

## Avis

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

Transmission au ministre : 12 septembre 2016

Publication officielle : 10 novembre 2016

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

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

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

- la pertinence clinique;
- la 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.

#### Coordination

Éric Potvin, Ph. D.

#### Professionnels scientifiques

Frédéric Breton, B. Sc.

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

Elena Morarescu, M. Sc.

Simon Bélanger, M. Sc., MBA

Mélanie Martin, Ph. D.

#### Recherche d'information scientifique

Caroline Dion, MBSI, *bibl. prof.*

Mathieu Plamondon, MSI

#### Soutien documentaire

Flavie Jouandon

### Édition

#### Responsable

Renée Latulippe

#### Soutien technique

Hélène St-Hilaire

#### Révision linguistique

Josée DeAngelis

#### Vérification bibliographique

Denis Santerre

---

### Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2016

Bibliothèque et Archives Canada, 2016

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)

ISBN 978-2-550-77070-1 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2016

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 cinq analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* Québec, Qc : INESSS; 109p.

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

**Maude Saint-Jean**, M.D., FRCPC

- Pédiatre, microbiologiste médicale et infectiologue, maladies infectieuses, Hôpital Fleury

## Membre citoyen

---

**Suzanne K. Bédard**

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

# LISTE DES ANALYSES

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ANALYSE MUTATIONNELLE DE L'EXON 10 DU GÈNE <i>MPL</i> PAR PCR ALLÈLE-SPÉCIFIQUE<br>MULTIPLÉXÉE (RÉFÉRENCE – 2014.02.14B).....       | 1  |
| ANALYSE MUTATIONNELLE DE L'EXON 12 DU GÈNE <i>JAK2</i> PAR PCR ALLÈLE-SPÉCIFIQUE<br>MULTIPLÉXÉE (RÉFÉRENCE – 2014.02.14A) .....     | 17 |
| ANTIGÈNE DE SURFACE DE L'HÉPATITE B - ANALYSE QUANTITATIVE (RÉFÉRENCE – 2016.01.001).....                                           | 34 |
| DOSAGE DU PROPEPTIDE N-TERMINAL DU PROCOLLAGÈNE DE TYPE 1 (P1NP) (RÉFÉRENCE –<br>2015.03.003).....                                  | 58 |
| ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE DU RÉCEPTEUR DE LA THYRÉOSTIMULINE ( <i>TSHR</i> ) PAR<br>SÉQUENÇAGE (RÉFÉRENCE – 2014.01.008R) ..... | 88 |



# ANALYSE MUTATIONNELLE DE L'EXON 10 DU GÈNE *MPL* PAR PCR ALLÈLE-SPÉCIFIQUE MULTIPLEXÉE (RÉFÉRENCE – 2014.02.14B)

Avis d'évaluation

## 1 INFORMATION GÉNÉRALE

**1.1 Demandeur :** Hôpital Maisonneuve-Rosemont

**1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 12 septembre 2016

**1.3 Date de publication de l'avis :** 10 novembre 2016

### Mise en garde

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

### Conflit d'intérêts

Le D<sup>r</sup> Lambert Busque n'a pas participé aux délibérations et s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

## 2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

### 2.1 Nom de l'analyse

Analyse mutationnelle de l'exon 10 (W515K/L/A et S505N) du gène *MPL* par PCR allèle-spécifique multiplexée.

### 2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

La présente analyse consiste en une amplification en chaîne par polymérase (PCR) allèle-spécifique qui détecte les mutations de l'exon 10 du gène *MPL* (W515L, W515K, W515A et S505N) chez des patients suspectés de myélofibrose primaire et thrombocytémie essentielle. L'identification de la taille des fragments générés par PCR est ensuite réalisée sur un analyseur génétique ABI 3130XL (Applied Biosystems). Enfin, l'analyse des électrophérogrammes est réalisée grâce au logiciel GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems).

Le gène *MPL* (*Myeloproliferative Leukemia virus oncogene*) code pour le récepteur de la thrombopoïétine (OMIM : 159530), un facteur de croissance qui régule la production de cellules progénitrices multipotentes hématopoïétiques et de plaquettes. L'acide aminé 515 du récepteur de la thrombopoïétine fait partie d'une séquence de 5 acides aminés qui se retrouve tout près du domaine transmembranaire à l'intérieur du cytoplasme. Ces acides aminés jouent un rôle dans la conformation cytosolique du récepteur et préviennent l'activation spontanée de ce dernier en absence de liaison de la thrombopoïétine [Pecquet *et al.*, 2010; Staerk *et al.*, 2006].

## 2.3 Modalités d'administration du test

Le prélèvement sera effectué et expédié à la réception générale des spécimens au département de biochimie de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont. Le spécimen sera ensuite acheminé vers le laboratoire de biologie moléculaire où l'analyse pourra être effectuée à partir de l'ADN extrait des cellules mononucléaires de la moelle osseuse ou des cellules nucléées du sang total périphérique. Le temps prévu de réponse est de 20 jours.

