for patients with haemophilia A. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014;25(6):539-52.
- Favaloro EJ, Verbruggen B, Miller CH. Laboratory testing for factor inhibitors. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):94-8.
- Gu JM, Ramsey P, Evans V, Tang L, Apeler H, Leong L, et al. Evaluation of the activated partial thromboplastin time assay for clinical monitoring of PEGylated recombinant factor VIII (BAY 94-9027) for haemophilia A. *Haemophilia* 2014;20(4):593-600.
- Hubbard AR, Dodt J, Lee T, Mertens K, Seitz R, Srivastava A, Weinstein M. Recommendations on the potency labelling of factor VIII and factor IX concentrates. *J Thromb Haemost* 2013;11(5):988-9.
- Human Medicines Development and Evaluation. Workshop report: Characterisation of new clotting factor concentrates (FVIII, FIX) with respect to potency assays used for labelling and testing of post infusion samples. EMA/135928/2014. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2014. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2014/07/WC500169760.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- Jennings I, Kitchen DP, Woods TA, Kitchen S, Walker ID, Preston FE. Laboratory performance in the World Federation of Hemophilia EQA programme, 2003-2008. *Haemophilia* 2009;15(2):571-7.
- Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor activity assays for monitoring extended half-life FVIII and Factor IX replacement therapies. *Semin Thromb Hemost* 2017;43(3):331-7.
- Kitchen S, Blakemore J, Friedman KD, Hart DP, Ko RH, Perry D, et al. A computer-based model to assess costs associated with the use of factor VIII and factor IX one-stage and chromogenic activity assays. *J Thromb Haemost* 2016a;14(4):757-64.
- Kitchen S, Jennings I, Makris M, Kitchen DP, Woods TAL, Walker ID. Factor VIII assay variability in postinfusion samples containing full length and B-domain deleted FVIII. *Haemophilia* 2016b;22(5):806-12.
- Kitchen S, Signer-Romero K, Key NS. Current laboratory practices in the diagnosis and management of haemophilia: A global assessment. *Haemophilia* 2015;21(4):550-7.
- Kitchen S, Gray E, Mertens K. Monitoring of modified factor VIII and IX products. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):36-42.
- Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. Le diagnostic de l'hémophilie et des autres troubles de coagulation – Manuel de laboratoire. Deuxième édition. Montréal, Qc : Fédération mondiale de l'hémophilie (FMH); 2010. Disponible à : <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1285.pdf> (consulté le 3 mai 2017).
- Klukowska A, Szczepanski T, Vdovin V, Knaub S, Jansen M, Liesner R. Novel, human cell line-derived recombinant factor VIII (Human-cl rhFVIII, Nuwiq®) in children with

- severe haemophilia A: Efficacy, safety and pharmacokinetics. *Haemophilia* 2016a;22(2):232-9.
- Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2013;35(1):1-13.
- Mikaelsson M et Oswaldsson U. Assaying the circulating factor VIII activity in hemophilia A patients treated with recombinant factor VIII products. *Semin Thromb Hemost* 2002;28(3):257-64.
- National Hemophilia Foundation (NHF). MASAC statement regarding use of various clotting factor assays to monitor factor replacement therapy. MASAC Document #228. New York, NY : NHF; 2014. Disponible à : <https://www.hemophilia.org/sites/default/files/document/files/masac-228.pdf> (consulté le 3 mai 2017).
- Oldenburg J et Albert T. Novel products for haemostasis – current status. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):23-8.
- Peetz D. Factor VIII methods: Which assay principle for which indication? Dans : Scharrer I et Schramm W, réd. 36th Hemophilia Symposium Hamburg 2005. Berlin, Allemagne : Springer; 2007 : 71-4.
- Pickering W, Hansen M, Kjalke M, Ezban M. Factor VIII chromogenic assays can be used for potency labeling and postadministration monitoring of N8-GP. *J Thromb Haemost* 2016;14(8):1579-87.
- Pipe SW, Montgomery RR, Pratt KP, Lenting PJ, Lillicrap D. Life in the shadow of a dominant partner: The FVIII-VWF association and its clinical implications for hemophilia A. *Blood* 2016;128(16):2007-16.
- Poret E et Mourey G. Mise en place de la mesure de l'activité du facteur VIII par méthode chromogénique au laboratoire d'hémostase de l'Etablissement Français du Sang de Besançon. Comparaison avec la méthode chromométrique en un temps. *Spectra Biologie* 2014;(208):63-71.
- Pouplard C, Ternisien C, Desconclois C, Lasne D, Aillaud MF, Caron C. Discrepancies between one stage assay and chromogenic substrate assay in patients treated with recombinant or plasma-derived FVIII and usefulness of a specific standard in ReFacto AF® -treated patients. *Haemophilia* 2016;22(2):e101-3.
- Pouplard C, Caron C, Aillaud MF, Ternisien C, Desconclois C, Dubanchet A, Sobas F. The use of the new ReFacto AF Laboratory Standard allows reliable measurement of FVIII:C levels in ReFacto AF mock plasma samples by a one-stage clotting assay. *Haemophilia* 2011;17(5):e958-62.
- Powell JS, Josephson NC, Quon D, Ragni MV, Cheng G, Li E, et al. Safety and prolonged activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in hemophilia A patients. *Blood* 2012;119(13):3031-7.
- Rodgers SE, Duncan EM, Sobieraj-Teague M, Lloyd JV. Evaluation of three automated chromogenic FVIII kits for the diagnosis of mild discrepant haemophilia A. *Int J Lab Hematol* 2009;31(2):180-8.

- Ruinemans-Koerts J, Peterse-Stienissen I, Verbruggen B. Non-parallelism in the one-stage coagulation factor assay is a phenomenon of lupus anticoagulants and not of individual factor inhibitors. *Thromb Haemost* 2010;104(5):1080-2.
- Sommer JM, Buyue Y, Bardan S, Peters RT, Jiang H, Kamphaus GD, et al. Comparative field study: Impact of laboratory assay variability on the assessment of recombinant factor IX Fc fusion protein (rFIXFc) activity. *Thromb Haemost* 2014;112(5):932-40.
- Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1-47.
- Teruya J, West AG, Suell MN. Lupus anticoagulant assays: Questions answered and to be answered. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131(6):885-9.
- Turecek PL, Romeder-Finger S, Apostol C, Bauer A, Crocker-Buque A, Burger DA, et al. A world-wide survey and field study in clinical haemostasis laboratories to evaluate FVIII:C activity assay variability of Adynovate and Obizur in comparison with Advate. *Haemophilia* 2016;22(6):957-65.
- Witmer C et Young G. Factor VIII inhibitors in hemophilia A: Rationale and latest evidence. *Ther Adv Hematol* 2013;4(1):59-72.
- World Federation of Hemophilia. Report on the annual global survey 2015. Montréal, Qc : World Federation of Hemophilia; 2016. Disponible à : <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1669.pdf> (consulté le 3 mai 2017).

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

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : CHU Sainte-Justine
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 3 août 2017
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 2 octobre 2017

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 Thomas L. Kiss, (Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont);
- D^r Paul Isenring, (Néphrologue, CHU de Québec).

2 RÉSUMÉ

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

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

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

Le dosage de l'éculizumab plasmatique libre permettrait de surveiller, d'ajuster (dose et fréquence) ou de cesser le traitement en fonction de la pharmacocinétique propre à chaque patient. Actuellement, cette analyse est effectuée hors Québec.

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

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

L'éculizumab est considéré comme l'un des médicaments les plus dispendieux au monde, conduisant à des débats politiques et éthiques sur les coûts des soins de santé et sur l'accessibilité de ce traitement. Le dosage plasmatique de l'éculizumab et la personnalisation du schéma posologique pourraient potentiellement permettre de réduire les coûts de ce traitement et les enjeux qu'ils soulèvent. Par ailleurs, selon les experts consultés, les résultats de cette analyse permettront d'en apprendre davantage sur la pharmacodynamie des inhibiteurs de la voie terminale du complément. Comme ces inhibiteurs peuvent avoir des effets secondaires sérieux, l'utilisation de la dose minimale efficace devrait être envisagée.

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

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

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

Selon le demandeur, l'objectif est de maintenir une concentration plasmatique d'éculizumab supérieure à 100 µg/ml, taux permettant une inhibition adéquate de la voie terminale du complément. Précisons que selon la monographie de produit, une concentration plasmatique d'au moins 35 µg/ml en cas d'HPN et de 50 à 100 µg/ml en cas de SHUa est recommandée [Alexion Pharma, 2016].

3.2 Description de la méthode

Il s'agit d'une analyse maison effectuée par la méthode immuno-enzymatique ELISA (de l'anglais *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Elle permet de mesurer la concentration plasmatique d'éculizumab libre (non lié au C5). Pour ce faire, des échantillons plasmatiques de patients traités à l'éculizumab sont incubés dans des puits enduits de protéines C5 purifiées (Complement Technology, Inc., Tyler, Texas). Ensuite, l'éculizumab lié au C5 adsorbé est détecté au moyen d'un anticorps anti-IgG humain couplé à la peroxydase. L'ajout du substrat de la peroxydase orthophénylène diamine produit une réaction colorimétrique mesurable par spectrophotométrie. La valeur d'absorbance est proportionnelle à la quantité d'éculizumab présente dans l'échantillon. La quantification de l'éculizumab est extrapolée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de l'éculizumab purifié de concentration connue. Les plaques sont lues sur un appareil Synergy^{MC} 4H de BioTek^{MC} (Winooski, États-Unis).⁷⁷ La technique est semi-automatique et le résultat est quantitatif.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

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

3.4 Société ou concepteur

Protocole maison.

3.5 Homologation

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

3.6 Valeur pondérée : 185,55

⁷⁷ Information tirée du *Manuel de procédure de laboratoire Coagulation – Dosage de l'Éculizumab (PON-COAG-0088)*, version 01 (date d'entrée en vigueur : 2017-05-01), fourni par le demandeur par courrier électronique, en date du 11 mai 2017.

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

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

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

4.2 Description de la maladie visée

Hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN)

L'HPN est une maladie acquise des cellules souches hématopoïétiques caractérisée par une anémie hémolytique corpusculaire, une aplasie médullaire et la survenue fréquente de thrombose⁷⁸. Elle est causée, dans la majorité des cas, par une mutation somatique dans le gène *PIG-A*. Ce gène est responsable de la biosynthèse du phosphatidylinositol-glycane (PIG), nécessaire à l'ancrage de plusieurs protéines membranaires des cellules sanguines, notamment des protéines CD59 (protectines, aussi connues sous MIRL, de l'anglais *membrane inhibitor of reactive lysis*) et CD55 (ou DAF, de l'anglais *decay accelerating factor*) qui sont des régulateurs du complément. Ces protéines inhibent la constitution du complexe d'attaque membranaire (C5b-9) à la surface des cellules [Subias Hidalgo *et al.*, 2017; Hillmen *et al.*, 2004]. En conséquence, les érythrocytes des patients atteints d'HPN sont susceptibles à l'hémolyse intravasculaire dépendante du complément. L'absence de CD55 et de CD59 altère également la régulation de la voie alterne du complément, menant à l'accumulation de fragments C3 activés à la surface des érythrocytes. Ces derniers peuvent parfois être éliminés par une hémolyse extravasculaire effectuée par le système réticuloendothélial du foie et de la rate [Subias Hidalgo *et al.*, 2017].

L'HPN est une maladie orpheline dont la prévalence et l'incidence sont respectivement estimées à 16 cas par million et à 1,3 cas par million par année [Hillmen, 2008]. Bien que la maladie puisse se manifester à tous âges, elle affecte plus particulièrement les jeunes adultes. L'HPN est une maladie chronique qui évolue par poussées d'hémolyse. Les périodes de crise peuvent être déclenchées par divers facteurs tels qu'une vaccination, une intervention chirurgicale, la grossesse, certains antibiotiques et les infections. Selon les experts consultés, les patients non traités risquent des complications majeures, incluant notamment des événements thrombotiques (p. ex. accidents cérébrovasculaires), l'insuffisance rénale et l'hypertension pulmonaire. Les patients peuvent également présenter des symptômes débilissants, comme la fatigue, des douleurs abdominales, de la dysphagie et autres. La survie médiane est de

⁷⁸ Orphanet. Hémoglobinurie paroxystique nocturne [site Web], disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=447 (consulté le 3 mai 2017).

10,3 ans. Le décès peut être dû à la maladie thromboembolique, des hémorragies ou des infections secondaires à l'aplasie médullaire⁷⁸.

Syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa)

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

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

Glomérulonéphrite à dépôts de C3

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

L'incidence annuelle est estimée à 1 par million [Goodship *et al.*, 2017]. Contrairement à la présentation aigüe du SHUa, chez la majorité des patients atteints de GC3, la maladie est de nature chronique avec activation constante de la voie alterne du complément, avec un maintien des fonctions rénales d'environ 50 % après 10 ans [Servais *et al.*, 2012].

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

L'éculizumab (Soliris^{MC}, Alexion Pharma GmbH, Suisse) est un anticorps monoclonal recombinant humanisé dirigé contre la protéine C5 du complément humain [Alexion Pharma, 2016]. Il est utilisé en immunothérapie afin d'inhiber l'activation de la voie terminale du complément (figure 1). En absence d'éculizumab, la protéine C5 est clivée en C5a et C5b par la C5 convertase. C5a est un peptide pro-inflammatoire et pro-

thrombotique (anaphylatoxine), alors que C5b se lie aux protéines C6, C7, C8 et C9 pour former le complexe d'attaque membranaire C5b-9. Ce dernier provoque la lyse des cellules ciblées par la formation de pores dans la membrane plasmique. La liaison de l'éculizumab à la protéine C5 empêche son interaction avec la C5 convertase, ce qui prévient son clivage et la formation du complexe C5b-9 [Zuber et al., 2012].

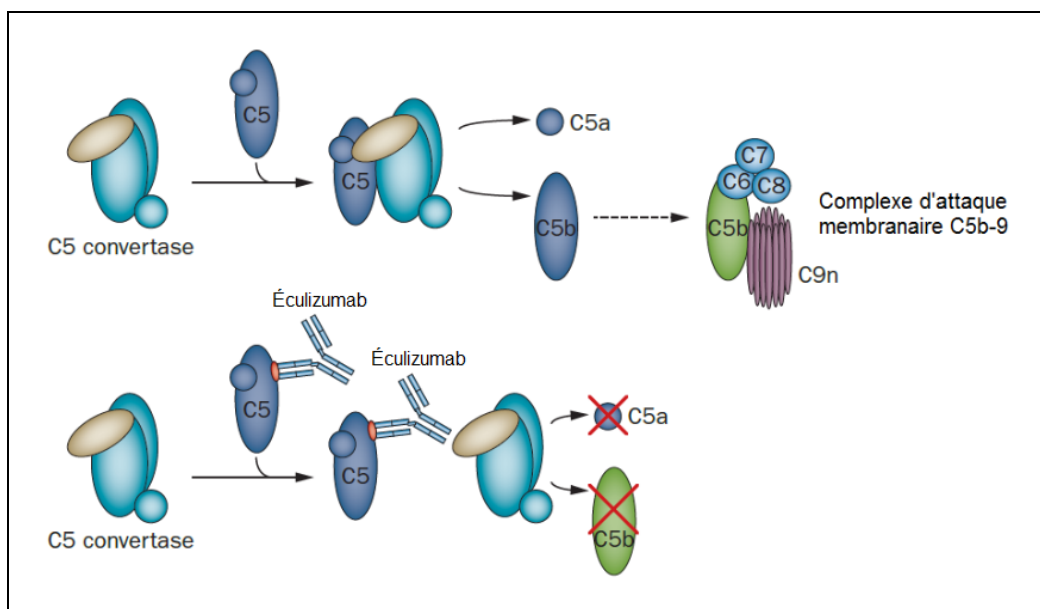


Figure 1 Voie terminale du complément et représentation schématique du mécanisme d'action de l'éculizumab

Source : Adapté de Zuber et al., 2012.

Selon la monographie de produit, le traitement des patients atteints d'HPN ou de SHUa s'effectue selon des schémas posologiques fixes qui comprennent une phase d'induction suivie d'une phase de maintien (annexe A). Les doses et les fréquences recommandées ont été déterminées dans le cadre d'études cliniques et visent à atteindre et à maintenir une concentration minimale supérieure de 50 à 100 µg/mL [Alexion Pharma, 2016].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

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

4.4 Brève description de la situation actuelle

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

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

Au Cincinnati Children's Clinical Laboratories, les responsables de l'analyse recommandent de mesurer le niveau d'activité CH50⁷⁹ ainsi que le taux du complexe protéique soluble C5b-9, conjointement avec les niveaux plasmatiques résiduels d'écuzumab⁸⁰.

4.5 Données médico-administratives

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

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

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

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permet de vérifier la concentration thérapeutique du médicament. Elle permet d'ajuster (dose et fréquence) ou de cesser le traitement en fonction de la pharmacocinétique et de la condition médicale propre à chaque patient. Le dosage est particulièrement critique compte tenu de la morbidité et de la mortalité qui sont associées à un traitement sous-optimal et à la rechute de la maladie.

Par ailleurs, un traitement individualisé pourrait potentiellement permettre de réduire les coûts de traitement chez les patients ayant des niveaux plasmatiques résiduels excessifs d'écuzumab [Gatault *et al.*, 2015]. Précisons qu'en 2016, le coût moyen annuel de ce traitement au Québec était de 483 947 \$ par patient. Pour cette même période, un total de 19 351 551 \$ pour 40 patients a été remboursé par la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ) (annexe B)⁸¹.

⁷⁹ L'analyse CH50 est une indication de l'activité fonctionnelle totale du complément, effectuée par l'évaluation in vitro du taux de lyse cellulaire d'érythrocytes ovins sensibilisés, incubés dans un échantillon plasmatique du patient traité à l'écuzumab [Goodship *et al.*, 2017].

⁸⁰ Cincinnati Children's. Nephrology and Hypertension [site Web], rubrique New Test: Eculizumab (*Download the Eculizumab Testing Fact Sheet*), disponible à : <https://www.cincinnatichildrens.org/service/n/nephrology-hypertension/clinical-lab> (consulté le 15 mai 2017).

⁸¹ Informations extraites du fichier des services pharmaceutiques facturés par les pharmaciens à la RAMQ dans le cadre du Régime général d'assurance médicament (RGAM).

4.7 Assurance qualité

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

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

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

5.2 Valeur pronostique

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

5.3 Valeur thérapeutique

Cinq études de cohorte traitant de la valeur thérapeutique du dosage plasmatique de l'éculizumab libre par ELISA et de son rôle dans l'individualisation du traitement ont été retenues. Elles présentent, entre autres, la variabilité inter-individu des données de pharmacocinétique et de pharmacodynamique de l'éculizumab, ainsi que les données supportant l'utilisation des niveaux plasmatiques résiduels d'éculizumab comme biomarqueur d'efficacité du traitement, conjointement avec l'analyse de l'activité du complément.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

L'étude de Gatault et ses collaborateurs [2015] avait comme objectif de déterminer si le traitement à l'écilizumab pouvait être adapté sur une base individuelle en fonction du poids corporel du patient. Ils ont mesuré les taux plasmatiques d'écilizumab résiduel chez 9 adultes (7 SHUa et 2 HPN) traités selon le schéma posologique recommandé. Ils ont par la suite déterminé la variabilité inter et intra-individu, le taux d'élimination de l'écilizumab suivant l'arrêt du traitement ainsi que l'influence du poids corporel sur la pharmacocinétique du médicament. Afin d'évaluer l'efficacité du traitement, l'activité hémolytique du complément (CH50) était régulièrement mesurée avant une nouvelle perfusion. Un modèle de la pharmacocinétique de l'écilizumab

permettant de prédire l'activité du complément en fonction du poids corporel a été développé à l'aide des données recueillies.

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

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

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

Source : Gatault *et al.*, 2015

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

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

Selon la conclusion des auteurs, la dose fixe actuellement recommandée en phase de maintien pour les adultes est associée à une concentration excessive d'éculizumab résiduel chez certains patients, particulièrement chez ceux présentant un faible poids corporel. Considérant le coût élevé de ce traitement, les auteurs estiment que des économies majeures pourraient être réalisées par la surveillance thérapeutique du médicament et l'ajustement de la posologie aux besoins individuels des patients. Ceci permettrait également d'éviter des doses potentiellement inutiles ou excessives, réduisant par le fait même les risques d'effets secondaires [Gatault *et al.*, 2015].