## 2.4 Société ou concepteur

Le protocole fourni par le demandeur est adapté de la méthode publiée par Furtado et ses collaborateurs [2013]. Cette méthode est brièvement présentée à la section 4.4 [Furtado *et al.*, 2013].

## 2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Sans objet

## 2.6 Valeur pondérée : 45,49

# 3 CONTEXTE

## 3.1 Patients ciblés

L'analyse proposée cible les patients soupçonnés d'être atteints d'une thrombocytémie essentielle ou d'une myélofibrose primaire chez qui les résultats de la recherche de la mutation V617F du gène *JAK2*<sup>1</sup> et de mutations dans le gène *CALR*<sup>2</sup> se sont avérés négatifs.

## 3.2 Nombre prévu d'analyses et de personnes visées

Le demandeur estime que 140, 145 et 150 analyses seront réalisées au Québec au cours de chacune des trois premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*.

## 3.3 Brève description de la situation actuelle

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), la classification des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph- (chromosome de Philadelphie) inclut la polycythémie vraie (*polycythaemia vera*), la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primaire [Arber *et al.*, 2016; Tefferi et Vardiman, 2008].

Le diagnostic différentiel de la thrombocytémie essentielle et de la myélofibrose primaire est principalement basé sur la morphologie de la moelle osseuse prélevée lors d'une biopsie. La présence d'une mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* appuie ce diagnostic dans 85 % à 90 % des cas, tandis que de 10 % à 15 % des patients sont triple-négatifs<sup>3</sup> [Tefferi et Barbui, 2015; Tefferi, 2014].

## 3.4 Données médico-administratives

Le laboratoire du demandeur a testé plus de 250 échantillons de patients pour la présence d'une mutation dans le gène *MPL* au cours des dernières années (tableau 1). Advenant

<sup>1</sup> Le gène *JAK2* (*Janus Kinase 2*) code pour une protéine tyrosine kinase impliquée dans la signalisation des récepteurs de cytokines (OMIM : 147796).

<sup>2</sup> Le gène *CALR* code pour la calréticuline, une protéine multifonctionnelle qui peut fixer des ions calcium (Ca<sup>2+</sup>) dans le réticulum endoplasmique (OMIM : 109091).

<sup>3</sup> Triple-négatif signifie qu'aucune mutation n'a été retrouvée dans les gènes *JAK2*, *MPL* et *CALR*.

l'introduction de la présente analyse au *Répertoire*, le demandeur prévoit effectuer 140 analyses la première année, 145 la deuxième année et 150 la troisième année.

**Tableau 1 Analyses du statut mutationnel du gène *MPL* effectuées depuis 2010 par le laboratoire du demandeur**

| PÉRIODES  | PROVENANCE DES DEMANDES      |        | TOTAL |
|-----------|------------------------------|--------|-------|
|           | HÔPITAL MAISONNEUVE-ROSEMONT | AUTRES |       |
| 2010-2011 | 7                            | 1      | 8     |
| 2011-2012 | 8                            | 6      | 14    |
| 2012-2013 | 1                            | 4      | 5     |
| 2013-2014 | 2                            | 18     | 20    |
| 2014-2015 | 17                           | 50     | 67    |
| 2015-2016 | 25                           | 111    | 136   |

### 3.5 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permettra de confirmer le diagnostic des néoplasies myéloprolifératives de type thrombocytémie essentielle et myélofibrose primaire.

### 3.6 Assurance qualité

#### Contrôles internes

Le demandeur souligne que plusieurs contrôles de qualité sont utilisés tout au long du processus de cette analyse. La réussite de la présente analyse repose sur 2 aspects primordiaux : la qualité et la quantité de l'ADN extrait. La vérification de ces deux aspects est obtenue à la suite de lectures recueillies sur le spectrophotomètre. La qualité de l'ADN est évaluée en fonction du ratio de la densité optique à 260 nm et celle à 280 nm. Le ratio attendu varie entre 1,7 et 2,3. En ce qui concerne la quantité d'ADN requise, elle est aussi mesurée par le spectrophotomètre en fonction de la densité optique. Pour réaliser adéquatement l'analyse, il faut une concentration minimale de 5 ng/µl pour chaque échantillon afin d'obtenir minimalement 25 ng d'ADN par amplification. Pour l'analyse en soi, différents contrôles positifs et négatifs sont utilisés. En effet, comme contrôle positif, des ADN synthétiques (gBlocks) pour les mutations ciblées sont utilisés lors de chaque nouvelle expérience. Chaque échantillon est analysé en duplicata. De plus, l'intensité de fluorescence des fragments générés sur l'analyseur génétique est aussi vérifiée et un seuil minimal est établi. Finalement, s'il y a un doute ou un résultat anormal, le demandeur procède au séquençage de la région d'intérêt afin de confirmer le résultat.

#### Contrôles externes

Selon le demandeur, il n'existe pas de contrôle de qualité externe offert commercialement pour cette analyse. Un laboratoire du Princess Margaret Cancer Centre du Toronto University Health Network a accepté d'échanger des spécimens à l'aveugle une à deux fois par année avec le laboratoire du demandeur.

## 4 DONNÉES PROBANTES

### 4.1 Valeur diagnostique

#### Prévalence de mutation dans le gène *MPL*

La majorité des mutations dans le gène *MPL* est retrouvée au codon 515 de l'exon 10, dont W515L est la plus fréquente, suivie de W515K. D'autres mutations peuvent également être retrouvées au codon 515 du gène *MPL*, soit W515A, W515R et W515S [Gong *et al.*, 2013]. Par ailleurs, la mutation S505N du gène *MPL* d'abord identifiée chez des familles atteintes de thrombocytémie héréditaire [Liu *et al.*, 2009; Ding *et al.*, 2004] a aussi été identifiée chez des patients atteints de thrombocytémie essentielle et de myélofibrose primaire [Beer *et al.*, 2008]. Globalement, ces mutations sont retrouvées chez près de 7 % des patients atteints de myélofibrose primaire et 3 % des patients atteints de thrombocytémie essentielle [Tefferi et Barbui, 2015; Tefferi, 2014; Beer *et al.*, 2008; Pardanani *et al.*, 2006; Pikman *et al.*, 2006]. D'autres mutations plus rares ont également été rapportées, mais leur signification pathogénique demeure incertaine [Gong *et al.*, 2013].

Pardanani et ses collaborateurs [2006] ont évalué la présence de mutation au codon 515 du gène *MPL* chez 1 182 patients atteints de néoplasies myéloprolifératives ainsi que d'autres conditions myéloïdes, et ce, peu importe leur statut *JAK2*. Parmi ces patients, 20 étaient porteurs de mutation au codon 515 du gène *MPL*. Les auteurs ont conclu que des mutations dans le gène *MPL* (W515L ou W515K) étaient présentes chez 5 % des patients atteints de myélofibrose primaire et 1 % des patients atteints de thrombocytémie essentielle, tandis qu'aucune mutation n'a été observée chez les patients atteints de polycythémie vraie [Pardanani *et al.*, 2006].

Beer et ses collaborateurs [2008] ont évalué la prévalence de mutation dans l'exon 10 du gène *MPL* chez une cohorte rétrospective de 200 patients non sélectionnés, dont 88 étaient atteints de thrombocytémie essentielle et 112 de myélofibrose primaire. Parmi cette cohorte, des mutations ont été retrouvées chez 11 patients (S505N chez 2 patients, W515L chez 7 patients et W515K chez 2 patients), ce qui représentait 3,4 % des patients atteints de thrombocytémie essentielle et 7,1 % des patients atteints de myélofibrose primaire. Les auteurs ont également vérifié la prévalence de ces 3 mutations auprès d'une cohorte prospective de 776 patients atteints de thrombocytémie essentielle (*Primary Thrombocytohaemia 1*). Parmi cette cohorte, des mutations ont été retrouvées chez 32 patients (S505N chez 3 patients, W515L chez 24 patients et W515K chez 5 patients), ce qui représentait 4,1 % des patients atteints de thrombocytémie essentielle [Beer *et al.*, 2008].

### 4.2 Valeur pronostique

Plusieurs études ont rapporté des différences dans le risque de décès, la survie globale, l'incidence de thrombose et la progression de la maladie selon le statut mutationnel des gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* des patients atteints de thrombocytémie essentielle ou de myélofibrose primaire [Rotunno *et al.*, 2014; Tefferi *et al.*, 2014a; Tefferi *et al.*, 2014b; Tefferi *et al.*, 2014c; Klampfl *et al.*, 2013]. Les principaux résultats de ces études sont brièvement présentés dans cette section. À noter que selon le demandeur, la valeur pronostique du gène *MPL* n'influence pas la prise en charge des patients atteints de

thrombocytémie essentielle ou de myélofibrose primaire.<sup>4</sup>

### Mortalité

Deux études ont évalué le risque de décès associé à la présence de mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* chez des patients atteints de thrombocytémie essentielle ou de myélofibrose primaire [Tefferi *et al.*, 2014b; Klampfl *et al.*, 2013]. Ce risque était de 1,7 à 3,6 fois plus élevé chez les patients triple-négatifs et les patients *JAK2+* et *MPL+* par rapport aux patients *CALR+* (tableau 2).