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

L'étude de Peffault de Latour et ses collaborateurs [2015] avait pour objectif de corréler les données cliniques, l'activité du complément et les taux résiduels d'éculizumab libre chez des patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab. Sur une période de 18 mois, l'activité du complément (CH50), les niveaux d'éculizumab libre, les biomarqueurs d'hémolyse ainsi que divers paramètres cliniques ont été mesurés avant chaque injection chez 22 patients adultes (tableau 4).

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

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

Source : Peffault de Latour *et al.*, 2015.

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

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

Pour les analyses de corrélation, seules les données enregistrées après un minimum de 6 mois de traitements (période nécessaire pour assurer la stabilisation du traitement et de l'état du patient) ont été utilisées. Une corrélation significative a été observée entre des niveaux élevés d'éculizumab et le blocage de l'activité CH50 ($p = 0,002$). De faibles taux plasmatiques d'éculizumab résiduel (<50 µg/ml) étaient associés à une bilirubine élevée ($p < 0,001$), le besoin de transfusion ($p = 0,034$), des taux supérieurs d'hémoglobinurie ($p = 0,03$), ainsi qu'à une activité détectable du complément (CH50 >10 %; $p = 0,004$).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

L'étude de Volokhina et ses collaborateurs [2017] avait pour objectif d'évaluer la possibilité d'individualiser le traitement à l'éculizumab par une diminution de la fréquence des injections. Les niveaux plasmatiques d'éculizumab résiduel ainsi que le blocage du complément ont été évalués lors de la phase d'induction et de maintien du traitement selon le schéma posologique standard et selon des intervalles prolongés de perfusion chez 11 patients (âgés de 1,3 à 62 ans) atteints de SHUa. Les résultats du dosage plasmatique de l'éculizumab résiduel sont présentés dans le tableau 5.

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

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

Source : Volokhina *et al.*, 2017.

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

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

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

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

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

L'étude de Wehling et ses collaborateurs [2017] avait comme objectif d'explorer le profil des biomarqueurs d'activation du complément et le bénéfice de la surveillance thérapeutique de l'éculizumab chez des patients atteints d'une maladie rénale. L'étude a été menée auprès de 23 patients traités à l'éculizumab, dont 12 atteints de SHUa, 9 de GC3 et 2 de rejet aigu de greffe rénale médié par anticorps (RARMaC). L'activation du complément était notamment évaluée par l'analyse de l'activité de la voie classique (CH50), de la voie alterne (AF50) et de certains produits d'activation du complément, notamment les protéines C3, C3d et le complexe sC5b-9.

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

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

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

À la lumière de ces résultats, les auteurs proposent de réévaluer les schémas posologiques de l'éculizumab en fonction de l'hétérogénéité des pathologies rénales dépendantes du complément. Selon la conclusion des auteurs, une analyse complète du complément ainsi qu'une surveillance du médicament est nécessaire pour distinguer les causes d'activation non contrôlée du complément et pour déterminer l'efficacité du traitement selon les troubles rénaux distincts. L'accumulation de l'éculizumab chez certains patients indique la nécessité d'une thérapie adaptée. Les niveaux résiduels devraient être analysés afin d'éviter des dosages sous-optimaux. La surveillance à la fois des niveaux d'éculizumab résiduels et des biomarqueurs du complément permettent une modification sécuritaire du traitement en fonction des besoins du patient [Wehling *et al.*, 2017].

5.4 Validité analytique

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

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

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

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

5.5 Données fournies par le demandeur

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

La variabilité inter-essai (n = 14) a été déterminée par l'analyse d'un échantillon comportant une concentration de 31,25 µg/ml d'éculizumab. Une concentration moyenne de 31,28 µg/ml avec un écart-type de 2,55 µg/ml et un coefficient de variation de 8 % ont été obtenus.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par ELISA chez les patients traités avec ce produit. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 6. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée par le demandeur ciblerait tous les patients recevant un traitement avec l'éculizumab.
- Selon les statistiques de facturation de la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ), 40 patients ont bénéficié de ce traitement en 2016 par l'intermédiaire de la mesure du patient d'exception (annexe B).

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

Tableau 6 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par ELISA

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

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

Par ailleurs, compte tenu d'une variabilité inter-individu importante de la concentration plasmatique d'éculizumab à la suite d'un traitement, il est difficile de quantifier l'effet de cette analyse sur les coûts de traitement. En effet, en considérant le régime posologique recommandé, une accumulation des taux plasmatiques résiduels est observée chez certains patients, alors que d'autres présentent des taux inférieurs à la concentration thérapeutique. Toutefois, à titre informatif et selon les régimes posologiques issus de la monographie de produit de Santé Canada, les coûts⁸² de traitement annuels en éculizumab pour l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) et pour le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) sont estimés à environ 550 000 \$ et 740 000 \$ par patient, respectivement.

⁸² Le prix de l'éculizumab a été tiré de l'extrait d'avis portant sur son évaluation par la direction du médicament en 2011. Il était alors de 6 742 \$ pour un flacon de 300 mg.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

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

Aux Pays-Bas, cette situation a conduit à l'élaboration d'une nouvelle directive, rédigée par le National Working Group aHUS, qui recommande désormais un régime restrictif d'éculizumab. De plus, récemment, le National Health Care Institute néerlandais a refusé le remboursement de l'éculizumab en tant que traitement à vie.⁸³

Selon un rapport d'évaluation des technologies suédois, l'éculizumab est à l'origine d'un conflit éthique fondamental entre l'égalité des droits et le traitement médical pour tous les êtres humains, par opposition aux risques d'effets de déplacement⁸⁴ en raison du coût très élevé du médicament. D'autre part, s'abstenir d'un traitement efficace pour des raisons purement économiques est une stratégie éthiquement problématique [Sallerfors *et al.*, 2012].

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

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

Par ailleurs, selon les experts consultés, les résultats de l'analyse des concentrations plasmatiques de l'éculizumab permettrait d'en apprendre davantage sur la pharmacodynamie des inhibiteurs de la voie terminale du complément. Comme ces inhibiteurs peuvent avoir des effets secondaires sérieux, il faut utiliser la dose minimale efficace, c'est-à-dire, la dose légèrement au-dessus de celle où tous les signes cliniques et para-cliniques de la maladie disparaissent. Or, si la dose minimale efficace ne corrèle pas avec la concentration sanguine, l'indication de dosage devient caduque et c'est plutôt l'ampleur du désordre de la voie alterne (en fonction des anomalies moléculaires) qui devrait guider les indications de traitement. Si la dose minimale requise corrèle, le suivi du traitement pourrait s'en trouver simplifié.

⁸³ CUREIHUS (Curious and Cure in HUS) [site Web], disponible à : <http://cureihus.nl/research/cureihus/> (consulté le 8 mai 2017).

⁸⁴ Les risques de déplacement dans ce contexte ce définissent par le fait que d'autres groupes de patients ou d'autres traitements seront négativement affectés par l'introduction de la technologie à l'étude [Sallerfors *et al.*, 2012].

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

International Society of Nephrology

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

UK aHUS Rare Disease Group

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

HUS International

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

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

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

Groupe français d'étude pour le SHUa/GC3

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

Réseau HPN Canada (Canadian PNH Network)

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

National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

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

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique

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 données probantes actuellement disponibles ont été jugées insuffisantes pour recommander l'introduction de l'analyse.
- ✓ Les données locales de validité analytique sont insuffisantes.

ANNEXE A : Posologies et modifications posologiques recommandées pour l'administration de l'Éculizumab [Alexion Pharma, 2016]

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

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

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

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

Patients âgés de 18 ans et plus

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

Patients âgés de moins de 18 ans

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

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

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

Le schéma posologique vise à atteindre une concentration minimale supérieure à 50 - 100 $\mu\text{g/ml}$ d'éculizumab, en fonction de l'expérience clinique, la durée pendant laquelle cette concentration minimale devrait être maintenue.

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

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

ANNEXE B : Portrait d'usage de l'Éculizumab

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

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

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

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

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

ANNEXE C : Rapports de cas présentés par Peffault de Latour et ses collaborateurs [2015]

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

Ce patient présentait un indice de masse corporel (IMC)⁸⁵ de 29. Avant l'induction du traitement, il nécessitait des transfusions de globules rouges aux deux semaines. Après six mois de traitement selon la posologie recommandée (900 mg aux deux semaines), des transfusions aux trois semaines étaient toujours nécessaires. L'évaluation de l'activité CH50 a révélé que celle-ci surpassait régulièrement 40 % et que les niveaux résiduels d'éculizumab étaient inférieurs à 50 µg/ml. Pour cette raison, la posologie a été augmentée à 1 200 mg/ml aux 15 jours. La condition hématologique du patient s'est améliorée. Après trois mois de traitement, le patient ne nécessitait plus de transfusion et l'activité CH50 était indétectable (<10 %) [Peffault de Latour *et al.*, 2015].

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

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

⁸⁵ Selon le critère international, l'embonpoint correspond à un IMC égal ou supérieur à 25, alors que l'obésité correspond à un IMC égal ou supérieur à 30 (Organisation mondiale de la Santé (OMS). Obésité et surpoids [site Web], disponible à : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/fr/> (consulté le 11 mai 2017)).

ANNEXE D : Rapports de cas présentés par Wehling et ses collaborateurs [2017]

Garçon de 8 ans atteints de SHUa

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

Homme de 21 ans avec glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3

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

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

Chez ce patient présentant des signes de RARMAc, le traitement à l'éculizumab a été initié 6 semaines suivant la greffe, avec 900 mg par semaine pendant 4 semaines. En raison de signes récurrents de rejet au jour 80 post-greffes et des niveaux toujours élevés de sC5b-9, la dose fut augmentée avec succès à 1 200 mg par semaine pendant 5 mois. Pendant ces 5 mois, le taux plasmatique d'éculizumab résiduel se situait approximativement entre 500 et 600 µg/ml. Les niveaux de sC5b-9 ont graduellement diminué et se sont normalisés. La dose a été réduite à 900 mg par semaine pendant 2 mois, puis la fréquence a été réduite à une dose tous les 12 jours avec une fonction rénale stable à long terme. Les niveaux plasmatiques d'éculizumab sont demeurés au-dessus de 400 µg/ml. Les niveaux de sC5b-9 sont restés inférieurs à la valeur de référence après une période de 6 mois. L'activité hémolytique des voies classique et alterne du complément est demeurée indétectable pour la majorité des dosages et les niveaux de C3 sont restés normaux tout au long du traitement sans élévation de C3d [Wehling *et al.*, 2017].

RÉFÉRENCES

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

- Peffault de Latour R, Fremeaux-Bacchi V, Porcher R, Xhaard A, Rosain J, Castaneda DC, et al. Assessing complement blockade in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving eculizumab. *Blood* 2015;125(5):775-83.
- Risitano AM, Notaro R, Marando L, Serio B, Ranaldi D, Seneca E, et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated by eculizumab. *Blood* 2009;113(17):4094-100.
- Sallerfors B, Franzén T, Jansson L, Kuric N, Olsson P, Sjögren P, et al. Eculizumab treatment in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. HTA-report 2012:43. Göteborg, Suède : Region Västra Götaland, HTA-centre; 2012. Disponible à : <https://www2.sahlgrenska.se/upload/SU/HTA-centrum/HTA-rapporter/HTA-report%20Soliris%20%20incl%20app,%20statement%20%202012-01-23%20publicerad.pdf>.
- Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Servais A, Noel LH, Roumenina LT, Le Quintrec M, Ngo S, Dragon-Durey MA, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies. *Kidney Int* 2012;82(4):454-64.
- Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.
- Subias Hidalgo M, Martin Merinero H, Lopez A, Anter J, Garcia SP, Ataulfo Gonzalez-Fernandez F, et al. Extravascular hemolysis and complement consumption in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients undergoing eculizumab treatment. *Immunobiology* 2017;222(2):363-71.
- Volokhina E, Wijnsma K, van der Molen R, Roeleveld N, van der Velden T, Goertz J, et al. Eculizumab dosing regimen in atypical HUS: Possibilities for individualized treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2017;102(4):671-8.
- Wehling C, Amon O, Bommer M, Hoppe B, Kentouche K, Schalk G, et al. Monitoring of complement activation biomarkers and eculizumab in complement-mediated renal disorders. *Clin Exp Immunol* 2017;187(2):304-15.
- Wong E, Challis R, Sheerin N, Johnson S, Kavanagh D, Goodship TH. Patient stratification and therapy in atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS). *Immunobiology* 2016;221(6):715-8.
- Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol* 2012;8(11):643-57.

DOSAGE DU COMPLÉMENT sC5b-9 (RÉFÉRENCE - 2017.01.012)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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} Jeannine Kassis, (Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont);
- D^r David Philibert, (Néphrologue, CHU de Québec).

2 RÉSUMÉ

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de microangiopathie thrombotique (MAT) caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale. Il s'agit d'une maladie rare dont l'incidence est estimée à environ 0,5 à 2 par million. Le SHUa est associé à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément. Son diagnostic est basé sur un diagnostic différentiel suite à l'exclusion d'un purpura thrombotique thrombocytopénique, d'un SHU typique et d'une MAT secondaire associée à une étiologie sous-jacente. Le dosage du sC5b-9 proposé pourrait servir à préciser le diagnostic d'un SHUa complément-dépendant.

Trois études ont montré que les patients en phase active d'un SHUa présentaient un niveau plus élevé de sC5b-9. Deux de ces études ont montré que la concentration en sC5b-9 diminuait de façon significative en rémission. Toutefois, il a été observé que la concentration en sC5b-9 n'était pas élevée chez tous les patients en phase active d'un SHUa et qu'il demeurait élevé chez certains patients en rémission. Un niveau élevé de sC5b-9 a également été rapporté chez certains patients ayant développé une MAT secondaire à une autre condition. Une étude a montré que la proportion de patients présentant une concentration élevée en sC5b-9 avec une MAT n'était pas significativement différente de celle des patients sans MAT.

Deux études repérées dans la littérature ont montré que les patients avec un SHUa secondaire à une autre condition avec une concentration élevée en sC5b-9 au diagnostic présentaient un risque augmenté de mortalité.

Une étude a montré que la concentration en sC5b-9 était significativement réduite chez des patients atteints d'un SHUa ou d'une glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3) suivant un traitement à l'éculizumab. Cependant, un niveau élevé de sC5b-9 était observé chez certains patients avec un SHUa et une GC3 malgré un traitement à l'éculizumab. Une autre étude a montré que, chez les patients ayant développé une MAT suivant une greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH), plus le niveau en sC5b-9 au début du traitement à l'éculizumab était élevé, plus le temps de normalisation du sC5b-9 et le temps de réponse clinique étaient longs.

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

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

Selon le groupe du Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO, 2017), la clinique Mayo (2016) et le groupe SHU International (2016), il n'existe pas suffisamment de données permettant d'appuyer la fiabilité du dosage du sC5b-9 comme marqueur du SHUa et de la GC3. Les experts ne recommandent pas le dosage du sC5b-9 comme outil pour le suivi des patients traités à l'éculizumab.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

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

Cette analyse s'inscrit dans une série de tests visant à identifier la cause d'un déficit acquis de régulation de l'activation du complément à l'origine d'un syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa). Selon le demandeur, un résultat positif au test ELISA devrait permettre de préciser le diagnostic du SHUa complément-dépendant et de justifier un traitement à l'éculizumab.

3.2 Description de la méthode

La mesure de la concentration en sC5b-9 présent dans l'échantillon sanguin du malade sera réalisée par une méthode semi-automatique à l'aide de la trousse MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel⁸⁶. Il s'agit d'un ELISA de type sandwich par lequel le sC5b-9 présent dans l'échantillon est lié par un anticorps monoclonal, dirigé contre l'anneau C9 du sC5b-9, préalablement fixé aux puits d'une microplaque. Un second anticorps couplé à la peroxydase spécifique aux antigènes du sC5b-9 est ajouté et se lie à son tour au complexe. Ces interactions sont mises en évidence par l'ajout d'un substrat de la peroxydase, le tétraméthylbenzidine (TMB), qui résulte en une réaction colorimétrique. Suite à l'ajout d'une solution d'arrêt, l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm. Cette mesure est proportionnelle à la quantité de sC5b-9 présent dans l'échantillon et peut être déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à partir des standards fournis avec la trousse.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins sur citrate de sodium⁸⁷ effectués dans un établissement du réseau ou hors Québec seront acheminés puis analysés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine.

Selon le demandeur, le niveau de sC5b-9 peut être mesuré :

- au moment du diagnostic,
- au moment d'une récurrence dans le cas d'un SHUa préalablement confirmé,
- au moment d'une récurrence suivant une greffe rénale dans le cas d'un SHUa confirmé,
- lors du suivi de patients dont l'arrêt du traitement à l'éculizumab est planifié.

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

⁸⁶ Quidel Corporation. MicroVue Complement SC5b-9 Plus, disponible à : <https://www.quidel.com/sites/default/files/product/documents/PIA029001FR00.pdf>.

⁸⁷ Selon le demandeur, l'anticoagulant à utiliser est le citrate de sodium 3,2 % (0,109 M) standardisé afin d'obtenir un ratio citrate de sodium : sang total de 1 : 9. Source : Procédure opératoire normalisée PON-COAG-0083v2 (en vigueur le 1er mai 2017).

3.4 Société ou concepteur

Trousse commerciale ELISA MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel.

3.5 Homologation

La trousse n'est pas homologuée par Santé Canada mais a reçu la conformité européenne (CE).

3.6 Valeur pondérée : 111,00

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par l'analyse sont ceux qui présentent des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et une activité ADAMTS-13 (de l'anglais *ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 13*) supérieure à 10 %.

4.2 Description de la maladie visée

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de MAT caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale [Caprioli *et al.*, 2006]. On distingue le SHUa de la forme typique de SHU chez les enfants, une forme qui est causée par une infection avec certaines souches d'*Escherichia coli* produisant la Shiga-toxine (STEC-HUS, de l'anglais *Shiga toxin Escherichia coli associated hemolytic uremic syndrome*) [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007]. Il s'agit d'une maladie rare, constituant 10 % des SHU [Soudabeh *et al.*, 2014] et dont l'incidence annuelle est estimée à environ 0,5 à 2 par million [Goodship *et al.*, 2017; Kavanagh *et al.*, 2013]. Le SHUa peut survenir à tous les âges, de la période néonatale à l'âge adulte. Chez les enfants, 70 % ont un premier épisode de la maladie avant l'âge de deux ans [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007].

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

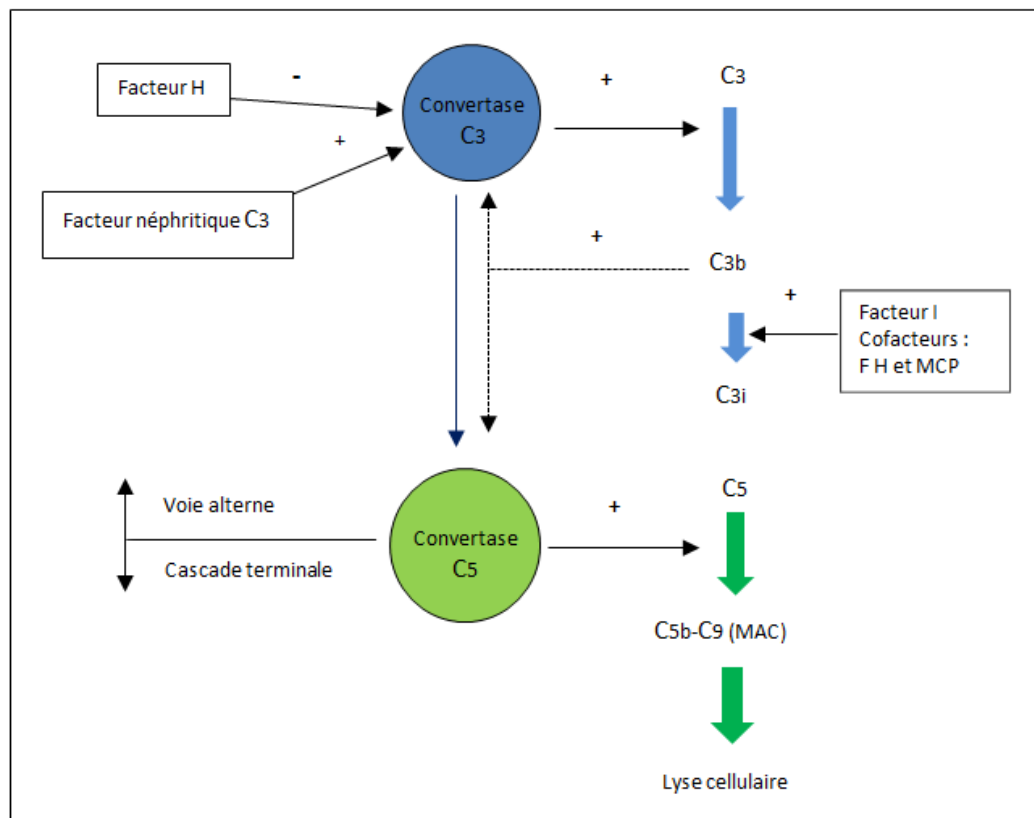


Figure 1 Voie alterne d’activation du complément

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

Source : adapté de De Lorenzo *et al.*, 2014.