**Tableau 2 Risque de décès selon le statut mutationnel des gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL***

| ÉTUDE                         | POPULATION        | GÉNOTYPE                                                                                        | RISQUE DE DÉCÈS                             |                 |           |
|-------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------|-----------|
|                               |                   |                                                                                                 | COMPARAISON                                 | RRI (IC 95 %)   | P         |
| Tefferi <i>et al.</i> , 2014b | 254 MFP           | <i>JAK2+</i> : 58 %*<br><i>CALR+</i> : 25 %*<br><i>MPL+</i> : 8,3 %<br>Triple-négatif : 8,7 %   | <i>MPL+</i> vs <i>CALR+</i>                 | 1,7 (0,9 - 3,3) | n.s.†     |
|                               |                   |                                                                                                 | <i>JAK2+</i> vs <i>CALR+</i>                | 2,6 (1,6 - 4,0) | < 0,0001† |
|                               |                   |                                                                                                 | Triple-négatif <sup>†</sup> vs <i>CALR+</i> | 3,6 (1,9 - 6,7) | < 0,0001† |
| Klampfl <i>et al.</i> , 2013  | 894 TE et 321 MFP | <i>JAK2+</i> : 63,4 %<br><i>CALR+</i> : 23,5 %<br><i>MPL+</i> : 4,4 %<br>Triple-négatif : 8,8 % | <i>MPL+</i> vs <i>CALR+</i>                 | 3,5 (1,8 - 6,7) | < 0,001   |
|                               |                   |                                                                                                 | <i>JAK2+</i> vs <i>CALR+</i>                | 3,1 (2,0 - 4,7) | < 0,001   |

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; MFP : myélofibrose primaire; N.S. : non significatif; RRI : rapport de risque instantané; TE : thrombocytémie essentielle

\* Un patient était porteur de mutation *JAK2* et *CALR* et n'a pas été inclus dans les analyses.

† Après un ajustement selon l'âge, les valeurs de *p* étaient de 0,22 (*MPL+* vs *CALR+*), 0,01 (*JAK2+* vs *CALR+*) et de 0,0008 (Triple-négatif vs *CALR+*).

### Survie

Quatre études ont évalué la médiane de survie globale associée à la présence de mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* chez des patients atteints de myélofibrose primaire ou de thrombocytémie essentielle [Tefferi *et al.*, 2014a; Tefferi *et al.*, 2014b; Tefferi *et al.*, 2014c; Klampfl *et al.*, 2013]. Selon ces études, les médianes de survie globale des patients atteints de myélofibrose primaire ou de thrombocytémie essentielle *MPL+* variaient de 4 à 10 ans. La survie globale médiane semblait meilleure chez les patients *CALR+* (tableau 3).

<sup>4</sup> Information fournie par le Dr Lambert Busque, Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont.

**Tableau 3 Médiannes de survie globale des patients atteints de myélofibrose primaire ou de thrombocytémie essentielle selon le statut mutationnel des gènes *JAK2*, *CALR* et *MPL***

| ÉTUDE                         | POPULATION                          | GÉNOTYPE                            | SURVIE GLOBALE MÉDIANE % (IC 95 %) |
|-------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Tefferi <i>et al.</i> , 2014b | 254 MFP                             | <i>MPL</i> + : 8,3 %                | 4,1 ans                            |
|                               |                                     | <i>JAK2</i> + : 58 %*               | 4,3 ans                            |
|                               |                                     | <i>CALR</i> + : 25 %*               | 8,2 ans                            |
|                               |                                     | Triple-négatif <sup>†</sup> : 8,7 % | 2,5 ans                            |
| Klampfl <i>et al.</i> , 2013  | 1 215 patients<br>894 TE et 321 MFP | <i>MPL</i> + : 4,4 %                | 8,2 ans (2,0 – n.d.) <sup>‡</sup>  |
|                               |                                     | <i>JAK2</i> + : 63,4 %              | 11 ans (7,8 – 14,4) <sup>‡</sup>   |
|                               |                                     | <i>CALR</i> + : 23,5 %              | 21,4 ans (17,1 – 22,9)             |
| Tefferi <i>et al.</i> , 2014a | 428 MFP <sup>¶</sup>                | <i>MPL</i> + : 6 %                  | 9,9 ans                            |
|                               |                                     | <i>JAK2</i> + : 60 %                | 5,9 ans                            |
|                               |                                     | <i>CALR</i> + : 22 %                | 15,9 ans <sup>  </sup>             |
|                               |                                     | Triple-négatif <sup>†</sup> : 12 %  | 2,3 ans <sup>  </sup>              |
| Tefferi <i>et al.</i> , 2014c | 299 TE                              | <i>MPL</i> + : 3 %                  | 9 ans <sup>∫</sup>                 |
|                               |                                     | <i>JAK2</i> + : 53 %                | 19 ans                             |
|                               |                                     | <i>CALR</i> + : 32 %                | 20 ans                             |
|                               |                                     | Triple-négatif <sup>†</sup> : 12 %  | Médiane non atteinte               |

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; MFP : mélofibrose primaire; N.D. : non disponible; N.S. : différence non significative; RRI : rapport de risque instantané; TE : thrombocytémie essentielle.

\* Un patient était porteur de mutation *JAK2* et *CALR* et n'a pas été inclus dans les analyses.

<sup>†</sup> Triple-négatif signifie qu'aucune mutation n'a été retrouvée dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL*.

<sup>‡</sup> Différence significative ( $p < 0,001$ ) par rapport aux patients *CALR*+.

<sup>¶</sup> Tefferi et ses collaborateurs [2014a] ont également évalué la survie globale chez 576 patients TE (*MPL*+ : 4 %; *JAK2*+ : 58 %; *CALR*+ : 23 %; Triple-négatif : 15 %). Les auteurs ne présentent pas les données dans l'article, mais précise néanmoins qu'il n'y avait pas de différence significative entre celles-ci.

<sup>||</sup> Différence significative ( $p < 0,001$ ) par rapport aux patients *MPL*+ (HR : 0,3, IC 95 % de 0,2-0,6), *JAK2*+ (HR : 0,5, IC 95 % de 0,4-0,7) ou *CALR*+ (HR : 0,2, IC 95 % de 0,1-0,3). Cette différence demeure significative lorsque les analyses sont ajustées selon l'âge et le sexe. Différences significatives : *CALR*+ vs triple-négatif (HR : 5,1, IC 95 % de 3,2-8); *CALR*+ vs *JAK2*+ (HR : 2,5, IC 95 % de 1,7-3,7). Différence non significative : *CALR*+ vs *MPL*+ (HR : 1,6, IC 95 % de 0,9-3).

<sup>∫</sup> Différence significative ( $p = 0,007$ ) par rapport aux patients triple-négatifs. Toutefois, cette différence n'est pas significative lorsque les analyses sont ajustées selon l'âge ( $p = 0,42$ ).

### Morbidité

Deux études ont évalué l'incidence de thrombose associée à la présence de mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* chez des patients atteints de thrombocytémie essentielle [Rotunno *et al.*, 2014; Klampfl *et al.*, 2013]. L'incidence de thrombose à 10 ans chez les patients *MPL*+ variait de 9,3 % à 19,5 % (tableau 4). La survie sans thrombose était significativement meilleure chez les patients *CALR*+ par rapport aux patients *JAK2*+ et *MPL*+ ( $p = 0,008$ ) [Rotunno *et al.*, 2014].

**Tableau 4 Incidence cumulative de thrombose chez les patients atteints de thrombocytémie essentielle selon le statut mutationnel des gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL***

| ÉTUDE                        | POPULATION | GÉNOTYPE                    | INCIDENCE CUMULATIVE DE THROMBOSE<br>% (IC 95 %) |                   |                   |
|------------------------------|------------|-----------------------------|--------------------------------------------------|-------------------|-------------------|
|                              |            |                             | À 5 ANS                                          | À 10 ANS          | À 15 ANS          |
| Klampfl <i>et al.</i> , 2013 | 894 TE     | <i>MPL</i> + : 4,4 %        | 9,3 (2,3 – 22,3)                                 | 9,3 (2,3 – 22,3)  | 17,6 (4,4 – 38,1) |
|                              |            | <i>JAK2</i> + : 63,4 %      | 13 (10 – 16,4)                                   | 21 (16,6 – 25,7)* | 27,1 (21,4 – 33)  |
|                              |            | <i>CALR</i> + : 23,5 %      | 6,3 (3,2 – 10,8)                                 | 11 (6,3 – 17,1)   | 12,8 (7,3 – 20)   |
| Rotunno <i>et al.</i> , 2014 | 576 TE     | <i>MPL</i> + : 4,3 %        | n.d.                                             | 19,5 (7,6-44,6)   | n.d.              |
|                              |            | <i>JAK2</i> + : 64,1 %      | n.d.                                             | 14,5 (10,0-20,8)  | n.d.              |
|                              |            | <i>CALR</i> + : 15,5 %      | n.d.                                             | 5,12 (1,6-15,2)   | n.d.              |
|                              |            | Triple-négatif† :<br>16,1 % | n.d.                                             | 8,2 (2,7-22,3)‡   | n.d.              |

Abréviations : HR : *hazard ratio* ou rapport de risque instantané; IC : intervalle de confiance; MFP : myélofibrose primaire; N.D. : non disponible; TE : thrombocytémie essentielle.

\* Différence significative ( $p = 0,003$ ) par rapport aux porteurs de mutation dans le gène *CALR*.

† Triple-négatif signifie qu'aucune mutation n'a été retrouvée dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL*.

‡ Si le groupe de patients triple-négatifs est considéré comme le groupe de référence, le risque (HR) de thrombose était de 0,74 (IC à 95 % : 0,33 – 1,00) pour *CALR*+; de 1,78 (IC à 95 % : 1,06 – 3,18) pour *JAK2*+ et de 1,65 (1,7 – 3,92) pour *MPL*+.

En plus des thromboses, Rotunno et ses collaborateurs [2014] ont rapporté l'incidence d'événements cardiovasculaires majeurs chez les patients *MPL*+ (40 %), *JAK2*+ (30,1 %) et *CALR*+ (13,5 %) et chez les patients triple-négatifs (16,1 %). Comparativement aux cas *JAK2*+ (30,1 %) et *MPL*+ (40 %), ces événements étaient significativement moins fréquents chez les patients *CALR*+ (13,5 %;  $p = 0,01$ ). Une tendance plus fréquente d'hémorragies a aussi été rapportée chez les patients *MPL*+ [Rotunno *et al.*, 2014].