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

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

4.3 Nombre prévu d’analyses et de patients visés

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

4.4 Brève description de la situation actuelle

En présence d'un profil clinique suggestif de MAT, un dosage d'activité ADAMTS-13 est effectué dans un premier temps afin d'exclure un PTT. L'exclusion d'un SHU associé à la Shiga-toxine est également prioritaire. Dans un second temps, une évaluation complète est réalisée afin d'exclure une MAT secondaire (cancer, hypertension maligne et insuffisance rénale, greffe de cellules souches hématopoïétiques, agents de chimiothérapie, condition infectieuse) qui est plus fréquente et pour laquelle un traitement à l'éculizumab n'est pas indiqué⁸⁸. Une évaluation de l'activation du complément peut ensuite être effectuée dans le contexte suivant :

- en présence d'une manifestation de MAT primaire,
- lors d'une récurrence de MAT ou d'une récurrence suite à une greffe rénale⁸⁹,
- pour le suivi de patients dont un arrêt de traitement à l'éculizumab est planifié⁹⁰,
- en cas de grossesse avec pré-éclampsie et MAT en présence de complications rénales persistantes suivant la grossesse,
- en présence d'une néphropathie à dépôts de C3, non-associée à une MAT secondaire, afin d'évaluer le potentiel d'utilisation d'éculizumab comme traitement.

Le dosage du sC5b-9 est un test fonctionnel permettant de mesurer l'état d'activation du complément dans le diagnostic des MAT primaires et secondaires. Cette analyse est souvent réalisée en parallèle avec le dosage du complément hémolytique 50 (CH50) qui permet de mesurer la capacité du sérum analysé à activer le complément et à causer la lyse des érythrocytes. Le demandeur effectue déjà le dosage du sC5b-9. Au cours de la dernière année, le demandeur a effectué 183 analyses pour lesquelles environ 20 % des demandes provenaient de l'extérieur du Québec⁹¹. Le demandeur a fourni l'algorithme diagnostique de MAT du Cincinnati Children's Hospital (annexe A). Parmi les analyses suggérées, les suivantes sont inscrites dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2016-2017* (ci-après nommé *Répertoire*) :

20769 : Composantes du complément

20771 : Complément sérique total (CH50) (activité)

20995 : Activation du complément (ELISA)

20997 : Complément facteur H (antigène)

20776 : Complément C3 (antigène)

20777 : Complément C4 (antigène)

⁸⁸ Information transmise par la D^{re} Jeannine Kassis, hématologue, Université de Montréal, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (31 mai 2017).

⁸⁹ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

⁹⁰ Idem à 88 et 89

⁹¹ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (16 juin 2017).

20850 : Complément facteur B (antigène)

Les analyses moléculaires du facteur H, du facteur I, du CD46, du facteur B, de la protéine C3, de la thrombomoduline, et des protéines CFHR1 à 5 (*complement factor H related proteins 1 to 5*) sont envoyées hors réseau (tableau 1).

4.5 Données médico-administratives

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

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

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

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

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

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

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

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

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

- préciser le diagnostic d'un SHUa complément-dépendant;
- confirmer la disparition de la MAT complément-dépendante;
- évaluer l'efficacité du traitement à l'écuzumab lors d'une MAT complément-dépendante.

4.7 Assurance qualité

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Sept études rapportant des mesures de concentration du complexe du complément terminal soluble sC5b-9 en relation avec des MAT ont été repérées dans la littérature [Farkas *et al.*, 2017a; Song *et al.*, 2017; Bu *et al.*, 2015; Volokhina *et al.*, 2015; Cataland *et al.*, 2014; Jodele *et al.*, 2014; Noris *et al.*, 2014]. Les critères de définition du SHUa pour les différentes études sont présentés à l'annexe B.

Dosage du sC5b-9 dans le SHUa

Volokhina et ses collègues [2015] ont analysé l'état d'activation de la voie alterne du complément chez les patients en phase aigüe d'un SHUa⁹² (n = 6) et en rémission pour plus d'un an (n = 11). La phase aigüe était définie par la présence d'une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale terminale. Une concentration élevée en sC5b-9 a été constatée chez tous les patients en phase aigüe (7,79 UA⁹³/ml $\pm$ 4,6 UA/ml) comparativement au groupe témoin⁹⁴ (p < 0,0001). Aucune différence n'a été observée entre la concentration chez les patients en rémission et celle du groupe témoin. Les auteurs ont conclu qu'une activation du complément peut être démontrée dans le sang des patients en phase aigüe, mais que les niveaux des marqueurs d'activation du complément se normalisent en période de rémission.

Song et ses collaborateurs [2017] ont évalué les paramètres cliniques et les composantes du complément circulant chez une cohorte pédiatrique chinoise de 33 patients atteints du SHUa avec des anticorps anti-facteur H. Le niveau du sC5b-9 plasmatique était significativement plus élevé chez les patients que chez les témoins (876,55 ng/ml [EIQ : 550,24 à 1 326,52] contre à 267,16 ng/ml [EIQ : 139,50 à 448,06]; p < 0,001). Le niveau du sC5b-9 était réduit en période de rémission comparativement au niveau en phase aigüe (135,75 ng/ml $\pm$ 71,16 ng/ml et 1 023,53 ng/ml $\pm$ 522,12 ng/ml; p = 0,001). En période de rémission, les auteurs ont

⁹² Patients âgés de 7 mois à 12 ans.

⁹³ Unités arbitraires

⁹⁴ Sujets sains adultes

observé un retour à la normale des niveaux plasmatiques de C3a, C5a et sC5b-9. Ils ont suggéré que les protéines du complément C3a, C5a et le sC5b-9 pourraient servir de marqueurs pronostics d'activité d'un SHUa et d'efficacité de traitement.

Cataland et ses collègues [2014] ont analysé des biomarqueurs de l'activation terminale du complément dans le but d'identifier un marqueur diagnostique de SHUa qui permettrait de prédire une réponse à une inhibition du complément tôt dans le traitement. Ils ont également observé une augmentation du niveau du sC5b-9 chez tous les patients atteints d'un SHUa. Ils ont ensuite comparé la concentration des 19 patients atteints d'un SHUa à celle d'une cohorte de 38 patients⁹⁵ ayant reçu un diagnostic de PTT et ils ont noté qu'elle était significativement plus élevée chez les patients souffrant du SHUa (tableau 3). Toutefois, dû au chevauchement des concentrations, les auteurs ont été incapables d'établir un seuil de sC5b-9 permettant de différencier les patients atteints d'un SHUa de ceux atteints de PTT.

Tableau 3 Concentration en sC5b-9 chez des patients atteints de SHUa et PTT en phase aigüe

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

Source : Cataland *et al.*, 2014.

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

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

Noris et ses collègues [2014] ont analysé 44 patients ayant reçu un diagnostic de SHUa afin d'évaluer différentes méthodes d'analyses de l'activation du complément et d'identifier un biomarqueur pour le dosage de l'écilizumab. Le dosage du sC5b-9 a montré que 53 % (10/19) des patients en phase aigüe avaient un niveau supérieur à la normale. De plus, le niveau de sC5b-9 demeurait élevé chez 64 % (23/36) des patients en rémission. Les auteurs ont également observé un niveau inchangé du sC5b-9 chez huit patients suivant un traitement à l'écilizumab. À la suite de ces observations, les auteurs ont conclu que la concentration en sC5b-9 ne constitue pas un bon marqueur de l'activation du complément pour le SHUa.

Valeur clinique du dosage du sC5b-9 dans le SHUa

L'objectif de Bu et ses collègues [2015] était de mesurer le niveau du sC5b-9 dans une cohorte de patients en phase active (n = 55) et inactive (n = 29) de SHUa afin d'expliquer les résultats divergents des études de Volokhina et ses collaborateurs [2014], de Cataland et ses collaborateurs [2014] et de Noris et ses collaborateurs [2014]. Les critères d'inclusion des patients dans l'étude sont présentés à l'annexe B. Les auteurs ont observé un niveau élevé en sC5b-9 chez 24 de 55 cas actifs et 3 de 29 cas inactifs (p = 0,003). La concentration moyenne de sC5b-9 était de 289 ng/ml ± 120 ng/ml chez les patients en phase active de la maladie comparativement à 191 ng/ml ± 122 ng/ml en phase inactive (p < 0,001). Selon ces

⁹⁵ Provenant d'une autre étude [Wu et al., 2013].

auteurs, un niveau augmenté de sC5b-9 est indicatif d'un SHUa actif, mais le résultat du dosage (valeur prédictive positive de 89 % et négative de 46 %) devrait être intégré aux résultats de d'autres essais du complément.

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

Valeur clinique du sC5b-9 dans le SHUa secondaire

Jodele et ses collaborateurs [2014] ont analysé une cohorte prospective de 90 patients ayant reçu une greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) afin d'évaluer, entre autres, l'incidence de MAT dans ce groupe. Ils ont constaté qu'un plus grand nombre de patients démontrant une MAT avaient un niveau élevé en sC5b-9 au diagnostic comparativement aux 20 greffés sans MAT analysés 30 jours après la greffe qui correspondait au temps médian pour le diagnostic de MAT (32 jours [EIQ : 17 à 43]). Par ailleurs, la concentration en sC5b-9 chez les patients GCSH avec MAT était plus élevée (tableau 4).

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

sC5b-9	AVEC MAT	SANS MAT	VALEUR p
Concentration élevée*	26/39 (67 %)	4/20 (20 %)	< 0,01
Concentration médiane (ng/ml)	332,9 (IEQ : 274,45 à 445,05)	201,4 (IEQ : 171,7 à 273,9)	0,03

Abréviations : IEQ : intervalle interquartile; MAT : microangiopathie thrombotique

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

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

5.2 Valeur pronostique

Dans la littérature, deux études associant un mauvais pronostic à une MAT secondaire avec une concentration élevée en sC5b-9 ont été repérées [Farkas *et al.*, 2017a; Jodele *et al.*, 2014].

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

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

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

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

Farkas et ses collègues [2017] se sont intéressés, entre autres, à la relation entre l'activation du complément et l'inflammation sur le pronostic des patients souffrant d'une MAT secondaire. Cette étude portait sur 3 groupes, un groupe de 53 patients atteints d'une MAT secondaire à une autre condition (cancer, maladie auto-immune, sepsie, greffe d'organe solide ou opération à cœur ouvert)⁹⁶, un groupe de 41 patients

⁹⁶ Âge moyen de 49 ans $\pm$ 20 ans (2 à 82)

avec une condition similaire au premier groupe sans MAT⁹⁷ et 34 sujets sains⁹⁸. Le taux de mortalité à 30 jours était de 53 % chez les patients avec une complication de MAT.

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

5.3 Valeur thérapeutique

Deux études ayant analysé la concentration en sC5b-9 chez des patients atteints de MAT ont été repérées dans la littérature [Wehling *et al.*, 2017; Jodele *et al.*, 2016].

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

Wehling et ses collègues [2017] se sont intéressés aux marqueurs de l'activation du complément et les bénéfices du dosage à l'éculizumab chez des patients atteints du SHUa (n = 12) et de glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3, n = 9). L'activation du complément a été analysée, entre autres, par un essai hémolytique de la voie classique (CH50) et de la voie alterne (APH50), et par un dosage en sC5b-9 avant le traitement et à 3 et 6 mois suivant le début du traitement (figure 2). Une inhibition significative du complément a été observée à trois et six mois suivant l'initiation du traitement, comme il est démontré par une réduction de l'activité CH50 chez les patients avec un SHUa et une GC3. Une inhibition de l'activité APH50 a également été démontrée pour le SHUa. Une baisse significative de la concentration en sC5b-9 a été constatée suivant le traitement chez les patients atteints du SHUa (à trois mois seulement) et de GC3. Cependant, un niveau élevé de sC5b-9 a été constaté chez 10 des 22 patients avec un SHUa et 4 des 17 patients avec une GC3 malgré un traitement à l'éculizumab. De même, 3 de 9 patients avec une GC3 ont eu une récurrence et 3 autres sont demeurés en rémission partielle. Les auteurs ont suggéré que des études supplémentaires étaient nécessaires afin d'évaluer la pertinence clinique à mesurer l'activité du complément résiduelle observée même chez des patients montrant des niveaux d'éculizumab augmentés de 5 et 10 fois. Les auteurs ont conclu qu'une analyse exhaustive du complément accompagnée d'un dosage d'éculizumab est nécessaire pour distinguer le mode d'activation du complément et l'efficacité du traitement dans les pathologies rénales.

⁹⁷ Âge moyen de 41 ans ± 21 ans (1 à 79)

⁹⁸ Âge moyen de 51 ans ± 8 ans (36 à 67)

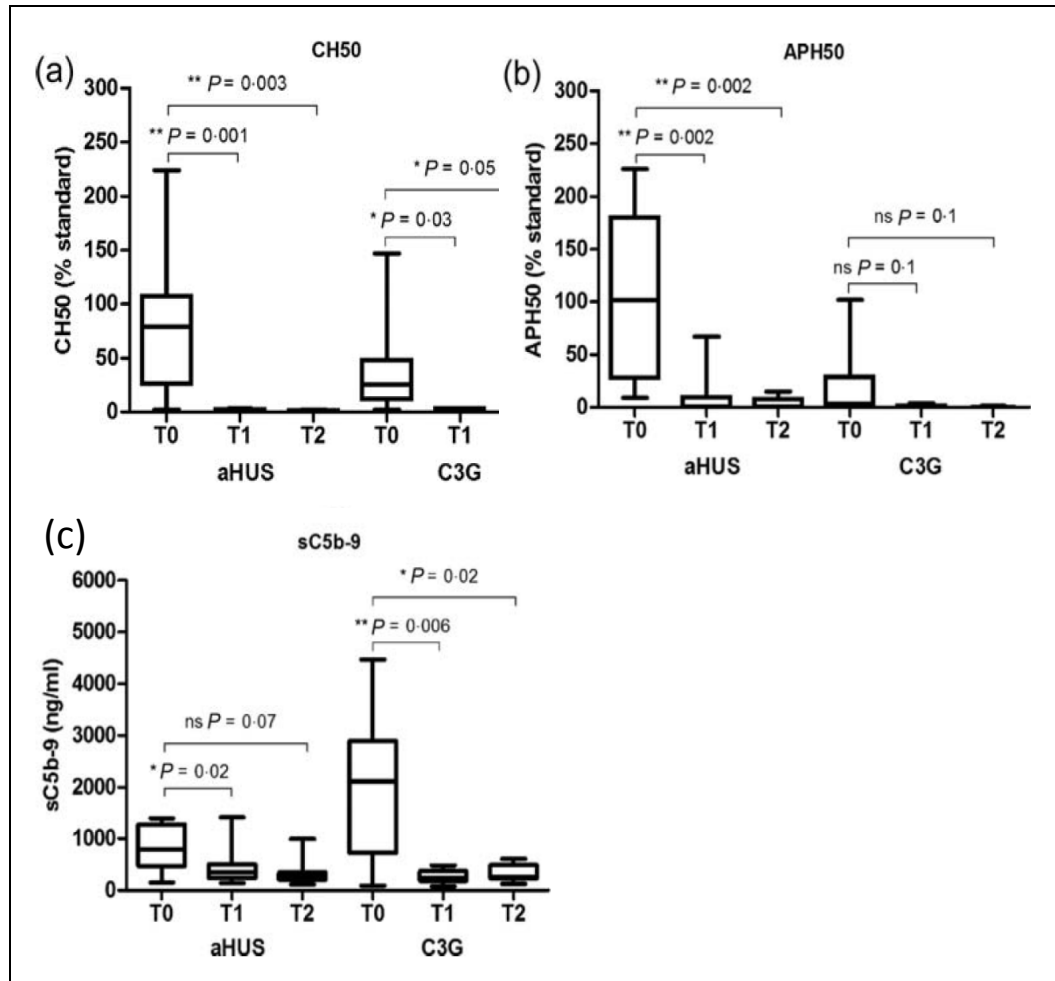


Figure 2 Paramètres de l'activation du complément dans le SHUa et la GC3

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

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

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

Source : Wehling et al., 2017

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

Jodele et ses collègues [2016] ont analysé la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de l'éculizumab chez des enfants et jeunes adultes souffrant d'une MAT secondaire à une GCSH. Les auteurs se sont également intéressés à l'activation de la voie du complément dans ce contexte afin d'élaborer une stratégie de dosage d'éculizumab. Le dosage du sC5b-9 chez les patients montrait que la concentration était normale avant la chimiothérapie précédant la GCSH (inférieure à 244 ng/ml), mais qu'elle augmentait jusqu'à l'initiation du traitement à l'éculizumab. La concentration en sC5b-9 chez les 18 patients traités à l'éculizumab n'était pas significativement différente de celle des 11 patients non traités (373,5 ng/ml contre 458,5 ng/ml; $p = 0,24$).

Les auteurs ont élaboré un modèle permettant de faire une simulation à partir du poids du patient, de la dose d'éculizumab et de la concentration en sC5b-9 avant le traitement afin de prédire à quel moment la concentration d'éculizumab sérique tomberait sous le seuil thérapeutique⁹⁹. À l'aide de ce modèle, les auteurs ont déterminé que les patients qui avaient une concentration en sC5b-9 supérieure à 488 ng/ml au diagnostic de la MAT nécessitaient un traitement de 11 à 13 jours avec une inhibition adéquate de l'activité du complément¹⁰⁰ afin de normaliser le niveau en sC5b-9. Chez les patients ayant une concentration en sC5b-9 inférieure à 488 ng/ml, un traitement de 2 à 5 jours à l'éculizumab suffisait pour normaliser le niveau du sC5b-9. Selon les auteurs, la normalisation de la concentration en sC5b-9 corrèle avec une réponse clinique au traitement basé sur les paramètres hématologiques et la fonction rénale. Enfin, les auteurs suggèrent que leur approche de traitement individualisé basé sur la pharmacodynamique de l'éculizumab, en fonction de la concentration initiale du sC5b-9 et du poids, devrait être appliquée afin d'optimiser le dosage d'éculizumab. Cependant, les auteurs soulignent que le modèle proposé devrait être validé chez des cohortes pédiatriques plus importantes et chez des cohortes adultes.

5.4 Validité analytique

Le demandeur propose d'utiliser la trousse commerciale MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel pour son analyse ELISA. Il s'agit de la même trousse qui a été utilisée pour la majorité des études citées dans la section de l'évaluation de la valeur diagnostique de cet avis [Farkas *et al.*, 2017a; Song *et al.*, 2017; Bu *et al.*, 2015; Cataland *et al.*, 2014; Noris *et al.*, 2014].

La trousse commerciale MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} comporte 2 contrôles, un à basse concentration et un à concentration élevée. La trousse comporte également cinq standards permettant d'établir une courbe étalon pour déterminer la concentration en sC5b-9 dans l'échantillon à analyser.

Les coefficients de variation pour la validation intra-essai et inter-essai de la trousse sont présentés au tableau 5. La limite inférieure de détection de quantification pour l'analyse est de 3,7 ng/ml. La limite inférieure de quantification, qui représente la concentration minimale de la courbe standard qui répond aux critères du Clinical and Laboratory Standards Institute pour la précision, est de 8,8 ng/ml. Le coefficient de corrélation (r) de la courbe standard doit être supérieur à 0,95. La valeur de sa pente (m) doit être comprise entre 0,0039 et 0,0123 et l'ordonnée à l'origine (b) doit se situer entre - 0,189 et + 0,201. Le recouvrement de la trousse est de 94 % (86 % à 104 %).

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

¹⁰⁰ Vérifiée par l'essai CH50.

Tableau 5 Coefficients de variation (%) calculés par le fabricant de la trousse MICROVUE Complement sC5b-9 Plus^{MC} de Quidel

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

Source : feuillet de la trousse MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel
 Abréviation : CV : coefficient de variation

Limites de la trousse :

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

Autre laboratoire ayant eu recours à la trousse MICROVUE Complement sC5b-9 Plus^{MC} de Quidel

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

Données fournies par le demandeur

Tableau 6 Données de validation fournies par le laboratoire demandeur

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

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

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA. Cette analyse cible les patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 %. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 7. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

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

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse du dosage du complément sC5b-9 au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	13	13	13	39
Coûts	2 199 \$	2 199 \$	2 199 \$	6 597 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse du dosage du complément sC5b-9 au <i>Répertoire</i>				
Analyses par CHUSJ	159	159	159	477
Coûts	17 649 \$	17 649 \$	17 649 \$	52 947 \$
Impact net	15 450 \$	15 450 \$	15 450 \$	46 350 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			33 300 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			48 015 \$

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

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

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

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

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)

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

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

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

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

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

SHU International

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

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

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage du complément sC5b-9

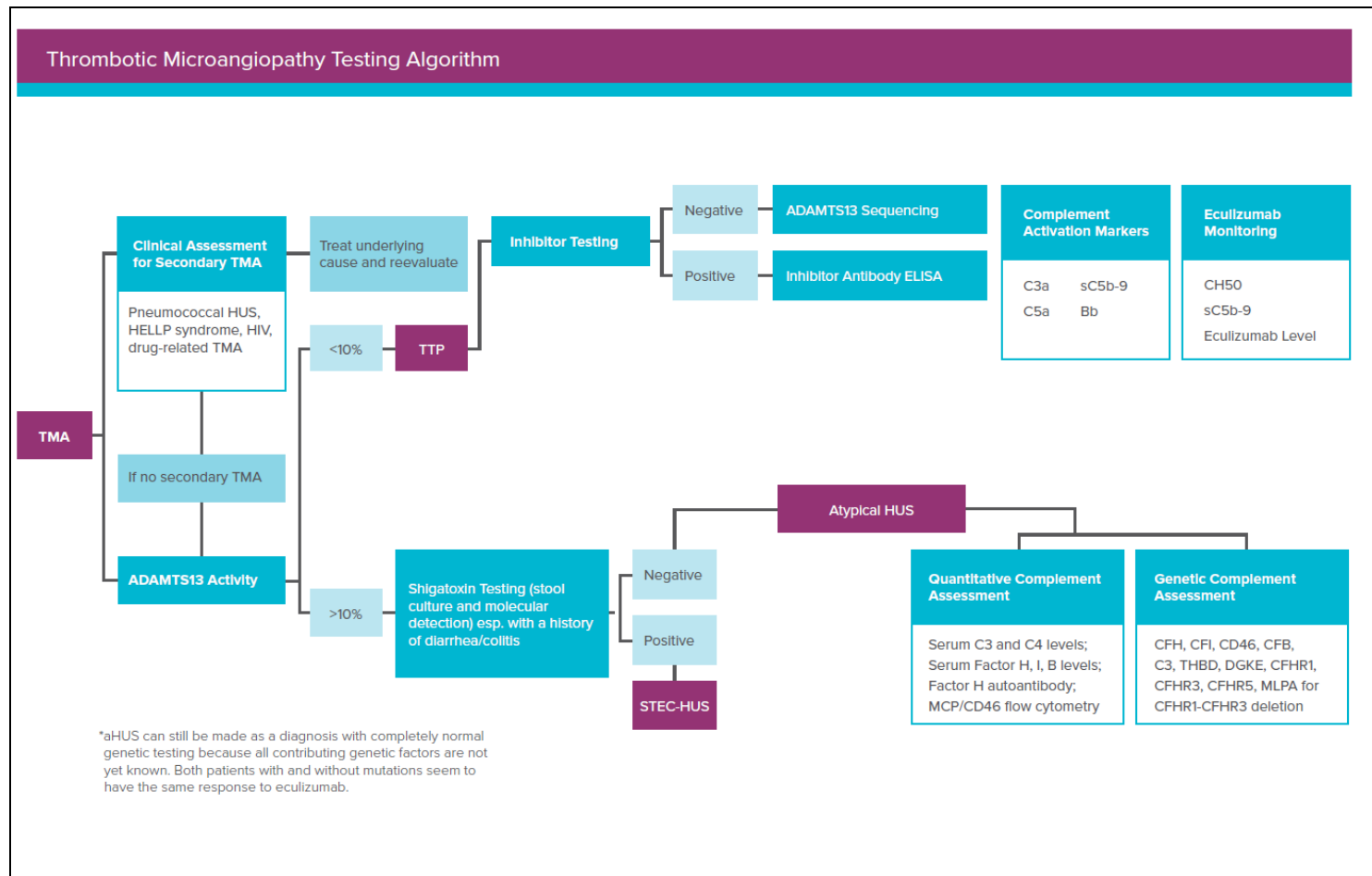
La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Les données probantes ont été jugées insuffisantes pour recommander l'introduction de l'analyse.
- ✓ Les organisations d'intérêt consultées lors de l'évaluation ne recommandent pas l'utilisation de cette analyse.

ANNEXE A : Algorithme diagnostic pour les microangiopathies thrombotiques du Cincinnati Children's hospital



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

ANNEXE B : Critères d'inclusions des études présentées à la section diagnostique

ÉTUDE	PATIENTS (n)	CRITÈRES D'INCLUSION
[Volokhina <i>et al.</i> , 2015]	17	Anémie hémolytique, thrombopénie et insuffisance rénale aigüe Ces auteurs n'utilisaient pas la trousse commerciale Microvue Complement SC5b-9 Plus ^{MC} de la compagnie Quidel.
[Song <i>et al.</i> , 2017]	156	Anémie hémolytique aigüe, schizocytes sur frottis, thrombopénie (numération plaquettaire < 150 x 10 ⁹ /l), niveau élevé de lactate déshydrogénase, test de Coombs négatif et/ou insuffisance rénale Les sujets sains avaient une concentration en sC5b-9 de 139,5 ng/ml à 448 ng/ml.
[Cataland <i>et al.</i> , 2014]	19	Numération plaquettaire inférieure à 100 x 10 ⁹ /l, taux de créatinine supérieur à 2,25 mg/dl et activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % Valeurs normales en sC5b-9 : 33,9 ng/ml à 238,2 ng/ml
[Noris <i>et al.</i> , 2014]	149	Niveau d'hématocrite inférieur à 30 %, taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, niveau de lactate déshydrogénase supérieur à 460 U/l, heptaglobine indétectable, schizocytes sur frottis sanguin, numération plaquettaire inférieure à 150 000/ml et insuffisance rénale. Les critères d'exclusion étaient un STEC-HUS et activité d'ADAMTS-13 inférieure à 20 %. Valeurs normales en sC5b-9 : 127 ng/ml à 400 ng/ml
[Bu <i>et al.</i> , 2015]	84	Anémie hémolytique, numération plaquettaire inférieure à 150 000/μl et une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % Valeurs normales en sC5b-9 : 50 ng/ml à 300 ng/ml
[Jodele <i>et al.</i> , 2014]	39	Le diagnostic de la MAT répondait aux critères suivants : 1) un niveau de lactate déshydrogénase au-dessus de la limite supérieure normale pour l'âge, 2) nouvelle thrombopénie avec une numération plaquettaire inférieure à 50 x 10 ⁹ /l ou une diminution de plus de 50 % du compte, 3) une nouvelle anémie avec un taux d'hémoglobine sous la limite inférieure de la normale ou un besoin de transfusion, 4) la présence de schizocytes dans la circulation périphérique ou une évidence de microangiopathie en histologie et 5) une absence de coagulopathie et un test de Coombs négatif. Tous les critères devaient être présents et les critères 1 à 4 devaient être documentés sur au

		moins deux tests consécutifs pour être considérés positifs. Valeurs normales en sC5b-9 : 72 ng/ml à 244 ng/ml
[Farkas <i>et al.</i> , 2017b]	53	Le diagnostic de la MAT secondaire répondait aux critères suivants : 1) thrombopénie (inférieur à 150 g/l), 2) anémie avec un test de Coombs négatif et schizocytes sur frottis sanguin, 3) présence d'une autre condition médicale (cancer, maladie auto-immune, sepsis, greffe d'organe solide ou opération à cœur ouvert). Les patients répondant à un seul critère (critère 1 ou critère 2) avec une condition coexistante (critère 3) étaient inclus dans le groupe témoin. Une concentration supérieure ou égale à 421 ng/ml est considérée élevée.

RÉFÉRENCES

- Alba-Dominguez M, Lopez-Lera A, Garrido S, Nozal P, Gonzalez-Granado I, Melero J, et al. Complement factor I deficiency: A not so rare immune defect. Characterization of new mutations and the first large gene deletion. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:42.
- Bu F, Meyer NC, Zhang Y, Borsa NG, Thomas C, Nester C, Smith RJ. Soluble c5b-9 as a biomarker for complement activation in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Kidney Dis* 2015;65(6):968-9.
- Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108(4):1267-79.
- Cataland SR, Holers VM, Geyer S, Yang S, Wu HM. Biomarkers of terminal complement activation confirm the diagnosis of aHUS and differentiate aHUS from TTP. *Blood* 2014;123(24):3733-8.
- De Lorenzo A, Tallon S, Hernandez-Sevillano B, de Arriba G. C3 glomerulopathy: A new complement-based entity. *Rev Clin Esp (Barc)* 2014;214(5):266-74.
- Farkas P, Csuka D, Mikes B, Sinkovits G, Reti M, Nemeth E, et al. Complement activation, inflammation and relative ADAMTS13 deficiency in secondary thrombotic microangiopathies. *Immunobiology* 2017;222(2):119-27.
- Ferraris JR, Ferraris V, Acquier AB, Sorroche PB, Saez MS, Ginaca A, Mendez CF. Activation of the alternative pathway of complement during the acute phase of typical haemolytic uraemic syndrome. *Clin Exp Immunol* 2015;181(1):118-25.
- Go RS, Winters JL, Leung N, Murray DL, Willrich MA, Abraham RS, et al. Thrombotic microangiopathy care pathway: A consensus statement for the Mayo Clinic Complement Alternative Pathway-Thrombotic Microangiopathy (CAP-TMA) Disease-Oriented Group. *Mayo Clin Proc* 2016;91(9):1189-211.
- Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Fremeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2017;91(3):539-51.
- Grumach AS et Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol* 2014;61(2):110-7.
- Jodele S, Fukuda T, Mizuno K, Vinks AA, Laskin BL, Goebel J, et al. Variable eculizumab clearance requires pharmacodynamic monitoring to optimize therapy for thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22(2):307-15.
- Jodele S, Davies SM, Lane A, Khoury J, Dandoy C, Goebel J, et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: A study in children and young adults. *Blood* 2014;124(4):645-53.

- Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33(6):508-30.
- Loirat C et Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60.
- Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31(1):15-39.
- Noris M, Galbusera M, Gastoldi S, Macor P, Banterla F, Bresin E, et al. Dynamics of complement activation in aHUS and how to monitor eculizumab therapy. *Blood* 2014;124(11):1715-26.
- Prohaszka Z, Nilsson B, Frazer-Abel A, Kirschfink M. Complement analysis 2016: Clinical indications, laboratory diagnostics and quality control. *Immunobiology* 2016;221(11):1247-58.
- Réti M, Farkas P, Csuka D, Razso K, Schlammadinger A, Udvardy ML, et al. Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2012;10(5):791-8.
- Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Song D, Liu XR, Chen Z, Xiao HJ, Ding J, Sun SZ, et al. The clinical and laboratory features of Chinese Han anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2017;32(5):811-22.
- Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.
- Thurman JM, Marians R, Emlen W, Wood S, Smith C, Akana H, et al. Alternative pathway of complement in children with diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(12):1920-4.
- Volokhina EB, Westra D, van der Velden TJ, van de Kar NC, Mollnes TE, van den Heuvel LP. Complement activation patterns in atypical haemolytic uraemic syndrome during acute phase and in remission. *Clin Exp Immunol* 2015;181(2):306-13.
- Wehling C, Amon O, Bommer M, Hoppe B, Kentouche K, Schalk G, et al. Monitoring of complement activation biomarkers and eculizumab in complement-mediated renal disorders. *Clin Exp Immunol* 2017;187(2):304-15.
- Wu TC, Yang S, Haven S, Holers VM, Lundberg AS, Wu H, Cataland SR. Complement activation and mortality during an acute episode of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2013;11(10):1925-7.

TITRATION D'ANTICORPS ANTI-C1-INHIBITEUR

(RÉFÉRENCE - 2017.01.013)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHU – Sainte-Justine.
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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 Hugo Chapdelaine, (Immunologie clinique et allergie, Médecine interne, CHUM);
- D^r Benoît Laramée, (Immunologie clinique et allergie, Médecine interne, Clinique médicale de Repentigny).

2 RÉSUMÉ

Dans le contexte actuel, les patients souffrant d'angio-œdème acquis ne disposent pas tous d'un diagnostic confirmé par une analyse de laboratoire disponible au Québec.

Les symptômes de ces patients apparaissent généralement après 40 ans et ceux-ci n'ont pas d'antécédents familiaux d'angio-œdème. Ils présentent fréquemment une maladie sous-jacente telle que la gammapathie monoclonale de signification indéterminée, un désordre clonal des cellules B ou un désordre auto-immunitaire.

Ces patients présentent une baisse de l'activité du C1-Inhibiteur et de l'antigène C4 comme pour les formes héréditaires d'angio-œdème associées à un déficit en C1-Inh. La baisse de l'antigène C1q est un marqueur de laboratoire permettant la distinction des formes héréditaires et acquises d'angio-œdème dépendantes du C1-Inh. Ce dernier marqueur n'est toutefois pas diminué chez tous les patients atteints d'angio-œdème acquis. En présence d'un niveau normal d'antigène C1q, la mise en évidence d'un anticorps dirigé contre le C1-Inh permet de confirmer un diagnostic d'angio-œdème acquis.

Au Québec, en 2015-2016 la titration de l'anticorps dirigé contre le C1-Inh a été demandée à deux reprises et les analyses ont été réalisées à l'extérieur du Québec.

L'association entre la présence d'anticorps dirigés contre le C1-Inhibiteur et l'angio-œdème acquis est démontrée dans la littérature depuis plus de 30 ans. Des études rétrospectives réalisées par des centres de référence en angio-œdème indiquent que les patients atteints d'angio-œdème acquis ne présentent pas tous une maladie sous-jacente associée (73 % et 78 %) ou un niveau faible de l'antigène C1q (81 % et 91 %). Ces mêmes études démontrent qu'un anticorps dirigé contre le C1-Inhibiteur était présent chez 47 % et 66 % des patients atteints d'angio-œdème acquis.

La revue de littérature n'a pas permis de mettre en évidence d'étude de validation de la titration d'anticorps dirigés contre le C1-Inhibiteur par ELISA.

La validation locale de l'analyse proposée se résume à des essais de répétabilité intra-plaque et inter-plaques.

Les analyses réalisées à l'extérieur du Québec peuvent engendrer des délais de plusieurs mois dans la confirmation du diagnostic d'angio-œdème acquis.

Le Quality Assessment and Standardization Committee de l'International Union of Immunological Societies recommande l'analyse de l'anti-C1-Inh pour le diagnostic de l'angio-œdème acquis et indique que l'analyse est généralement réalisée par ELISA. L'organisme propose un contrôle de qualité externe auquel 10 laboratoires ont participé en 2015.

L'European Academy of Allergy and Clinical Immunology présente la présence d'anti-C1-Inh comme un outil diagnostique pour l'angio-œdème acquis au même titre qu'un niveau bas de C1q.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Titration d'anticorps anti-C1-Inhibiteur (anti-C1-Inh) afin de confirmer un angio-œdème dépendant du C1-Inhibiteur (C1-Inh) de type acquis par la présence d'auto ou allo-anticorps dirigés contre celui-ci.

3.2 Description de la méthode

Cette analyse repose sur la liaison d'un anti-C1-Inhibiteur présent dans l'échantillon sanguin du malade à l'antigène C1-Inh (Bérinert^{MC}) préalablement fixé aux puits d'une plaque. La présence d'anti-C1-Inhibiteur est ensuite détectée à l'aide d'un anticorps secondaire dirigé contre les immunoglobulines humaines (IgG, IgM et IgA) et couplé à la peroxydase. L'ajout d'un substrat de la peroxydase, l'orthophénylène diamine, résulte en une réaction enzymatique colorimétrique (figure 1). Suite à l'ajout d'une solution d'arrêt, l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 492 nm. Des dilutions en série des échantillons sont inoculées sur les plaques. La dernière dilution dont la densité optique est positive représente le titre d'anticorps.

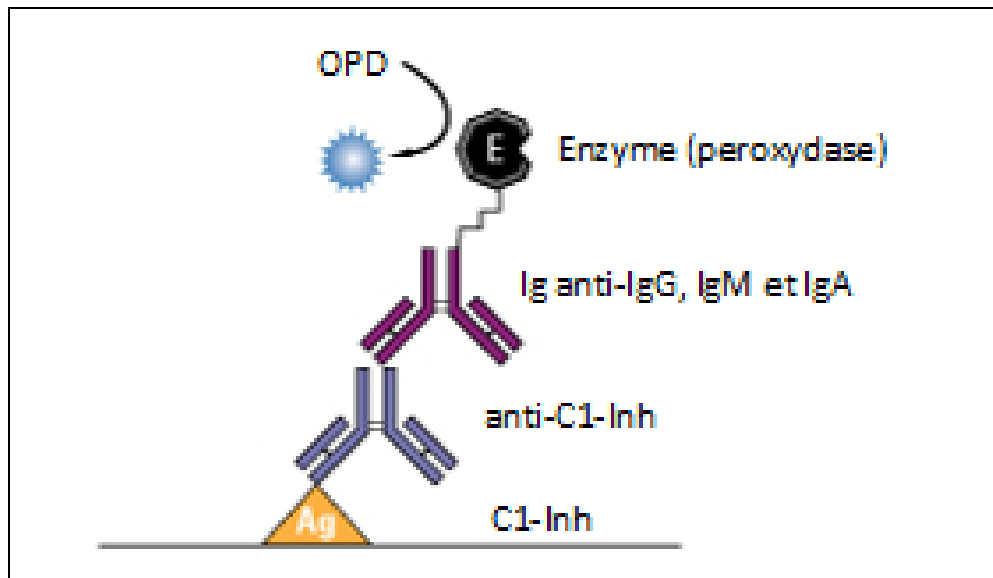


Figure 1 Méthode ELISA pour la titration d'anticorps dirigés contre le C1-Inhibiteur

Source : Adapté du Diagram of common ELISA formats (direct vs. Sandwich assays) du site Web Overview of ELISA de Thermo Fisher Scientific, disponible à : <https://www.thermofisher.com/ca/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>.

Abréviations : Ag : antigène; anti-C1-Inh : anticorps dirigé contre le C1-Inhibiteur; C1-Inh : C1-Inhibiteur; Ig : immunoglobulines; OPD : O-Phénylènediamine dihydrochloride.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les échantillons de plasma sont prélevés dans les centres de prélèvement de la province. Ceux-ci sont acheminés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine.

Les analyses seront réalisées à l'intérieur d'un mois. Le délai sera ajusté en fonction du volume d'analyses demandées et de l'urgence des demandes.

3.4 Société ou concepteur

Protocole maison

3.5 Homologation

Test maison non homologué par Santé Canada et par la Food and Drug Administration.

3.6 Valeur pondérée : 108

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients atteints d'angio-œdème associé à une activité significativement réduite du C1-Inh.

Patients atteints d'angio-œdème héréditaire traités avec un C1-Inh de remplacement qui présentent une perte de réponse au traitement.

4.2 Description de la maladie visée

L'angio-œdème est un gonflement transitoire sous-cutané ou des muqueuses [Bernstein *et al.*, 2017] C'est un syndrome potentiellement mortel avec plusieurs sous-types, chacun ayant une pathophysiologie distincte [LoVerde *et al.*, 2017]. Les différents types d'angio-œdème sont présentés à l'annexe A.

Les deux grandes classes d'angio-œdème sont d'origine histaminique et d'origine bradykinique. Les angio-œdèmes histaminiques ou allergiques résultent de la dégranulation des mastocytes et de la libération d'histamines, de leucotriènes, de protéases telles que la tryptase et de cytokines inflammatoires.

Les angio-œdèmes bradykiniques résultent d'une accumulation de bradykinine. Celle-ci est causée par une augmentation de la synthèse de la bradykinine ou par une diminution de son catabolisme. Lors d'un traumatisme, le facteur XII est activé, il active à son tour la kallikréine qui transforme le kininogène de haut poids moléculaire en bradykinine. La bradykinine induit un puissant effet vasodilatateur en se liant au récepteur B2 (de l'anglais *bradykinine receptor 2*). La bradykinine est rapidement dégradée par plusieurs enzymes dont l'aminopeptidase P, la carboxypeptidase N et l'enzyme de conversion de l'angiotensine [LoVerde *et al.*, 2017].