#### Progression de la maladie

Deux études ont évalué le risque de progression de la myélofibrose primaire vers une leucémie selon la présence de mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* [Tefferi *et al.*, 2014a; Tefferi *et al.*, 2014b]. Tefferi et ses collaborateurs [2014a] ont démontré que le risque de progression était significativement plus élevé chez les patients triple-négatifs par rapport à ceux de statut *MPL*+ (RRI : 0,3, IC 95 % de 0,1-0,9), *JAK2*+ (RRI : 0,4, IC 95 % de 0,2-0,7) et *CALR*+ (RRI : 0,1, IC 95 % de 0,05-0,35). Par ailleurs, les patients *CALR*+ étaient significativement moins à risque de progression que les patients triple-négatifs (RRI : 7,6, IC 95 % de 2,8-20,2) et les patients *JAK2*+ (RRI : 2,7, IC 95 % de 1,1-6,6), tandis que cette différence n'était pas significative par rapport aux patients *MPL*+ (RRI : 1,9, IC 95 % de 0,5-7,7) [Tefferi *et al.*, 2014a]. Une seconde étude de Tefferi et ses collaborateurs [2014b] a rapporté des résultats similaires chez 254 patients atteints de myélofibrose primaire avec une survie sans leucémie significativement plus faible pour les patients triple-négatifs comparativement aux patients *JAK2*+, *CALR*+ et *MPL*+ ( $p = 0,003$ ) [Tefferi *et al.*, 2014b].

### 4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue puisque la présente analyse n'a pas pour objectif d'orienter ou de modifier les choix de traitement.

### 4.4 Validité analytique

Furtado et ses collaborateurs [2013] ont développé une PCR allèle-spécifique qui détecte la majorité des mutations de l'exon 10 du gène *MPL* (W515L/K/A et S505N). Quinze échantillons utilisés lors de validation inter-laboratoire ont été testés dont le tiers avait un génotype identifiable par l'analyse proposée. L'approche de Furtado a permis de confirmer les 5 cas positifs. Un des échantillons porteurs d'une mutation *MPL* S505N+ était également porteur d'une mutation rare W515R non détectée, puisque non testée.

La spécificité analytique a été évaluée avec 30 échantillons de sang périphérique provenant de sujets sains et 15 échantillons de moelle osseuse provenant de patients porteurs de la mutation V617F du gène *JAK2*. De ces échantillons, aucune mutation n'a été retrouvée dans l'exon 10 du gène *MPL*.

La reproductibilité analytique a été évaluée en effectuant 15 analyses avec deux contrôles positifs (S505N et W515A; W515L et W515K) et un contrôle négatif. Toutes les mutations ont été identifiées à chacune des analyses.

Un total de 1 380 échantillons consécutifs référés au laboratoire des auteurs ont été révisés, dont 99,4 % (1 372/1 380) ont produit un résultat interprétable. Parmi ceux-ci, 58 échantillons étaient positifs pour une mutation dans le gène *MPL*. Ces 58 échantillons ont également été analysés par la méthode de séquençage Sanger. Une bonne concordance a été observée entre ces deux méthodes. Toutefois, 7 échantillons positifs ayant des niveaux de positivité d'allèle mutant en deçà de 5 % n'ont pas été détectés par Sanger, tandis que 10 cas additionnels ayant des niveaux de positivité entre 5 % et 15 % n'ont pas été détectés de façon fiable par Sanger.

Des dilutions en séries d'ADN muté et d'ADN non muté ont été réalisées de manière à tester la sensibilité analytique de la méthode. La limite inférieure de détection de mutation dans l'exon 10 du gène *MPL* était approximativement de 2,5 %. La sensibilité de cette technique a donc été établie à 5 %.

Les auteurs ont conclu que leur stratégie de PCR allèle-spécifique représente une plateforme transposable aux laboratoires cliniques. Cette technique est simple, efficace et sensible et permet de détecter près de 97 % des mutations dans l'exon 10 du gène *MPL* associées au diagnostic de thrombocythémie essentielle et de myélofibrose primaire [Furtado *et al.*, 2013].

### 4.5 Données fournies par le demandeur

Pour l'étude de validation de l'analyse mutationnelle de l'exon 10 du gène *MPL*, 21 échantillons différents prélevés de mai 2014 à février 2016 chez des patients suspectés ont été sélectionnés. La qualité et la quantité d'ADN de tous les échantillons analysés ont été vérifiées à l'aide du ratio de densité optique 260 nm/280 nm. Tous les échantillons répondaient aux critères de qualité établis et étaient en quantité suffisante. Tous les échantillons ont été préalablement analysés par séquençage de type Sanger, puis ont tous été analysés avec succès par PCR allèle-spécifique. Parmi les 21 échantillons, la mutation

W515L a été identifiée dans 15 échantillons et W515K dans 3 échantillons, tandis que 3 échantillons ne présentaient aucune mutation.