Notons que trois types d'angio-œdème sont dépendants du C1-Inh :

- AOH-1, AOH-2 (dépendants du C1-Inh)
- Angio-œdème acquis (AOA)

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur prévoit effectuer entre 20 et 40 analyses par année pour le Québec.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic d'AOA repose sur le tableau clinique, le niveau d'antigène C4, l'activité du C1-Inh ainsi que le niveau d'antigène C1q. La titration de l'anticorps dirigé contre le C1-Inh est actuellement réalisée à l'extérieur du Québec.

4.5 Données médico-administratives

Le dosage de l'anti-C1-Inh n'est pas inscrit au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*). Selon les bases de données du MSSS, l'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec en 2014-2015 et de 2 envois hors Québec en 2015-2016 pour un coût total de 145,86 \$. Les analyses hors Québec ont été réalisées au National Jewish Medical and Research Center (Denver, Colorado). Les principales analyses inscrites au *Répertoire* qui permettent de déterminer le type d'angio-œdème sont mentionnées au tableau 1.

Tableau 1 Principales analyses reliées au diagnostic de l'angio-œdème inscrites au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* pour les périodes 2014-2015 et 2015-2016

ANALYSE	CODE	VALEUR PONDÉRÉE (UNITÉS)	ANNÉES	VOLUME	COÛT ANNUEL
Complément C4 (antigène)	20777	4,7	15-16	41 796	196 441
			14-15	40 773	191 635
Complément-Inhibiteur du C1 (antigène)	20961	7,6	15-16	1 166	8 861,6
		7,7	14-15	1 360	10 472
Complément-Inhibiteur du C1 (activité)	20966	38	15-16	713	27 094
		39	14-15	779	30 381
Polymorphismes et mutations pour la maladie de l'angio-œdème (détection dans les gènes <i>APP</i> , <i>ACE</i> , <i>PAI-1</i> , <i>FXII</i>) (TAAN)	25054	239	15-16	9	2 151
	20071	244	14-15	6	1 464
Complément C1q (antigène)	20996	26,0	15-16	186	4 836
			14-15	179	4 654

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'analyse proposée permettra de confirmer un angio-œdème dépendant du C1-Inh de type acquis par présence d'auto ou allo-anticorps anti-C1-Inh.

Un résultat positif à une recherche d'anticorps anti-C1-Inh permettra d'orienter le médecin traitant vers une immunothérapie (corticostéroïdes, rituximab).

4.7 Assurance qualité

Le demandeur propose de réaliser un contrôle externe avec le centre français de référence en angio-œdème (CHU Grenoble). Il anticipe de réaliser ce contrôle 4 fois la première année et de réévaluer la fréquence par la suite. Bien que le demandeur privilégie une formule selon laquelle le CHU de Grenoble leur envoie un échantillon à tester 4 fois par an, la formule du contrôle de qualité externe reste à déterminer.

De plus, à chaque procédure, le demandeur utilise 12 plasmas négatifs pour établir le seuil de positivité. Une titration est également effectuée avec un plasma positif de concentration connue pour valider l'expérience (dilutions 1/50 à 1/3 200).

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

C'est en 1986 qu'un autoanticorps IgG dirigé contre le C1-Inh était mis en évidence pour la première fois chez un patient atteint d'AOA [Jackson *et al.*, 1986]. Dès l'année suivante, la méthode ELISA était mise au point et décrite dans une étude démontrant que la présence d'autoanticorps dirigés contre le C1-Inh était la cause de l'AOA chez 2 patients [Alsenz *et al.*, 1987]. Les études subséquentes repérées ont référé à cette étude lors de la description de leur méthode.

L'étude d'Alsenz et ses collaborateurs a été réalisée dans le but de déterminer l'étiologie de la déficience acquise en C1-Inh chez 2 patients ne présentant pas de maladie associée à un angio-œdème acquis [Alsenz *et al.*, 1987]. Ces patients présentaient également une résistance aux traitements avec C1-Inh de remplacement et agents antifibrinolytiques (prophylactiques). Les patients avaient un diagnostic de déficience acquise en C1-Inh avec angio-œdème (AOA) déterminé d'après un historique clinique caractéristique des niveaux sériques faibles de C1q, C4 et l'absence de C1-Inh fonctionnel.

Lors de la chromatographie d'affinité ciblant le C1-Inh de ces patients, un IgG absent du sérum et du plasma normal humain a été copurifié. Les auteurs ont alors cherché des anticorps dirigés contre le C1-Inh dans le sérum et le plasma de ces patients par ELISA. Pour ce faire, ils ont utilisé des plaques dont les puits étaient recouverts de C1-Inh purifié à partir de sérum humain normal. De hauts titres d'IgG anti-C1-Inh étaient présents dans le sérum et dans le plasma des 2 patients (tableau 2).

Tableau 2 Caractéristiques des patients atteints d'angio-œdème acquis

MARQUEUR MOLÉCULAIRE	1 ^{er} PATIENT	2 ^e PATIENT	VALEURS NORMALES
Antigène C1-Inh (mg/dl)	14	12	18 à 22
Activité C1-Inh (%)	0	0	90 à 110
Antigène C4 (U/ml)	198	49	30 000 à 70 000
Titres d'anti-C1-Inh	1 600	400	0
Complexe C1-Inh-anti-C1-Inh	±	++	-

Abréviations : Anti-C1-Inh : anticorps dirigés contre le C1-Inh; C1-Inh : C1-Inhibiteur;

Ces anticorps n'étaient ni présents dans les sérums et plasmas de 2 individus normaux, ni dans 8 sérums provenant de patients atteints d'angio-œdème héréditaire non dépendant du C1-Inh.

Les auteurs ont ainsi décrit une forme d'AOA dépendante du C1-Inh causée par la présence d'un anticorps dirigé contre le C1-Inh. Les patients atteints étaient différents des autres patients atteints d'AOA sur les points suivants :

- Aucune maladie lymphoproliférative associée, ni anomalie des lymphocytes B;
- Leur niveau d'antigène C1-Inh était entre 60 % et 70 % des valeurs normales alors qu'il est généralement inférieur à 30 % dans les autres formes d'angio-œdème acquis;
- Leur sérum contenait une quantité importante d'autoanticorps dirigés contre le C1-Inh (titres positifs à des dilutions de 1/400 et 1/1 600);
- Les patients présentaient une résistance partielle ou totale à la thérapie de remplacement avec du C1-Inh purifié [Alsenz *et al.*, 1987].

Études rétrospectives des patients atteints d'angio-œdème acquis

Deux études rétrospectives ont été réalisées dans des centres de référence en angio-œdème européens en 2016 et 2017 [Zanichelli *et al.*, 2017; Gobert *et al.*, 2016]. Les études visaient toutes deux à décrire les manifestations cliniques, les maladies sous-jacentes et les réponses aux traitements.

La première étude, celle réalisée par Zanichelli et ses collaborateurs [2017], inclut 77 patients diagnostiqués avec un AOA au centre de référence de Milan en Italie entre 1976 et 2015. Leur diagnostic était basé sur une histoire d'angio-œdème récurrent sans urticaire et sur un niveau de l'antigène C1-Inh réduit ou une fonction réduite du C1-Inh ainsi qu'un niveau de l'antigène C4 inférieur à 50 % de la normale, similaire aux patients atteints d'AOH de types 1 et 2. Contrairement à ces derniers, aucun des patients n'avait d'antécédents familiaux d'angio-œdème et leurs symptômes débutaient après 40 ans.

La seconde étude, celle réalisée par Gobert et ses collaborateurs, présente une série de 92 patients diagnostiqués d'AOA entre 1991 et 2015. Les patients devaient présenter des épisodes d'angio-œdème récurrents, cutanés ou des muqueuses, résistants aux traitements antihistaminiques ou de corticostéroïdes. Leurs symptômes devaient débuter après 40 ans et ils devaient présenter une activité du C1-Inh inférieure à 50 % de la normale ainsi qu'une baisse du C1q ou un anti-C1-Inh. Les patients avec une forme d'angio-œdème héréditaire ont été exclus.

Les maladies lymphoprolifératives sous-jacentes identifiées et les marqueurs de laboratoires testés sont présentés au tableau 3. Pendant la période couverte, le centre de Milan a également identifié 675 patients atteints d'AOH-C1-Inh pour une proportion AOA : AOH-C1-Inh d'environ 1 : 9 (10,2 %). L'étude française a estimé la prévalence de l'AOA à 11 % des 610 patients suivis pour angio-œdème par le laboratoire d'immunologie de Grenoble. Dans les deux études, l'âge médian d'apparition des symptômes d'angio-œdème était de 62 ans.

Tableau 3 Caractéristiques des patients atteints d'angio-œdème acquis

CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTS ATTEINTS D'AOA	ZANICHELLI, 2017 (77 PATIENTS)	GOBERT, 2016 (92 PATIENTS)
Âge au début des symptômes (IQR)	62 ans (IQR : 51-68)	62 ans (IQR : 18)
Sans MLP (Ac+)	21 (12)	20 (16)
MLP sauf MGUS (Ac+)	24 (14)	44 (10)
MGUS (Ac+)	32 (22)	28 (17)
C1-Inh Antigène < 50%	73	Nd
C1-Inh fonction < 50%	77	92*
C4 < 50%	76	Nd
C1q ≤ 70%	59/73 testés	84
Anti-C1-Inh	48/73 testés	43

Abréviations : Ac+ : nombre de patients présentant des autoanticorps dirigés contre le C1-Inh; MLP : maladie lymphoproliférative; MGUS : gammopathie monoclonale de signification indéterminée de l'anglais *monoclonal gammopathy of unknown significance*.

* Fait partie des critères du diagnostic d'AOA

Les deux études ont respectivement identifié des anticorps dirigés contre le C1-Inh chez 48 patients (66 %) et 43 patients (47 %). Ceux-ci ont été identifiés tant chez les patients atteints de maladies lymphoprolifératives ou de gammopathie monoclonale de signification indéterminée que chez les patients sans maladie lymphoproliférative sous-jacente.

Notons que dans l'étude française, la présence d'un anticorps anti-C1-Inh ou un niveau de C1q réduit était requis pour établir le diagnostic d'AOA. Dans cette étude, les 8 patients dont le niveau de C1q était normal présentaient un anti-C1-Inh.

Ces études démontrent que la baisse du niveau d'antigène C1q est un marqueur de laboratoire qui ne permet pas de confirmer le diagnostic de tous les patients atteints d'AOA (81 % dans l'étude italienne et 91 % dans l'étude française). De plus, l'étude française démontre que la mise en évidence d'un anticorps dirigé contre le C1-Inhibiteur est un marqueur de laboratoire qui complémente le marqueur C1q pour le diagnostic de l'angio-œdème acquis.

Traitement des patients atteints d'AOA-C1-Inh

Le traitement des épisodes d'angio-œdème chez ces patients a été documenté dans les deux études et est présenté au tableau 4. Les critères d'efficacité de traitement étaient les mêmes dans les deux études, soit :

- En période de crise : résorption de l'angio-œdème à l'intérieur de 24 heures suivant le début du traitement;
- En prophylaxie : réduction de la fréquence des crises de 50 %.

L'étude italienne indique que 100 % des patients (49/49) traités avec un C1-Inh dérivé du plasma (pdC1-Inh) ont répondu à une première dose de ce traitement. Parmi ceux-ci, le pdC1-Inh a été administré à 3 reprises ou plus chez 35 patients et 8 ont présenté une perte de réponse à ce traitement. Dans l'étude française, une réponse a été obtenue à ce même traitement chez 90 % des patients (19/21). La réponse à l'icatibant (bloqueur du récepteur de la bradykinine) a été obtenue chez 100 % des patients traités, soit 27 patients et 26 patients.

Le rituximab a été administré à 34 patients de l'étude française; 10 avec un lymphome, 14 avec des crises fréquentes d'angio-œdème et 10 qui présentaient ces deux conditions. Le rituximab, utilisé seul ou en association avec de la chimiothérapie, s'est avéré efficace pour traiter à la fois la maladie sous-jacente et l'angio-œdème dans 79 % des cas.

Tableau 4 Réponse au traitement des patients atteints d'angio-œdème acquis dépendant du C1-Inh

TRAITEMENT	EFFICACITÉ (%)	
	ZANICHELLI, 2017	GOBERT, 2016
<i>Traitement des épisodes</i>		
Acide tranexamique*	N.D.	63 (19/30)
C1-Inh de remplacement, dérivé du plasma	1 ^{er} traitement : 100 (49/49) 3 traitements ou plus : 77 (27/35)	90 (19/21)
Icatibant	100 (27/27)	100 (26/26)
<i>Prévention des épisodes</i>		
Acide tranexamique	85 (29/34)	76 (34/45)
Danazol	40 (8/20)	75 (23/31)
<i>Traitement de la maladie associée et efficacité sur l'angio-œdème</i>		
Rituximab†	N.D.	79 (27/34)

Abréviations : N.D. : non déterminé.

* Pour le traitement des crises modérées.

† Utilisé seul ou en association avec de la chimiothérapie.

Selon les auteurs de l'étude française, l'icatibant et le C1-Inh de remplacement peuvent être utiles pour traiter des crises graves d'angio-œdème. Toutefois, les données d'efficacité du C1-Inh de remplacement dans l'étude italienne indiquent que l'utilisation répétée de ce traitement peut se traduire par une perte de réponse des patients atteints d'angio-œdème acquis. Dans l'étude française, le traitement de la maladie sous-jacente a permis de contrôler les symptômes d'angio-œdème. Les auteurs concluent que le rituximab pourrait être proposé mais qu'un schéma thérapeutique précis devrait d'abord être établi à la suite d'études prospectives.

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 n'a pas permis de mettre en évidence des études démontrant la validité analytique de la méthode ELISA pour la titration d'anticorps dirigés contre le C1-Inh.

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a évalué la répétabilité de la titration de l'anticorps dirigé contre le C1-Inh avec un échantillon testé à 10 reprises sur une même plaque (intra-plaque - annexe B) et sur 10 plaques différentes (inter-plaques – annexe C).

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant la titration des anticorps anti-C1-inhibiteur. 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 patients atteints d'angio-œdème, dont l'activité du C1-inh est significativement réduite ainsi que ceux atteints d'angio-œdème héréditaire traités avec un C1-inh de remplacement, qui présentent une perte de réponse au traitement.
- En 2015-2016, 2 analyses ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 73 \$. Le rapatriement de ces analyses est prévu dès la première année.
- Ainsi, il est estimé que 20, 30 et 40 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 108,50.

Tableau 5 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la titration des anticorps anti-C1-inhibiteur par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse de titration des anticorps anti-C1-inh au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	2	4	6	12
Coûts	146 \$	292 \$	438 \$	876 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse de titration des anticorps anti-C1-inh au <i>Répertoire</i>				
Analyses ELISA	20	30	40	90
Coûts	2 170 \$	3 255 \$	4 340 \$	9 765 \$
Impact net	2 024 \$	2 963 \$	3 902 \$	8 889 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			5 634 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			9 068 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant la titration des anticorps anti-C1-inhibiteur par ELISA pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 9 000 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Quelques analyses sont déjà envoyées hors Québec, mais les délais peuvent atteindre plusieurs mois. Une analyse réalisée au Québec permettrait des délais plus raisonnables et favoriserait son utilisation¹⁰¹.

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

Le Quality Assessment and Standardization Committee de l'International Union of Immunological Societies recommande l'analyse de l'anti-C1-Inh pour le diagnostic de l'angio-œdème acquis et indique que l'analyse est généralement réalisée par ELISA [Prohaszka *et al.*, 2016]. L'organisme propose un contrôle de qualité externe auquel 10 laboratoires ont participé en 2015.

Un rapport consensus a été émis par l'Hereditary Angioedema International Working Group sous l'égide de l'European Academy of Allergy and Clinical Immunology concernant la classification, le diagnostic et l'approche de traitement de l'angio-œdème. On y présente la présence d'anti-C1-Inh comme un outil diagnostique pour l'angio-œdème acquis au même titre qu'un niveau bas de C1q [Cicardi *et al.*, 2014].

¹⁰¹ Informations provenant de D^r Hugo Chapdelaine, immunologue, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, fournies le 27 avril 2017.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Titration des anticorps anti-C1-Inhibiteur

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 comité recommande une introduction conditionnelle à la production de données locales de validation.

ANNEXE A : Description des types d'angio-œdèmes et traitements associés

ANGIO- ŒDÈME	DESCRIPTION	RÉSULTATS ANORMAUX	TRAITEMENTS*
AOH de type 1 [†]	Début des symptômes < 20 ans Maladie autosomique dominante dont 75 % ont une histoire familiale et	↘ C4, ↘ C1-Inh Ag, ↘ C1-Inh fct., Gène <i>SERPING1</i>[‡]	C1-Inh de remplacement, antagoniste du récepteur de la bradykinine. Acide tranexamique et androgènes sont des avenues thérapeutiques en prophylaxie.
AOH de type 2 [†]	25 % sont issus d'une mutation <i>de novo</i>	↘ C4, ↘ C1-Inh fct., Gène <i>SERPING1</i>[‡]	
AOH-nC1-Inh	Plus commun chez les femmes Hormono-dépendant	Gène <i>F12</i> dans 25 % des cas [†] . Les autres cas sont d'étiologie incertaine.	C1-Inh de remplacement, antagoniste du récepteur de la bradykinine en utilisation hors indication. De plus, acide tranexamique, progestatif et androgènes sont des avenues thérapeutiques en prophylaxie. En plus, cesser les traitements d'œstrogène.
Angio-œdème acquis	Début des symptômes > 40 ans Maladie sous-jacente fréquente (MGUS, désordre clonal des cellules B, désordre auto-immunitaire).	↘ C4, ↘ C1-Inh Ag, ↘ C1-Inh fct., ↘ C1q MGUS ou anti-C1-Inh	Agents antifibrinolytiques ± traitement de la cause sous- jacente. C1-Inh de remplacement, antagoniste du récepteur de la bradykinine en utilisation hors indication.
Angio-œdème médicamenteux	Causé par la prise d'iECA, d'inhibiteur de la dipeptidyl peptidase IV ou autres médicaments	-	Cesser la médication en cause. C1-Inh de remplacement et antagoniste du récepteur de la bradykinine ont été utilisé dans des cas récalcitrants
Angio-œdème allergique ou histaminique	Peut survenir à tout âge, associé à de l'urticaire.	Allergie : aliment, latex, médicament.	Corticostéroïdes, antihistaminiques et épinéphrine sont très efficaces.
Angio-œdème idiopathique	Diagnostiqué après l'exclusion des autres types; certains sont d'ordres histaminique, d'autres pas; absence d'allergie, d'AOH et de médication	-	Corticostéroïdes, antihistaminiques peuvent être efficaces. C1-Inh de remplacement et antagoniste du récepteur de la bradykinine ont été utilisé de manière anecdotique.

Source : Tableau inspiré de LoVerde *et al.*, 2017.

AOH : angio-œdème héréditaire; AOH-nC1-Inh : AOH dont le C1-Inh est normal; C1-Inh Ag : niveau d'antigène C1-Inh; C1-Inh fct. : Niveau d'activité du C1-Inh; *F12* : gène codant pour le facteur de coagulation XII; iECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine; MGUS : gammapathie monoclonale d'implication indéterminée; *SERPING1* : gène codant pour le C1-Inhibiteur.

* Aucun inhibiteur de la kallikréine n'est approuvé au Canada alors ce traitement a été retiré du tableau.

[†] L'AOH de type 1 est caractérisé par une baisse du niveau de l'antigène C1-Inh alors que l'AOH de type 2 est caractérisé par une baisse de l'activité du C1-Inh.

[‡] Les gènes mentionnés présentent une mutation identifiable.