Bien que le laboratoire demandeur ait testé près de 150 échantillons d'ADN de patients pour la présence d'une mutation dans l'exon 10 du gène *MPL* au cours des dernières années, les mutations W515A et S505N n'ont pas été identifiées en raison de leur rareté. Cependant, des fragments d'ADN synthétiques ont été inclus dans l'étude de validation pour couvrir cette possibilité.

#### Étude de la précision et de l'efficacité

Les résultats obtenus pour chacun des échantillons testés avec la présente analyse ont été comparés aux mutations préalablement identifiées par séquençage de type Sanger. Ces résultats ont démontré une concordance entre les méthodes.

#### Étude de reproductibilité

Afin d'établir la reproductibilité de la technique, 2 des 21 échantillons d'ADN ont été testés à nouveau en duplicata. Parmi ces échantillons, les mutations W515L et W515K ont été identifiées. Les résultats obtenus lors du second essai concordaient à 100 % avec ceux du premier test.

## 5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle de l'exon 10 du gène *MPL*. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 5 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Selon le demandeur, 140, 145 et 150 analyses sont prévues pour le Québec au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*;
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec;
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 45,49.

**Tableau 5 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle de l'exon 10 du gène *MPL***

|                                    | AN 1     | AN 2     | AN 3     | TOTAL     |
|------------------------------------|----------|----------|----------|-----------|
| Nombre d'analyses anticipées       | 140      | 145      | 150      | 435       |
| Coûts si introduction de l'analyse | 6 369 \$ | 6 596 \$ | 6 824 \$ | 19 789 \$ |

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle de l'exon 10 du gène *MPL* au *Répertoire* sont estimés à un total de 19 789 \$ pour les trois premières années.

## 6 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

En 2008, l'OMS a publié une classification ainsi que des critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives. Les critères diagnostiques de la thrombocytémie essentielle et de la myélofibrose primaire incluent notamment, comme critère majeur, la présence de mutation dans le gène *JAK2* ou dans un autre marqueur clonal (annexe A) [Tefferi et Vardiman, 2008]. Ces critères diagnostiques ont été révisés récemment et incluent dorénavant la présence de mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* comme un critère

majeur de diagnostic de la thrombocythémie essentielle et de la myélofibrose primaire [Arber *et al.*, 2016].

L'ESMO a publié des lignes directrices de pratique clinique pour le diagnostic, le traitement et le suivi des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph-. L'algorithme diagnostique des néoplasies myéloprolifératives, basé sur la classification publiée par l'OMS en 2008, comprend l'analyse du statut mutationnel des gènes *JAK2*, *CALR* et *MPL* dans le diagnostic de la thrombocythémie essentielle et de la myélofibrose primaire (annexe B) [Vannucchi *et al.*, 2015].

Un panel d'experts de l'Association for Molecular Pathology (AMP) a publié des lignes directrices de laboratoire sur les analyses du statut mutationnel des gènes *JAK2* et *MPL* pour le diagnostic des néoplasies myéloprolifératives. Ces lignes directrices, basées sur la littérature scientifique et la pratique clinique aux États-Unis et au Canada, se veulent une référence pour les professionnels des laboratoires cliniques dans la sélection de la méthodologie, la validation de la procédure et l'interprétation des résultats [Gong *et al.*, 2013].

## 7 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

L'analyse proposée cible les patients soupçonnés d'être atteints d'une thrombocythémie essentielle ou d'une myélofibrose primaire et pour lesquels la recherche de la mutation V617F du gène *JAK2* et de mutations dans le gène *CALR* s'est avérée négative. Il s'agit d'une analyse mutationnelle de l'exon 10 (W515K/L/A et S505N) du gène *MPL* par PCR allèle-spécifique multiplexée.

La majorité des mutations dans le gène *MPL* est retrouvée au codon 515 de l'exon 10, dont W515L est la plus fréquente, suivie de W515K. Globalement, ces mutations sont retrouvées chez près de 7 % des patients atteints de myélofibrose primaire et 3 % des patients atteints de thrombocythémie essentielle. Bien que les mutations dans le gène *MPL* possèdent une valeur pronostique démontrée, celle-ci n'influence pas la prise en charge des patients qui en sont porteurs.

Les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle de l'exon 10 du gène *MPL* au Répertoire sont estimés à 19 789 \$ pour les trois premières années.

Les critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives ont été révisés par l'OMS en 2016 et incluent dorénavant la présence de mutation dans les gènes *JAK2*, *CALR* ou *MPL* comme un critère majeur de diagnostic de la thrombocythémie essentielle et de la myélofibrose primaire.

## 8 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse mutationnelle de l'exon 10 du gène *MPL* par PCR allèle-spécifique multiplexée

### La recommandation de l'INESSS

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

### Précisions accompagnant la recommandation

Le comité reconnaît la pertinence médicale de l'analyse proposée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui.