ANNEXE B : Répétabilité intra-plaque

DATE	2016-05-06												
Tech	Titration anticorps anti C1INH (antigen: Berinert adsorbé à 52µg/mL)												
	Goat anti Human (Iga+M+G)-HRP 1/25000												
Layout	Plasmas normaux (PN)		Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Plasma Positif	Dilution	
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution		
A	NP F2	NP F2	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	6400	
B	NP F21	NP F21	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	1/3200	3200	
C	NP F23	NP F23	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1600	
D	NP H1	NP H1	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	1/800	800	
E	NP H8	NP H8	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	400	
F	NP H27	NP H27	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	1/200	200	
G	JGL	JGL	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	100	
H	Blanc	Blanc	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	50	
	dilution 1/50												
Données	duplicata#1	duplicata#2	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	
A	0,171	0,166	0,101	0,099	0,098	0,114	0,096	0,098	0,097	0,094	0,098	0,099	
B	0,144	0,14	0,107	0,104	0,104	0,104	0,103	0,104	0,106	0,106	0,109	0,106	
C	0,104	0,104	0,128	0,121	0,122	0,121	0,119	0,122	0,123	0,122	0,136	0,127	
D	0,209	0,204	0,163	0,161	0,16	0,153	0,156	0,159	0,162	0,16	0,171	0,16	
E	0,167	0,158	0,238	0,226	0,231	0,227	0,237	0,227	0,236	0,232	0,238	0,247	
F	0,105	0,101	0,361	0,361	0,341	0,341	0,346	0,341	0,347	0,379	0,353	0,341	
G	0,198	0,185	0,488	0,506	0,489	0,491	0,475	0,489	0,491	0,487	0,543	0,466	
H	0,093	0,091	0,756	0,636	0,686	0,641	0,674	0,724	0,746	0,728	0,742	0,705	
Moyenne des blancs:	0,092												
DATE	2016-05-06												
Tech	Titration anticorps anti C1INH (antigen: Berinert adsorbé à 52µg/mL)												
	Goat anti Human (Iga+M+G)-HRP 1/25000												
données - blanc	duplicata#1	duplicata#2	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	Dilution	TITRE	
A	0,079	0,074	0,009	0,007	0,006	0,022	0,004	0,006	0,005	0,002	0,006	0,007	128
B	0,052	0,048	0,015	0,012	0,012	0,012	0,011	0,012	0,014	0,014	0,017	0,014	64
C	0,012	0,012	0,036	0,029	0,030	0,029	0,027	0,030	0,031	0,030	0,044	0,035	32
D	0,117	0,112	0,071	0,069	0,068	0,061	0,064	0,067	0,070	0,068	0,079	0,068	16
E	0,075	0,066	0,146	0,134	0,139	0,135	0,145	0,135	0,144	0,140	0,146	0,155	8
F	0,013	0,009	0,269	0,269	0,249	0,249	0,254	0,249	0,255	0,287	0,261	0,249	4
G	0,106	0,093	0,396	0,414	0,397	0,399	0,383	0,397	0,399	0,395	0,451	0,374	2
H	0,001	-0,001	0,664	0,544	0,594	0,549	0,582	0,632	0,654	0,636	0,650	0,613	1
TITRES d'anticorps anti C1 Inh	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
Moyennes des PN	0,077												Remarque
	0,050	Moyenne des PN	0,062	Le titre d'anticorps correspond à la réciproque de la dernière dilution donnant une Abs492 nm supérieur à la moyenne de l'Abs492 nm des plasmas normaux + 3 déviations standard (valeur en rouge dans les données obtenues) Une variation correspondant à un saut de titre (exemple: de 4 à 2 ou de 4 à 8) est tolérée									
	0,012	SD	0,040										
	0,115	Moyenne + 3SD	0,183										
	0,071												
	0,011												
	0,100												

ANNEXE C : Répétabilité inter-plaques

Titration anticorps anti C1INH (antigen: Berinert adsorbé à 52µg/mL)														
Goat anti Human (Iga+M+G)-HRP			1/12500											
Layout	Plasmas normaux (PN)		Plasma Positif											Dilution
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution											
A	NP F2	NP F2	1/6400										6400	
B	NP F21	NP F21	1/3200										3200	
C	NP F23	NP F23	1/1600										1600	
D	NP H1	NP H1	1/800										800	
E	NP H8	NP H8	1/400										400	
F	NP H27	NP H27	1/200										200	
G	JGL	JGL	1/100										100	
H	Blanc	Blanc	1/50										50	
dilution 1/50														
données - blanc			Plaques											
	duplicat#1	duplicat#2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TITRE	
A	-	-	-0,003	0,014	0,000	0,008	0,012	0,022	0,009	0,009	-0,048	0,004	128	
B	-	-	0,003	0,026	0,007	0,018	0,019	0,025	0,018	0,020	-0,047	0,011	64	
C	-	-	0,021	0,048	0,023	0,037	0,035	0,045	0,040	0,040	-0,030	0,029	32	
D	-	-	0,061	0,076	0,056	0,077	0,070	0,080	0,080	0,081	0,005	0,067	16	
E	-	-	0,123	0,155	0,118	0,157	0,149	0,141	0,155	0,152	0,064	0,130	8	
F	-	-	0,233	0,294	0,222	0,281	0,264	0,248	0,283	0,282	0,183	0,245	4	
G	-	-	0,411	0,460	0,254	0,454	0,478	0,396	0,460	0,441	0,366	0,395	2	
H	-	-	0,581	0,657	0,526	0,653	0,702	0,586	0,598	0,634	0,523	0,554	1	
Moyenne des PN			0,052	0,055	0,040	0,043	0,052	0,061	0,059	0,050	-0,008	0,045		
SD			0,036	0,034	0,028	0,032	0,037	0,034	0,039	0,032	0,032	0,029		
Moyenne + 3SD			0,159	0,158	0,125	0,139	0,162	0,163	0,175	0,146	0,087	0,131		
TITRES d'anticorps anti C1 Inh														
			4	4	4	8	4	4	4	4	4	4		

RÉFÉRENCES

- Alsenz J, Bork K, Loos M. Autoantibody-mediated acquired deficiency of C1 inhibitor. *N Engl J Med* 1987;316(22):1360-6.
- Bernstein JA, Cremonesi P, Hoffmann TK, Hollingsworth J. Angioedema in the emergency department: A practical guide to differential diagnosis and management. *Int J Emerg Med* 2017;10(1):15.
- Cicardi M, Aberer W, Banerji A, Bas M, Bernstein JA, Bork K, et al. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: Consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy* 2014;69(5):602-16.
- Gobert D, Paule R, Ponard D, Levy P, Fremeaux-Bacchi V, Bouillet L, et al. A nationwide study of acquired C1-inhibitor deficiency in France: Characteristics and treatment responses in 92 patients. *Medicine (Baltimore)* 2016;95(33):e4363.
- Jackson J, Sim RB, Whelan A, Feighery C. An IgG autoantibody which inactivates C1-inhibitor. *Nature* 1986;323(6090):722-4.
- LoVerde D, Files DC, Krishnaswamy G. Angioedema. *Crit Care Med* 2017;45(4):725-35.
- Prohaszka Z, Nilsson B, Frazer-Abel A, Kirschfink M. Complement analysis 2016: Clinical indications, laboratory diagnostics and quality control. *Immunobiology* 2016;221(11):1247-58.
- Zanichelli A, Azin GM, Wu MA, Suffritti C, Maggioni L, Caccia S, et al. Diagnosis, course, and management of angioedema in patients with acquired C1-inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017;5(5):1307-13.

DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-ADAMTS-13 (RÉFÉRENCE - 2017.01.014)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 3 août 2017

1.3 Date de publication de l'avis : 2 octobre 2017

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.

Mise en situation

Le présent document constitue une réévaluation de l'avis « Détection des anticorps anti-ADAMTS-13 » qui a été publié le 28 avril 2015.

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} Jeannine Kassis, (Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont).

1.4 Retour sur l'évaluation précédente

Il s'agit de la deuxième évaluation de l'analyse de détection des anticorps anti-ADAMTS-13 (*ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 13*). Bien que l'analyse proposée avait été jugée innovatrice en 2015, l'INESSS avait recommandé une réévaluation de l'analyse lorsque :

- plus de données d'utilité et de validité seraient disponibles;
- la démonstration de la valeur ajoutée de l'utilisation pour une seule catégorie de patients serait faite;
- la preuve de l'effet réel de l'analyse sur la prise en charge du PTT chez les adultes serait faite.

2 RÉSUMÉ

Le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) est causé par un déficit en ADAMTS-13 et peut se présenter sous la forme congénitale ou la forme acquise. Le dosage d'anti-ADAMTS-13 par ELISA (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) permet de distinguer la forme acquise de la maladie et d'orienter la prise en charge du patient en justifiant l'utilisation d'un traitement immunosuppresseur.

La majorité des patients ayant une MAT acquise et une activité ADAMTS-13 inférieure à 10 % ont des anti-ADAMTS-13 et aucun patient ayant un PTT congénital n'a les autoanticorps. Cependant, la spécificité du dosage des anti-ADAMTS-13 est de 90 % puisque des autoanticorps ont aussi été observés chez certains patients atteints de lupus érythémateux disséminé et de syndrome des antiphospholipides.

Deux des trois articles retenus pour la section pronostique ont démontré que les patients ayant des autoanticorps pendant la période de rémission ont un risque de trois à quatre fois plus élevé de faire une récurrence. De plus, la concentration d'anti-ADAMTS-13 diminue suite à l'initiation d'un traitement au rituximab et peut servir à ajuster le nombre de perfusion du médicament.

La méthode proposée par le demandeur a certaines particularités qui ne sont pas retrouvées dans les essais publiés dans la littérature.

L'ajout de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 35 000 \$ pour le total des trois premières années.

La distinction des formes de PTT est importante puisqu'elle permet d'adapter la prise en charge du patient.

Le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 est recommandé par la British Society for Haematology et par le groupe de travail international sur le PTT et les MAT associées.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage des anti-ADAMTS-13 plasmatique par ELISA a pour but de différencier le PTT acquis de sa forme congénitale, favorisant ainsi une prise en charge mieux adaptée du patient. Cette analyse pourrait également permettre d'évaluer la réponse au traitement.

3.2 Description de la méthode

L'analyse immuno-enzymatique repose sur la liaison des anti-ADAMTS-13 présents dans l'échantillon de plasma à l'antigène ADAMTS-13 enduit au fond des puits d'une microplaque. Le protocole du demandeur comprend les étapes suivantes¹⁰² :

- fixation d'ADAMTS-13 recombinant dans les puits;
- incubation de huit dilutions différentes de l'échantillon (1/50 à 1/6 400);
- détection des anti-ADAMTS-13 liés à l'aide d'un anticorps polyclonal couplé à la peroxydase reconnaissant le fragment F(ab')₂ des IgG, IgA et IgM (H + L) humains;
- ajout d'un substrat chromogène de la peroxydase (dihydrochlorure d'orthophénylènediamine);
- mesure de l'absorbance à 492 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (spectrophotomètre).

La valeur d'absorbance ainsi obtenue est proportionnelle à la quantité d'anti-ADAMTS-13 et peut être déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à l'aide d'un échantillon positif de concentration connue.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront effectués dans des centres de prélèvement ou en centre hospitalier. Suite à la phase préanalytique, les échantillons seront acheminés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine pour analyse. Le demandeur prévoit aussi traiter des demandes provenant de l'extérieur du Québec.

Le temps de réponse attendu est de moins de 24 heures si l'indication clinique le justifie. Autrement, l'analyse sera faite au moins une fois par semaine.

3.4 Société ou concepteur

Analyse maison.

3.5 Homologation

La méthode d'analyse proposée n'est pas homologuée.

3.6 Valeur pondérée : 130,97

¹⁰² Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

L'analyse vise des patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité ADAMTS-13 effondrée (activité inférieure à 10 % de la normale).

4.2 Description de la maladie visée

Le PTT est une forme de MAT qui se caractérise par une présence anormale de microthrombi dans les vaisseaux sanguins. Ces thrombi sont formés de larges multimères de facteur von Willebrand dont la présence est due au déficit de l'activité enzymatique d'ADAMTS-13 [Scully *et al.*, 2012; Veyradier et Coppo, 2011].

Les signes cliniques du PTT sont une anémie hémolytique microangiopathique et une thrombopénie associée à une ischémie multiviscérale. Les fonctions neurologiques, rénales et cardiaques sont les plus fréquemment touchées [Blombery et Scully, 2014]. Une activité d'ADAMTS-13 effondrée suffit pour prononcer un diagnostic [Scully *et al.*, 2017]. La forme congénitale du PTT est rare et due à un défaut génétique du gène *ADAMTS-13* (mutations homozygotes ou hétérozygotes composites), alors que la forme acquise (PTTa) est prédominante (95 % des cas) et associée à la présence d'autoanticorps contre ADAMTS-13 [Blombery et Scully, 2014]. Ces autoanticorps ont pour effet d'inhiber ou de favoriser sa clairance [Veyradier et Coppo, 2011]. On parle de PTTa primaire lorsqu'il y a absence d'une cause ou d'une pathologie sous-jacente et de PTTa secondaire dans les autres cas¹⁰³ [Scully *et al.*, 2017].

Le PTT est une maladie rare dont l'incidence est estimée à quatre cas par million par année aux États-Unis et à un par million par année dans la province de Saskatchewan [Miller *et al.*, 2004]. Bien que rare, sans traitement le PTT est associé à un taux de mortalité élevé en phase aigüe (90 % des cas). Le traitement de première ligne, l'échange plasmatique, permet de réduire ce taux entre 10 % et 20 %. En présence de la forme acquise, l'ajout d'une immunothérapie comme le rituximab permet de réduire la concentration d'anti-ADAMTS-13 chez la majorité des patients et ainsi d'augmenter l'activité de l'enzyme [Tersteeg *et al.*, 2016].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime à 90 le nombre de tests qui seront effectués par année pour un total d'environ 300 pour une période de trois ans.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Un PTT est diagnostiqué en présence de signes et symptômes d'une MAT et d'une activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %. La recherche d'anti-ADAMTS-13 est effectuée systématiquement chez les patients ayant une activité ADAMTS-13 effondrée afin de déterminer si le PTT est acquis ou congénital.

Le développement du dosage d'anti-ADAMTS-13 a été initié en 2012 dans le laboratoire du demandeur. Le nombre d'analyses effectuées par le demandeur était

¹⁰³ Exemple de pathologies pouvant causer un PTTa : un lupus érythémateux disséminé, une infection virale (VIH ou cytomégalovirus), l'arthrite rhumatoïde, une grossesse ou certains médicaments.

de moins de 20 en 2012, 40 en 2013, 47 en 2014, 80 en 2015 et 61 en 2016. Le dosage des anticorps sert également au suivi de certains patients¹⁰⁴. Selon le demandeur, moins de 5 % des analyses effectuées correspondent à des demandes provenant d'autres provinces.

Compareurs

Il existe deux trousse commerciale pour le dosage d'anti-ADAMTS-13 (Technozym^{MC} ADAMTS-13 INH de Technoclone¹⁰⁵; Imubind^{MC} ADAMTS13 Autoantibody ELISA de Sekisui Diagnostics¹⁰⁶). Toutefois, ces trousse ne sont pas homologuées par Santé Canada et le demandeur n'aura pas recours à ces trousse.

Autres analyses inscrites concernant ADAMTS-13

Deux analyses concernant ADAMTS-13 sont déjà inscrites au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*) :

- Code 20107 : ADAMTS-13 - activité (dosage quantitatif);
- Code 20146 : ADAMTS-13 - antigène (dosage quantitatif) (ELISA).

Ces deux analyses sont de hiérarchie suprarégionale et sont effectuées au CHU Sainte-Justine.

Tableau 1 Volumétrie du code 20107 et du code 20146 pour les années 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	CODE 20107 (ACTIVITÉ)		CODE 20146 (ANTIGÈNE)	
	QUÉBEC	HORS RÉSEAU	QUÉBEC	HORS RÉSEAU
2014-2015	346	5	1	0
2015-2016	70	183	0	0

Source : données du MSSS

4.5 Données médico-administratives

Selon les données fournies par le ministère de la Santé et des Services sociaux concernant les envois hors Québec, le dosage d'anti-ADAMTS-13 a fait l'objet de deux demandes au Blood Center of Wisconsin qui ont engendré des coûts de 451,26\$ et 1 019,15\$ (année 2013-2014). Aucune demande pour cette analyse n'a été effectuée en 2014-2015 et 2015-2016.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'analyse ELISA proposée permettrait de distinguer la forme auto-immune de PTT de sa forme congénitale. Cette distinction doit être prise en considération pour le choix thérapeutique. De plus, le dosage d'anti-ADAMTS-13

¹⁰⁴ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (24 mai 2017 et 13 juin 2017).

¹⁰⁵ Diapharma Group, Inc. Technozym® ADAMTS-13 Inhibitor [site Web], disponible à : <http://diapharma.com/product/hemostasis/technozym-adamts-13-inh-96tests/> (consulté le 18 mai 2017).

¹⁰⁶ Sekisui Diagnostics, LLC. Imubind® ADAMTS13 Autoantibody ELISA [site Web], disponible à : <http://www.sekisuidiagnostics.com/products/173-imubind-adamts13-autoantibody-elisa-outside-u-s-a> (consulté le 18 mai 2017).

pourrait également permettre d'ajuster le rythme des plasmaphérèses et le choix du traitement immunosuppresseur (corticostéroïdes et rituximab).

4.7 Assurance qualité

Lors de chaque essai, 12 plasmas témoins négatifs seront utilisés pour établir la zone de positivité. De plus, un dosage sera effectué avec un plasma positif connu pour valider l'expérience¹⁰⁷.

En 2014-2015, le laboratoire d'hémostase du CHUSJ a participé à une étude pancanadienne de contrôle de la qualité pour l'analyse de l'activité ADAMTS-13 et pour le dosage d'anti-ADAMTS-13 par ELISA sur des échantillons tests. Ce projet était une initiative du CHUSJ et de l'Hôpital Saint-Michael's (Toronto). Le laboratoire du CHUSJ servait de centre de référence pour cette étude et était responsable de transmettre les échantillons témoins dans les sept laboratoires participants.

Depuis 2014, le demandeur participe au programme de contrôle de qualité du North American Specialized Coagulation Laboratory Association (NASCOLA) pour les tests d'activité ADAMTS-13 et le dosage d'anticorps par ELISA. Le test consiste en l'envoi de deux échantillons à analyser à deux reprises dans l'année.

5 DONNÉES PROBANTES

L'INESSS tient à préciser que :

- Suite à la première évaluation, les nouveaux articles retenus sont celui de Behnamou et collègues [Benhamou *et al.*, 2016] et celui de Scully et collègues [Scully *et al.*, 2011].
- La définition du PTT diffère selon les articles retenus et ne tient pas toujours compte du niveau d'activité d'ADAMTS-13 (tableau 2);
- Aucune méthode d'ELISA présentée dans les articles retenus n'est identique à celle proposée par le demandeur (ELISA indirecte utilisant la protéine recombinante entière comme antigène et détectant les IgG, IgA et IgM en même temps et sans discrimination) (tableau 2).

¹⁰⁷ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

Tableau 2 Comparaison des articles retenus pour évaluer les valeurs diagnostique, pronostique et thérapeutique du dosage d'anti-ADAMTS-13

ÉTUDE	DÉFINITION D'UN PTT	ELISA	ÉVALUATION	
			2015	2017
Benhamou, 2016	Anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin Thrombopénie sans autre cause apparente Activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %	Technozym ^{MC} ADAMTS13 INH, ELISA indirecte Antigène : protéine recombinante incomplète* Détection des IgG	Non	Oui
Bettoni, 2012	Au moins trois des critères suivants : - thrombopénie sans autre cause apparente - anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin - LDH élevée (> 2 ÉT au-dessus de la limite supérieure) - signes et symptômes compatibles avec une ischémie d'organe principalement mais pas exclusivement au système nerveux central	Méthode maison, ELISA indirecte de type sandwich Antigène : protéine recombinante entière Détection des IgG, IgM et IgA séparément	Oui	Oui
Jin, 2008	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %	Imubind ^{MC} ADAMTS13 Autoantibody ELISA, ELISA indirecte Antigène : protéine recombinante entière Détection des IgG	Oui	Oui
Peyvandi, 2008	Même que Bettoni, 2012	Aucune utilisation de l'ELISA (immunobuvardage, détection de toutes les classes d'Ig)	Oui	Oui
Rieger, 2005	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Dominance de symptômes d'ischémie neurologique focale	Méthode maison, ELISA indirecte de type sandwich Antigène : protéine recombinante entière Détection des IgG et IgM séparément	Oui	Oui
Scully, 2007	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Coagulation normale et présence de schizocytes sur un frottis sanguin LDH augmentée Évidence clinique ou objective d'ischémie d'organe	Méthode maison, ELISA de type indirecte Antigène : protéine entière recombinante Détection des IgG	Oui	Oui
Scully, 2011	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Coagulation normale LDH élevée (> 1,5 fois la valeur de la limite normale supérieure)	Méthode maison, ELISA de type indirecte Antigène : protéine entière recombinante Détection des IgG	Non	Oui
Tsai, 2006	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Créatinine inférieure à 3,5 g/dl	Imubind ^{MC} ADAMTS13 Autoantibody ELISA, ELISA indirecte Antigène : protéine entière recombinante Détection des IgG	Oui	Oui

Abréviations : ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; ÉT : écart type, IgA : immunoglobuline A; IgG : immunoglobuline G, IgM : immunoglobuline M; LDH : lactate déshydrogénase.

* La protéine inclut tous les domaines fonctionnels [Nakashima *et al.*, 2016].

5.1 Valeur diagnostique

Afin d'évaluer la capacité de l'analyse des anti-ADAMTS-13 à confirmer un diagnostic de PTTa, deux études de cohortes cas-contrôle ont été retenues [Tsai *et al.*, 2006; Rieger *et al.*, 2005].

Des anti-ADAMTS-13 sont présents chez une grande proportion de patients atteints de MAT acquis ayant un déficit grave d'activité ADAMTS-13 mais sont absents chez les patients ayant une MAT congénitale

Rieger et ses collaborateurs [2005] ont réalisé une étude multicentrique dans le but d'évaluer la prévalence des anticorps anti-ADAMTS-13 chez 59 patients atteints de MAT¹⁰⁸ et 160 patients ayant une maladie auto-immune ou une thrombopénie différente du PTT. Le plasma de 111 individus sains a aussi été analysé. La méthode ELISA utilisée était une méthode maison permettant de révéler la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG et IgM séparément.

Quatre (3,6 %) des 111 sujets sains avaient une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG se situant entre 20 et 100. Ces anticorps étaient non-neutralisants selon un essai d'activité inhibitrice¹⁰⁹ et l'activité ADAMTS-13 chez ces personnes était normale. Parmi les patients atteints de MAT, 51 avaient un PTT, 4 un syndrome hémolytique et urémique (SHU) et 4 une autre forme de MAT. Ces patients ont été stratifiés selon le niveau d'activité d'ADAMTS-13. En tout, 35 (97 %) des 36 patients ayant une activité ADAMTS-13 inférieure à 10 % avaient une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG se situant entre 20 et 3 200 (tableau 3). Des anti-ADAMTS-13 IgG ont aussi été observés chez 3 (20 %) des 15 patients atteints de MAT et ayant un niveau d'activité d'ADAMTS-13 supérieur à 10 % (concentration de 10, 1 600 et 3 200), chez 4 patients ayant une thrombopénie distincte d'une MAT et chez 8 patients ayant une maladie auto-immune (lupus érythémateux disséminé ou syndrome des antiphospholipides). De plus, aucun anti-ADAMTS-13 IgG ou IgM n'a été observé chez les 8 patients ayant une MAT congénitale et les 15 patients atteints d'hémophilie A.

Les auteurs ont conclu que leur méthode ELISA maison permettait de détecter des anti-ADAMTS-13 IgG dans une grande proportion des patients atteints de MAT acquis ayant un déficit grave d'ADAMTS-13. De plus, ils ont souligné que cette sous-classe d'anticorps était plus fréquente chez les patients atteints de MAT que chez les patients ayant d'autres types de maladies auto-immunes. Notons aussi qu'aucun des patients ayant une MAT congénitale n'avait d'autoanticorps.

¹⁰⁸ Un PTT était considéré lorsqu'il y avait présence d'une thrombopénie et d'une anémie hémolytique microangiopathique associées avec une dominance de symptômes d'ischémie neurologique focale.

¹⁰⁹ Mesure de l'activité inhibitrice d'un échantillon de plasma test sur un plasma témoin dont l'activité ADAMTS-13 est connue.

Tableau 3 Présence d'anti-ADAMTS-13 IgG et IgM chez des patients atteints de MAT, d'un autre type de thrombopénie, de maladies auto-immunes ou d'hémophilie A

DIAGNOSTIC	PATIENTS n	ACTIVITÉ ADAMTS-13 ÉTENDUE EN %	PRÉSENCE D'ANTI-ADAMTS-13	
			IgG, n (%)	IgM, n (%)
MATa* (activité ADAMTS-13 < 10 %) PTTa* primaire (n = 33) MATa autre [†] (n = 3)	36	< 3 à 10	35 (97)	4 (11) [‡]
MATa* (activité ADAMTS-13 > 10 %) PTTa* primaire (n = 8) SHU* (n = 4) MATa autre [§] (n = 3)	15	11 à 100	3 (20)	3 (20)
MAT congénitale	8	< 5	0	0
Thrombopénie	50	20 à 100	4 (8)	4 (8) [¶]
Lupus érythémateux disséminé	40	22 à 172	5 (13)	7 (18)
Syndrome des antiphospholipides	55	32 à 114	3 (5)	10 (18)
Hémophilie A	15	10 à 91	0	5 (33)
Aucun (sujets sains)	111	n.d.	4 (3,6)	0

Source : Rieger *et al.*, 2005

Abréviations : IgG : immunoglobuline G; IgM : immunoglobuline M; MATa : microangiopathie thrombotique acquise; PTTa : purpura thrombotique thrombocytopénique acquis; SHU : syndrome hémolytique et urémique.

* MATa : thrombopénie et anémie hémolytique microangiopathique sans autres étiologies sous-jacentes. PTTa : MATa avec symptômes d'ischémie neurologique focale dominants. SHU : MATa et symptômes d'insuffisance rénale aigüe dominants.

[†] Deux patients avaient une MAT reliée à un médicament et un patient une MAT associée à un cancer métastatique du poumon.

[‡] Les quatre patients avaient aussi des anti-ADAMTS-13 IgG.

[§] Un patient avait une MAT suite à une greffe de moelle osseuse et deux patients une MAT non spécifiée.

^{||} Aucun patient atteint de SHU n'avait d'anti-ADAMTS-13 IgG, mais deux avaient des anti-ADAMTS-13 IgM.

[¶] Un seul patient avec les deux classes d'immunoglobulines.

La majorité des patients ayant un PTT acquis et un déficit d'activité d'ADAMTS-13 ont aussi des autoanticorps anti-ADAMTS-13

L'étude de Tsai et ses collaborateurs [2006] visait à évaluer la valeur diagnostique du dosage d'anti-ADAMTS-13 effectué par ELISA chez une cohorte de 91 patients atteints de PTT¹¹⁰ dont 53 étaient en phase aigüe, 16 venaient de recevoir un traitement d'échanges plasmatiques et 22 étaient en rémission (numération plaquettaire supérieure à $130 \times 10^9/l$ pour au moins une semaine). L'étude incluait aussi 61 patients atteints d'autres types de MAT¹¹¹, 40 donneurs de sang sains et 34 patients hospitalisés choisis de façon randomisée.

La concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG du groupe de patients ayant un PTT aigu était significativement plus élevée que celle de tous les autres groupes de patients excluant le groupe de patients traités ($p < 0,001$). À une valeur seuil de 10,3 unités arbitraires/ml, 100 % des patients ayant un PTT aigu étaient positifs pour la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG comparativement à 75 % des patients traités et 45 % des patients en rémission (tableau 4). Quatorze patients des trois groupes témoins avaient aussi des autoanticorps résultant en une spécificité de 89,6 % pour l'ELISA anti-ADAMTS-13. Une diminution du seuil de positivité avait pour effet de diminuer la spécificité sans améliorer la sensibilité. Les auteurs ont conclu qu'essentiellement tous les patients ayant un PTT acquis et un déficit d'activité d'ADAMTS-13 ont aussi des autoanticorps anti-ADAMTS-13 IgG. Les auteurs ont souligné que la concentration d'anticorps peut changer suite à un traitement et que l'ELISA peut donner des faux positifs pour un sous-ensemble de la population.

¹¹⁰ Un PTT était considéré en présence d'une thrombopénie et d'une anémie hémolytique microangiopathique associées à une créatinine inférieure à 3,5 g/dl en phase aigüe.

¹¹¹ Cinq patients avaient un SHU avec de la diarrhée, 18 patients avaient un SHU sans diarrhée, 7 patients avaient un lupus ou une maladie auto-immune similaire, 11 patients avaient un cancer métastatique, 9 patients avaient reçu une greffe de moelle épinière ou d'un organe solide, 1 patient avait un syndrome HELLP, 1 patient avait une prothèse cardiaque et 9 cas étaient de cause indéterminée.

Tableau 4 Présence d'anti-ADAMTS-13 chez les patients atteints de PTT et d'autres MAT

DIAGNOSTIC	PATIENTS n	ADAMTS-13	
		ACTIVITÉ MÉDIANE (ÉTENDUE), U/ml	ANTICORPS > 10,3 UA/ml, n (%)
PTT en phase aigüe*	53	< 0,1 (< 0,1)	53 (100)
PTT traité [†]	16	< 0,1 (< 0,1 à 0,39)	12 (75)
PTT en rémission [‡]	22	0,13 (< 0,1 à 0,54)	10 (45)
Autres MAT [§]	61	0,84 (0,27 à 1,58)	7 (11)
Patients hospitalisés	34	n.d.	5 (15)
Aucun (donneurs sains)	40	n.d.	2 (5)

Source : Tsai *et al.*, 2006

Abréviations : MAT : microangiopathie thrombotique; n.d. : non disponible; PTT : purpura thrombotique thrombocytopenique; SHU : syndrome hémolytique et urémique; U : unité; UA : unité arbitraire.

* Thrombopénie et anémie hémolytique microangiopathique avec une créatinine inférieure à 3,5 g/dl.

[†] Patients ayant reçu une à six unités de plasma frais congelé ou une à deux sessions d'échanges plasmatiques.

[‡] Patients asymptomatiques ayant une numération plaquettaire supérieure à $130 \times 10^9/l$ pour au moins une semaine.

[§] SHU avec diarrhée (n = 5), SHU sans diarrhée (n = 18), lupus ou maladie auto-immune similaire (n = 7), cancer métastatique (n = 11), greffe (n = 9), syndrome HELLP (n = 1), prothèse cardiaque (n = 1), MAT indéterminée (n = 9).

5.2 Valeur pronostique

Le PTT est une maladie qui se manifeste fréquemment en poussées aigües suivies de périodes de rémission. Trois études ont été retenues pour évaluer la valeur prédictive du niveau d'anti-ADAMTS-13 à prédire la récurrence [Bettoni *et al.*, 2012; Jin *et al.*, 2008; Peyvandi *et al.*, 2008]. La conclusion de Jin et ses collaborateurs [2008] est différente des deux autres études, notons cependant que la définition du PTT qu'ils ont utilisée était elle aussi différente des deux autres (tableau 2).

La présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la phase aigüe de PTT ou pendant la rémission permet de prédire la récurrence

Un des objectifs de Bettoni et ses collaborateurs [2012] était d'évaluer la relation entre les anti-ADAMTS-13 de différentes classes ou l'activité d'ADAMTS-13 et le pronostic auprès d'une cohorte internationale de 115 patients atteints de PTT¹¹². Notons qu'une activité effondrée d'ADAMTS-13 ne faisait pas partie des critères d'inclusion et que 69 % des patients démontraient une activité inférieure à 10 % de la normale en phase aigüe (62 des 115 patients ont eu un PTT aigu). Le temps de suivi médian des 54 patients qui avaient un PTT aigu à l'inclusion était de 5,8 ans (maximum de 32,8 ans). De ces patients, 35 étaient en rémission pendant le suivi et 10 ont eu une récurrence. Similairement, le temps de suivi médian des 61 patients qui étaient en rémission lors de l'inclusion était de 3,4 ans (maximum 10,5 ans). De ces patients, 33 étaient en rémission pendant le suivi et 20 ont eu une récurrence.

¹¹² Présence d'au moins trois des critères suivants : 1- thrombopénie ($< 150 \times 10^9/l$) sans autre cause apparente, 2- anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin, 3- niveau élevé de lactate déshydrogénase sérique (plus de 2 ÉT au-dessus de la limite supérieure), 4- signes et symptômes compatibles avec une ischémie d'organe principalement mais pas exclusivement au système nerveux central. Les maladies ayant des signes et symptômes similaires (ex. SHU et cancer métastatique) ainsi que les cas de PTT congénital ont été exclus.

Des analyses de survie ont démontré que seule la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la phase aigüe du PTT pouvait prédire un risque de récurrence (15 patients sur 50, 30 %). Cependant, le rapport des risques instantanés (RRI) correspondant n'était pas estimable puisque qu'aucun des dix patients ayant une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG inférieure ou égale à 1,18 % n'a développé de récurrence. Par ailleurs, le RRI de rechute était au moins quatre fois plus élevé chez les patients avec une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG supérieure à 1,18 % ou une activité inférieure à 10 % en période de rémission (tableau 5).

Les auteurs ont conclu que la récurrence du PPT semble être associée seulement avec la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la phase aigüe alors que l'altération de plusieurs biomarqueurs liés à ADAMTS-13 peuvent prédire le risque de récurrence lorsqu'ils sont mesurés pendant la période de rémission (présence de plus de 1,18 % d'anti-ADAMTS-13 IgG, activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %, moins de 10 % d'antigène ADAMTS-13 et présence d'activité inhibitrice d'ADAMTS-13).

Tableau 5 Valeur des anti-ADAMTS-13 et de l'activité d'ADAMTS-13 à prédire la récurrence du PTT (analyse de régression de Cox)

PARAMÈTRE	PHASE AIGÛE				RÉMISSION			
	PATIENT, n		RRI (IC95 %)	p	PATIENT, n		RRI (IC95 %)	p
	TOTAL	RÉCIDIVE			TOTAL	RÉCIDIVE		
Activité d'ADAMTS-13								
≥ 10 %	18	3	1,0 (ref)	0,45	71	18	1,0 (ref)	0,001
< 10 %	22	4	1,68 (0,43 à 6,59)		19	9	4,89 (2,00 à 11,99)	
Anti-ADAMTS-13 IgG*								
≤ 1,18 %	5	0	1,00 (ref)	s.o.	50	7	1,00 (ref)	< 0,001
> 1,18 %	27	6	∞ [†]		26	11	4,99 (2,08 à 12,00)	
Anti-ADAMTS-13 IgM*								
≤ 0,034	25	4	1,00 (ref)	0,72	74	16	1,00 (ref)	0,32
> 0,034	6	1	1,37 (0,24 à 7,97)		2	2	2,67 (0,39 à 18,44)	
Anti-ADAMTS-13 IgA*								
≤ 0,014	17	3	1,00 (ref)	n.d.	59	16	1,00 (ref)	0,10
> 0,014	14	2	n.d.		16	1	0,30 (0,07 à 1,27)	

Source : Bettoni *et al.*, 2012

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IgA : immunoglobuline A; IgG : immunoglobuline G; IgM : immunoglobuline M; n.d. : non disponible; ref : référence; RRI : rapport de risque instantané; s.o. : sans objet.

* Les seuils de positivité de chacun des Ig correspondaient à une valeur supérieure à deux fois celle de l'écart type des résultats provenant de 40 échantillons de plasma témoins normaux.

[†] N'a pu être comparé puisqu'aucun patient avec faibles niveaux d'IgG n'a subi de récurrence.

Peyvandi et collègues [2008] ont également démontré que les patients atteints de PTTa possédant des anti-ADAMTS-13 au moment de la rémission présentaient un risque plus élevé de récurrence. L'étude rétrospective portait sur une cohorte internationale de 109 patients dont 97 ont été testés pour la présence d'anti-ADAMTS-13. Les critères de diagnostic du PTT¹¹³ n'incluaient pas l'activité d'ADAMTS-13 et ne permettaient pas d'exclure les cas de SHUa. Notons que la détection d'anti-ADAMTS-13 a été réalisée par immunobuvardage et que l'analyse sérologique a été faite une seule fois chez la majorité des patients.

Parmi les 109 patients, 63 sont demeurés en rémission¹¹⁴ pendant un temps médian de 22 mois (13 à 134) suite aux traitements d'échanges plasmatiques alors que 46 ont eu au moins une récurrence de PTT (2 épisodes [2 à 13]). Les auteurs ont observé que 64 % des patients ayant subi une récurrence possédaient des anti-ADAMTS-13 en période de rémission alors que 36 % des patients sans récurrence démontraient la présence d'anti-ADAMTS-13 ($p = 0,006$). Le rapport des cotes non ajusté pour la probabilité de récurrence chez les patients ayant des anticorps lors de la période de rémission était de 3,1 (IC95 % : 1,4 à 7,3). Les auteurs ont souligné que la valeur prédictive associée à la présence d'anti-ADAMTS-13 pour le risque de récurrence était statistiquement valable mais sa robustesse était limitée à cause de la valeur élevée de l'intervalle de confiance.

La présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la rémission du PTT ne permet pas de prédire la récurrence

Un des objectifs de Jin et ses collaborateurs [2008] était de suivre le niveau d'anti-ADAMTS-13 à un intervalle régulier de trois mois chez des patients atteints de PTTa primaire en rémission afin de déterminer sa capacité à prédire le risque de récurrence du PTT. Le PTTa primaire était défini comme une MAT sans autre cause indénifiable associée à une activité d'ADAMTS-13 inférieure à 10 % (aucun cas de PTT congénital).

L'étude a porté sur 24 patients atteints de PTTa aigu lors de leur inclusion. Le traitement ayant mené à leur rémission n'est pas mentionné. Suite à l'atteinte de la rémission, le niveau d'anti-ADAMTS-13 IgG a été évalué à tous les trois mois pour un temps moyen de 23 mois (3 à 39). Parmi les 24 patients, 6 ont eu une récurrence du PTT (aucune valeur de concentration d'anti-ADAMTS-13 n'est présentée dans l'article). Le modèle de régression linéaire favorisé par les auteurs n'a pas montré de relation entre la concentration d'anti-ADAMTS-13 et le risque de récurrence ($p = 0,8$). Les auteurs ont conclu que le niveau d'anti-ADAMTS-13 IgG lors de la rémission ne permettait pas de prédire la récurrence du PTT.

¹¹³ Présence d'au moins trois des critères suivants : 1- thrombopénie ($< 150 \times 10^9/l$) sans autre cause apparente, 2- anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin, 3- niveau élevé de lactate déshydrogénase sérique (plus de 2 ÉT au-dessus de la limite supérieure), 4- signes et symptômes compatibles avec une ischémie d'organe principalement mais pas exclusivement au système nerveux central. Les maladies ayant des signes et symptômes similaires (ex. SHU et cancer métastatique) ainsi que les cas de PTT congénital ont été exclus.

¹¹⁴ Maintien de la normalisation des paramètres cliniques et de laboratoires pour au moins 30 jours suite à l'arrêt du traitement plasmatique.

5.3 Valeur thérapeutique

Trois articles ont été retenus pour déterminer la valeur d'un dosage d'anti-ADAMTS-13 à évaluer l'efficacité d'un traitement au rituximab [Benhamou *et al.*, 2016; Scully *et al.*, 2011; Scully *et al.*, 2007].

Le traitement du PTTa au rituximab est associé à une diminution de la concentration d'anti-ADAMTS-13

Le groupe de Scully et ses collaborateurs [2011] a réalisé une étude multicentrique de phase II chez des patients atteints de PTTa primaire traités au rituximab. Le dosage des anti-ADAMTS-13 faisait partie des paramètres d'efficacité secondaires. Pour être inclus, les patients devaient avoir un PTT aigu (thrombopénie, anémie hémolytique microangiopathique, coagulation normale et LDH augmentée à au moins 1,5 fois la valeur normale supérieure). En tout, 40 patients ont été inclus et ont reçu des traitements d'échanges plasmatiques jusqu'à l'obtention d'une numération plaquettaire supérieure à $150 \times 10^9/l$ en plus de 4 à 8 perfusions de rituximab (jusqu'à la normalisation de l'activité d'ADAMTS-13 et de la concentration d'anti-ADAMTS-13). Les patients ont été suivis pendant au moins 12 mois (maximum de 36 mois). La valeur médiane du niveau d'anti-ADAMTS-13 IgG lors de l'inclusion dans l'étude était de 40 %¹¹⁵ (6 à 162). Avant la deuxième perfusion de rituximab, la concentration d'autoanticorps avait baissé; la réduction de la concentration corrélait avec l'augmentation de l'activité d'ADAMTS-13 (coefficient de Pearson de -0,72). Ces résultats ont été comparés à ceux d'une cohorte historique composée de 40 patients n'ayant pas reçu de rituximab. Ces patients avaient une concentration d'anti-ADAMTS-13 de 78 % (8 à 140) lors de l'inclusion dans l'étude, de 12 % (5 à 69) en période de rémission et de 29 % lors de la récurrence. Les auteurs ont conclu que le traitement au rituximab est associé à une diminution de la concentration d'anti-ADAMTS-13 chez les patients souffrant de PTTa.

L'étude multicentrique de phase II de Benhamou et ses collaborateurs [2016] visait à évaluer l'efficacité d'un régime de rituximab expérimental¹¹⁶ basé sur la baisse des niveaux de lymphocytes B chez des patients atteints de PTTa aigu. La concentration d'anti-ADAMTS-13 au moment du diagnostic ainsi qu'après 1, 3, 6, 9 et 12 mois était un des paramètres d'évaluation. Les 24 patients inclus avaient une activité d'ADAMTS-13 inférieure à 10 %. La concentration d'anti-ADAMTS-13 médiane était de 72,5 U/ml (42,7 à 133,5) lors de l'inclusion dans l'étude et a diminué après l'instauration du traitement jusqu'à 9 mois alors qu'à 12 mois la concentration tendait à augmenter de nouveau. La réduction de la concentration a corrélaté avec l'augmentation de l'activité d'ADAMTS-13 (coefficient de Pearson de -0,58). La cohorte de l'étude a été comparée à une cohorte rétrospective de 22 patients ayant reçu un traitement de quatre perfusions de rituximab. La concentration d'anti-ADAMTS-13 médiane chez ces patients au début de l'étude était de 100 U/ml (88 à 104), et elle a diminué de façon similaire à la cohorte à l'étude suite à l'instauration du traitement.

¹¹⁵ Une courbe étalon a été préparée en diluant un échantillon plasmatique de référence dans une solution saline tamponnée au phosphate aux concentrations suivantes : 100 %, 80 %, 40 %, 20 %, 10 %, 5 % et 0 %. La valeur normale était inférieure à 6,1 % (valeur correspondant aux 95 percentiles de 49 sujets sains).

¹¹⁶ Le plan de traitement consistait en deux infusions de rituximab (375 mg/m² de surface corporelle) espacées de trois jours accompagnées d'un troisième traitement si des lymphocytes B étaient toujours présents au jour + 14. Ce traitement différait du traitement habituel de quatre infusions.

Un des objectifs de Scully et ses collaborateurs [2007] était d'évaluer la corrélation entre le traitement au rituximab et le niveau d'anti-ADAMTS-13. Pour être inclus, les patients devaient avoir un PTTa aigu primaire (thrombopénie, anémie hémolytique microangiopathique, coagulation normale, LDH augmentée, présence de schizocytes sur un frottis sanguin et évidence clinique ou objective d'ischémie d'organe). Les 25 patients inclus n'avaient pas répondu au traitement de première ligne (échanges plasmatiques) et ont donc reçu un traitement de deuxième ligne incluant des perfusions de rituximab.

Le traitement au rituximab a été modulé en fonction du niveau d'activité d'ADAMTS-13 et de la présence persistante d'anti-ADAMTS-13. Ainsi, 1 patient a reçu 2 perfusions de rituximab, 20 ont reçu 4 perfusions, 3 ont reçu 6 perfusions et 1 a reçu 8 perfusions. Les 25 patients ont atteint une rémission complète suite au traitement. La concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG médiane était de 55 % (15 à 140) avant le traitement au rituximab et de 6 % (2 à 21) trois mois après son instauration ($p < 0,0001$). Les auteurs ont souligné que la diminution du niveau d'anti-ADAMTS-13 était associée à une augmentation de l'activité d'ADAMTS-13.

5.4 Validité analytique

Comme mentionné au début de la section, aucune étude utilisant le protocole proposé par le demandeur n'a été repérée dans la littérature. Une des particularités de ce protocole est l'utilisation des anti-immunoglobulines humaines reconnaissant à la fois les IgG, les IgM et les IgA.

Rieger et ses collaborateurs [2005] ont utilisé un protocole ELISA maison détectant les IgG et les IgM de façon séparée. La précision inter-essai a été déterminée à l'aide d'un échantillon plasmatique normal et d'un échantillon témoin positif testés à 27 reprises pour les IgG et 20 reprises pour les IgM (tests menés des jours différents). Le coefficient de variation (CV) inter-essai était inférieur à 20 % pour les deux Ig.

Nakashima et ses collaborateurs [2016] ont utilisé un protocole maison basé sur la trousse Technozym^{MC}. L'antigène utilisé ne correspondait pas à la protéine complète et seuls les IgG étaient détectés. Les CV inter-essai et intra-essai ont été générés à partir de 20 expériences faites sur deux échantillons. Les CV intra-essai et inter-essai de l'échantillon contenant 16,7 U/ml étaient de 14,6 % et 15,5 % respectivement, alors qu'ils étaient de 3,3 % et 4,9 % pour l'échantillon contenant 71,6 U/ml.

5.5 Données fournies par le demandeur

Variation intra-essai

La zone de positivité a été établie en utilisant 12 échantillons plasmatiques négatifs différents. La moyenne de la densité optique était de $0,045 \pm 0,025$. La zone de positivité a été établie à la moyenne additionnée de trois fois la valeur de l'écart-type, donc à 0,120.

La variation intra-essai a été mesurée en utilisant 8 dilutions d'un échantillon plasmatique positif de concentration connue (1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1 600, 1/3 200 et 1/6 400). Cette série a été analysée 10 fois à l'intérieur d'une même plaque et les 10 séries ont donné la même concentration d'anticorps (voir l'annexe A).

Variation inter-essai

La zone de positivité a été établie en utilisant six échantillons plasmatiques négatifs en duplicatas. La zone de positivité a été établie à la moyenne additionnée de trois fois la valeur de l'écart-type à chacun des dix essais (annexe B).

La variation inter-essai a été mesurée en utilisant 8 dilutions d'un échantillon plasmatique positif de concentration connue (1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1 600, 1/3 200 et 1/6 400) et analysé lors de 10 essais différents (tableau 6 et annexe B).

Tableau 6 Variation inter-essai du dosage des anti-ADAMTS-13

ESSAI	CONCENTRATION D'ANTI-ADAMTS-13*
1	2
2	2
3	4
4	2
5	4
6	4
7	2
8	2
9	2
10	2

* Une variation correspondant à un saut de concentration (exemple : de 4 à 2 ou de 4 à 8) est tolérée.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA. Cette analyse cible les patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité d'ADAMTS-13 effondrée. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 7. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Selon des informations reçues de la part du demandeur, le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 est réalisé depuis 2012 dans son laboratoire et 80 analyses ont été effectuées en 2015.
- Bien qu'une augmentation progressive du nombre d'analyses ait été observée au cours des dernières années, il est anticipé, selon l'opinion d'experts, qu'il se stabilisera durant les prochaines années.
- Ainsi, il est estimé que 90 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec en 2015-2016.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 130,97.

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses ELISA	90	90	90	270
Impact net	11 787 \$	11 787 \$	11 787 \$	35 361 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			31 433 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			39 291 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 35 000 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La distinction des formes de PTT permet d'adapter la prise en charge du patient puisque certains traitements comme l'immunosuppression ne conviennent pas aux deux formes. En présence de la forme congénitale, la transfusion de plasma frais congelé sera préconisée plutôt que la plasmaphérèse. Ceci aura des répercussions sur les coûts de traitements¹¹⁷. La venue d'une protéine ADAMTS-13 recombinante comme traitement potentiel du PTT congénital pourrait également constituer un enjeu économique dans un avenir rapproché.

En raison de la faible incidence des MAT et de la vocation du centre demandeur dans ce domaine, la concentration de l'expertise est un enjeu important.

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

Groupe de travail international sur le PTT et les MAT associées

Le groupe d'experts en PTT avait comme objectif de standardiser la terminologie du PTT et des MAT de la même famille et d'émettre certaines recommandations [Scully *et al.*, 2017]. La mesure des anti-ADAMTS-13 fait partie des analyses qui doivent être faites lors d'une suspicion de PTT. Un PTT congénital est caractérisé par l'absence d'anti-ADAMTS-13, alors qu'un PTT acquis est associé à la présence des autoanticorps. Le groupe reconnaît que la persistance d'anti-ADAMTS-13 en période de rémission est un facteur de risque de rechute du PTTa et qu'un niveau d'anti-ADAMTS-13 élevé est associé à un mauvais pronostic. Concernant la méthode ELISA pour détecter les anti-ADAMTS-13, le groupe souligne qu'en plus des IgG, l'analyse des IgM et des IgA peut être pertinente. Il est aussi mentionné que 5 % à 10 % des individus sains ont des anti-ADAMTS-13 et que l'essai utilisé doit être validé de façon appropriée et inclure des témoins ayant des concentrations basses, moyennes et élevées.

Groupe de travail international sur le syndrome hémolytique et urémique (SHU)

Selon le groupe international d'experts sur le SHU, les analyses d'ADAMTS-13 (détermination de l'activité et dosage des anti-ADAMTS-13) devraient servir de diagnostic différentiel et être réalisées afin d'exclure le PTT chez des patients avec suspicion de SHU atypique [Loirat *et al.*, 2016].

Lignes directrices de la British Society for Haematology

Selon la British Society for Haematology, un dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 devrait être réalisé sur des échantillons de plasma prélevés avant l'initiation d'un traitement d'échange de plasma devant un cas soupçonné de PTT [Scully *et al.*, 2012]. Cette analyse doit être faite conjointement à une analyse d'activité ADAMTS-13.

¹¹⁷ Information transmise par D^{re} Jeannine Kassis, interniste et hématologue, CIUSSS Est MTL – Hôpital Maisonneuve-Rosemont (15 juin 2017).

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage des anti-ADAMTS-13

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 de l'analyse au regard des données publiées et présentées en appui.
- ✓ Le comité recommande une introduction conditionnelle à la transmission de données de validation de l'analyse.

ANNEXE A : Variation intra-essai (données fournies par le demandeur)

Layout												Dilution	
	temoins	temoins	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	
A	F3	H2	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	6400
B	F4	H3											3200
C	F5	H4											1600
D	F6	H5											800
E	F7	H7											400
F	F21	H8											200
G	CTL POS	CTL POS											100
H	Blanc	Blanc											50
dilution 50													

Données												
	temoins	temoins	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS
A	0.116	0.116	0.089	0.088	0.088	0.09	0.089	0.088	0.087	0.083	0.087	0.089
B	0.087	0.094	0.106	0.106	0.107	0.106	0.105	0.107	0.107	0.099	0.107	0.112
C	0.091	0.138	0.135	0.134	0.136	0.133	0.134	0.134	0.133	0.13	0.133	0.134
D	0.121	0.097	0.175	0.175	0.178	0.173	0.177	0.176	0.174	0.166	0.171	0.177
E	0.156	0.11	0.235	0.232	0.238	0.233	0.237	0.238	0.234	0.221	0.231	0.226
F	0.112	0.096	0.306	0.305	0.306	0.297	0.303	0.298	0.294	0.248	0.287	0.289
G	0.416	0.404	0.367	0.362	0.37	0.369	0.369	0.361	0.354	0.346	0.337	0.363
H	0.078	0.067	0.419	0.407	0.418	0.417	0.42	0.414	0.407	0.39	0.407	0.414
Moyenne des blancs:		0.0725										

données - blanc													
	temoins	temoins	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	CTL POS	TITRE
A	0.044	0.044	0.017	0.016	0.016	0.018	0.017	0.016	0.015	0.011	0.015	0.017	128
B	0.015	0.094	0.034	0.034	0.035	0.034	0.033	0.035	0.035	0.027	0.035	0.040	64
C	0.019	0.066	0.063	0.062	0.064	0.061	0.062	0.062	0.061	0.058	0.061	0.062	32
D	0.049	0.025	0.103	0.103	0.106	0.101	0.105	0.104	0.102	0.094	0.099	0.105	16
E	0.084	0.038	0.163	0.160	0.166	0.161	0.165	0.166	0.162	0.149	0.159	0.154	8
F	0.040	0.024	0.234	0.233	0.234	0.225	0.231	0.226	0.222	0.176	0.215	0.217	4
G	0.344	0.332	0.295	0.290	0.298	0.297	0.297	0.289	0.282	0.274	0.265	0.291	2
H	0.005	-0.006	0.347	0.335	0.346	0.345	0.348	0.342	0.335	0.318	0.335	0.342	1
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	

Moyenne des NS	0.045
SD	0.025
Moyenne + 3SD	0.120

Remarques

Le titre d'anticorps correspond à la réciproque de la dernière dilution donnant une Abs492 nm supérieure à la moyenne de l'Abs492 nm des plasmas normaux + 3 déviations standard (valeur en rouge dans les données obtenues). Une variation correspondant à un saut de titre (exemple: de 4 à 2 ou de 4 à 8) est tolérée.

Le contrôle positif utilisé pour la validation intra plaque n'est pas le même que celui utilisé pour la validation inter plaques (il s'agit de plasmas provenant de patients différents).

ANNEXE B : Variation inter-essai (données fournies par le demandeur)

Layout	Plasmas normaux(PN)		Plasma Positif
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	NP F2	NP F2	1/6400
B	NP F21	NP F21	1/3200
C	NP F23	NP F23	1/1600
D	NP H1	NP H1	1/800
E	NP H8	NP H8	1/400
F	NP H27	NP H27	1/200
G	CTL POS	CTL POS	1/100
H	Blanc	Blanc	1/50

dilution 1/50

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.065	0.063	0.009
B	0.094	0.092	0.012
C	0.147	0.151	0.022
D	0.131	0.133	0.043
E	0.081	0.078	0.082
F	0.075	0.068	0.161
G	0.571	0.575	0.309
H	0.001	-0.001	0.558

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN			
0.064			
0.093	Moyenne des PN		0.098
0.149	SD		0.035
0.132	Moyenne + 3SD		0.202
0.080			
0.072			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.155	0.162	0.010
B	0.164	0.159	0.012
C	0.216	0.222	0.023
D	0.164	0.153	0.042
E	0.150	0.138	0.079
F	0.121	0.107	0.148
G	0.457	0.463	0.276
H	0.001	-0.001	0.461

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN			
0.158			
0.161	Moyenne des PN		0.159
0.219	SD		0.034
0.158	Moyenne + 3SD		0.261
0.144			
0.114			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.161	0.158	0.038
B	0.248	0.241	0.069
C	0.327	0.329	0.120
D	0.316	0.315	0.199
E	0.158	0.155	0.351
F	0.132	0.127	0.536
G	1.298	1.269	0.904
H	0.000	0.000	1.269

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 4

Moyennes des PN			
0.160			
0.245	Moyenne des PN		0.222
0.328	SD		0.086
0.316	Moyenne + 3SD		0.481
0.157			
0.130			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.082	0.082	0.010
B	0.111	0.111	0.017
C	0.174	0.174	0.036
D	0.158	0.158	0.064
E	0.073	0.073	0.124
F	0.061	0.061	0.215
G	0.695	0.695	0.393
H	0.000	0.000	0.629

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN			
0.082			
0.111	Moyenne des PN		0.110
0.174	SD		0.047
0.158	Moyenne + 3SD		0.250
0.073			
0.061			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.106	0.047	0.000
B	0.070	0.058	0.001
C	0.036	0.033	0.010
D	0.086	0.084	0.028
E	0.075	0.047	0.060
F	0.056	0.037	0.125
G	0.425	0.421	0.268
H	0.000	0.000	0.464

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 4

Moyennes des PN			
0.077			
0.064	Moyenne des PN		0.061
0.035	SD		0.019
0.085	Moyenne + 3SD		0.117
0.061			
0.047			

Layout	Plasmas normaux (PN)		Plasma Positif
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	NP F2	NP F2	1/6400
B	NP F21	NP F21	1/3200
C	NP F23	NP F23	1/1600
D	NP H1	NP H1	1/800
E	NP H8	NP H8	1/400
F	NP H27	NP H27	1/200
G	CTL POS	CTL POS	1/100
H	Blanc	Blanc	1/50
dilution 1/50			

données - blanc			
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.066	0.064	0.008
B	0.054	0.054	0.016
C	0.070	0.066	0.032
D	0.070	0.063	0.064
E	0.110	0.101	0.122
F	0.087	0.069	0.217
G	0.654	0.627	0.378
H	0.001	-0.001	0.612
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			4

Moyennes des PN		
0.065		
0.054	Moyenne des PN	0.073
0.068	SD	0.018
0.067	Moyenne + 3SD	0.126
0.106		
0.078		

données - blanc			
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.015	0.021	0.005
B	0.043	0.042	0.007
C	0.072	0.070	0.014
D	0.062	0.058	0.030
E	0.027	0.030	0.054
F	0.039	0.033	0.098
G	0.276	0.266	0.206
H	0.000	0.000	0.298
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			2

Moyennes des PN		
0.018		
0.043	Moyenne des PN	0.043
0.071	SD	0.020
0.060	Moyenne + 3SD	0.102
0.029		
0.036		

données - blanc			
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.035	0.034	0.004
B	0.052	-0.039	0.006
C	0.068	0.073	0.012
D	0.079	0.080	0.024
E	0.034	0.035	0.053
F	0.064	0.066	0.098
G	0.320	0.322	0.186
H	-0.003	0.003	0.332
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			2

Moyennes des PN		
0.034		
0.007	Moyenne des PN	0.048
0.070	SD	0.028
0.079	Moyenne + 3SD	0.131
0.034		
0.065		

données - blanc			
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.036	0.056	0.006
B	0.063	0.069	0.010
C	0.105	0.131	0.018
D	0.113	0.117	0.032
E	0.048	0.054	0.064
F	0.057	0.064	0.112
G	0.324	0.329	0.210
H	0.000	0.000	0.346
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			2

Moyennes des PN		
0.046		
0.066	Moyenne des PN	0.076
0.118	SD	0.032
0.115	Moyenne + 3SD	0.172
0.051		
0.061		

données - blanc			
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.096	0.096	0.019
B	0.133	0.133	0.028
C	0.169	0.169	0.043
D	0.186	0.186	0.076
E	0.136	0.136	0.121
F	0.115	0.115	0.211
G	0.554	0.554	0.331
H	0.000	0.000	0.609
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			2

Moyennes des PN		
0.096		
0.133	Moyenne des PN	0.139
0.169	SD	0.033
0.186	Moyenne + 3SD	0.239
0.136		
0.115		

RÉFÉRENCES

- Benhamou Y, Paintaud G, Azoulay E, Poullin P, Galicier L, Desvignes C, et al. Efficacy of a rituximab regimen based on B cell depletion in thrombotic thrombocytopenic purpura with suboptimal response to standard treatment: Results of a phase II, multicenter noncomparative study. *Am J Hematol* 2016;91(12):1246-51.
- Bettoni G, Palla R, Valsecchi C, Consonni D, Lotta LA, Trisolini SM, et al. ADAMTS-13 activity and autoantibodies classes and subclasses as prognostic predictors in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2012;10(8):1556-65.
- Blombery P et Scully M. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: Current perspectives. *J Blood Med* 2014;5:15-23.
- Jin M, Casper TC, Cataland SR, Kennedy MS, Lin S, Li YJ, Wu HM. Relationship between ADAMTS13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *Br J Haematol* 2008;141(5):651-8.
- Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31(1):15-39.
- Miller DP, Kaye JA, Shea K, Ziyadeh N, Cali C, Black C, Walker AM. Incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome. *Epidemiology* 2004;15(2):208-15.
- Nakashima MO, Zhang X, Rogers HJ, Vengal L, Gibson B Jr, Daly TM, Kottke-Marchant K. Validation of a panel of ADAMTS13 assays for diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura: Activity, functional inhibitor, and autoantibody test. *Int J Lab Hematol* 2016;38(5):550-9.
- Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica* 2008;93(2):232-9.
- Rieger M, Mannucci PM, Kremer Hovinga JA, Herzog A, Gerstenbauer G, Konetschny C, et al. ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. *Blood* 2005;106(4):1262-7.
- Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Hovinga JK, et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2017;15(2):312-22.
- Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol* 2012;158(3):323-35.
- Scully M, McDonald V, Cavenagh J, Hunt BJ, Longair I, Cohen H, Machin SJ. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2011;118(7):1746-53.
- Scully M, Cohen H, Cavenagh J, Benjamin S, Starke R, Killick S, et al. Remission in acute refractory and relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura following rituximab is associated with a reduction in IgG antibodies to ADAMTS-13. *Br J Haematol* 2007;136(3):451-61.

- Tersteeg C, Verhenne S, Roose E, Schelpe AS, Deckmyn H, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 autoantibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura – current perspectives and new treatment strategies. *Expert Rev Hematol* 2016;9(2):209-21.
- Tsai HM, Raoufi M, Zhou W, Guinto E, Grafos N, Ranzurmal S, et al. ADAMTS13-binding IgG are present in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 2006;95(5):886-92.
- Veyradier A et Coppo P. ADAMTS 13, la protéase spécifique du facteur von Willebrand. *Med Sci (Paris)* 2011;27(12):1097-105.