Concernant la validité analytique, les données fournies par le demandeur ont été jugées suffisantes.

En l'absence d'un programme d'assurance qualité établi pour cette analyse, le demandeur a mis en place un système d'échange de spécimens avec un laboratoire reconnu pour cette analyse. Toutefois, les membres du comité recommandent que les échanges de spécimens aient lieu deux fois par année plutôt qu'une.

# ANNEXE A

## Critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives selon l'OMS

**Tableau 6 Critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph-selon l'OMS (Tiré de Arber *et al.*, 2016)**

| CRITÈRES DE DIAGNOSTIC* | POLYCYTHÉMIE VRAIE                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | THROMBOCYTÉMIE ESSENTIELLE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | MYÉLOFIBROSE PRIMAIRE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Majeurs                 | 1. Hémoglobine > 16,5 g/dL (homme)<br>> 16,0 g/dL (femme)<br><b>Ou</b><br>Hématocrite > 49 % (homme)<br>Hématocrite > 48 % (femme)<br><b>Ou</b><br>Augmentation de la masse érythrocytaire†                                                                                                                                 | 1. Décompte plaquettaire $\geq 450 \times 10^9/l$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 1. Présence et prolifération de mégacaryocytes atypiques‡ avec fibrose§ de la réticuline et/ou du collagène (grade 2 ou 3)                                                                                                                                                                                                                            |
|                         | 2. Biopsie de la moelle osseuse démontrant une hypercellularité pour l'âge avec myéloprolifération médullaire des trois lignées cellulaires (panmyélose) comprenant une importante prolifération des érythroïdes, des granulocytes et des mégacaryocytes avec pléomorphisme, mégacaryocytes matures (différentes tailles)‡. | 2. Biopsie de la moelle osseuse démontrant une prolifération principalement des lignées de mégacaryocytes accompagnée d'une augmentation du nombre et de la taille des mégacaryocytes matures avec un noyau hyperlobulé. Aucune augmentation ou <i>left-shift</i> de la granulopoïèse neutrophilique ou érythropoïèse et, très rarement, une augmentation mineure (grade 1) des fibres réticulines. | 2. Ne rencontre pas les critères de l'OMS pour la TE, PV, LMC <i>BCR-ABL1</i> +, syndromes myélodysplasiques, ou autres néoplasmes myéloïdes                                                                                                                                                                                                          |
|                         | 3. Présence de la mutation <i>JAK2</i> V617F ou de mutations dans l'exon 12 de <i>JAK2</i>                                                                                                                                                                                                                                  | 3. Ne rencontre pas les critères de l'OMS pour LMC <i>BCR-ABL1</i> +, PV, MFP, syndromes myélodysplasiques, ou autres néoplasmes myéloïdes                                                                                                                                                                                                                                                          | 3. Présence d'une mutation <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i> ou en absence de ces mutations, présence d'un autre marqueur clonal§ ou absence de myélofibrose réactive                                                                                                                                                                           |
|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 4. Présence d'une mutation <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Mineurs                 | 1. Érythropoïétine sérique en-dessous des valeurs normales                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1. Présence d'un marqueur clonal ou absence d'évidence de thrombocytose réactive                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1. Présence d'au moins un des éléments suivants, confirmés deux fois de façon consécutives :<br>a. Anémie non attribuée à des comorbidités<br>b. Leucocytose $\geq 11 \times 10^9/L$<br>c. Splénomégalie palpable<br>d. Augmentation de la LDH sérique au-delà de la limite supérieure normal de référence institutionnelle<br>e. Leucoérythoblastose |

Abréviations : LDH : lactate déshydrogénase; LMC : leucémie myéloïde chronique; MFP : myélofibrose primaire; NM : néoplasie myéloïde; OMS : Organisation mondiale de la santé; PV : polycythémie vraie; SMD : syndrome myélodysplasique; TE : thrombocytémie essentielle.

\* Le diagnostic de PV nécessite soit les 3 critères majeurs ou les deux premiers critères majeurs et le critère mineur. Le diagnostic de TE nécessite les quatre critères majeurs ou les trois premiers critères majeurs et le critère mineur. Le diagnostic de MFP nécessite les trois critères majeurs et au moins un critère mineur.

† Masse érythrocytaire > 25 % de la valeur prédictive moyenne normale.

‡ Le 2e critère majeur (biopsie de la moelle osseuse) pourrait ne pas être requis dans les cas avec érythrocytose absolue soutenue : hémoglobine > 18,5 g/dL chez l'homme (hématocrite 55,5 %) ou > 16,5 g/dL chez la femme (hématocrite 49,5 %) si le critère majeur 3 et le critère mineur sont présents. Toutefois, la myélofibrose initiale (touchant (?) jusqu'à 20 % des patients) peut seulement être détectée par une biopsie de la moelle osseuse; cette constatation pourrait prédire une progression plus rapide vers la myélofibrose manifeste (myélofibrose post-polycythémie vraie).

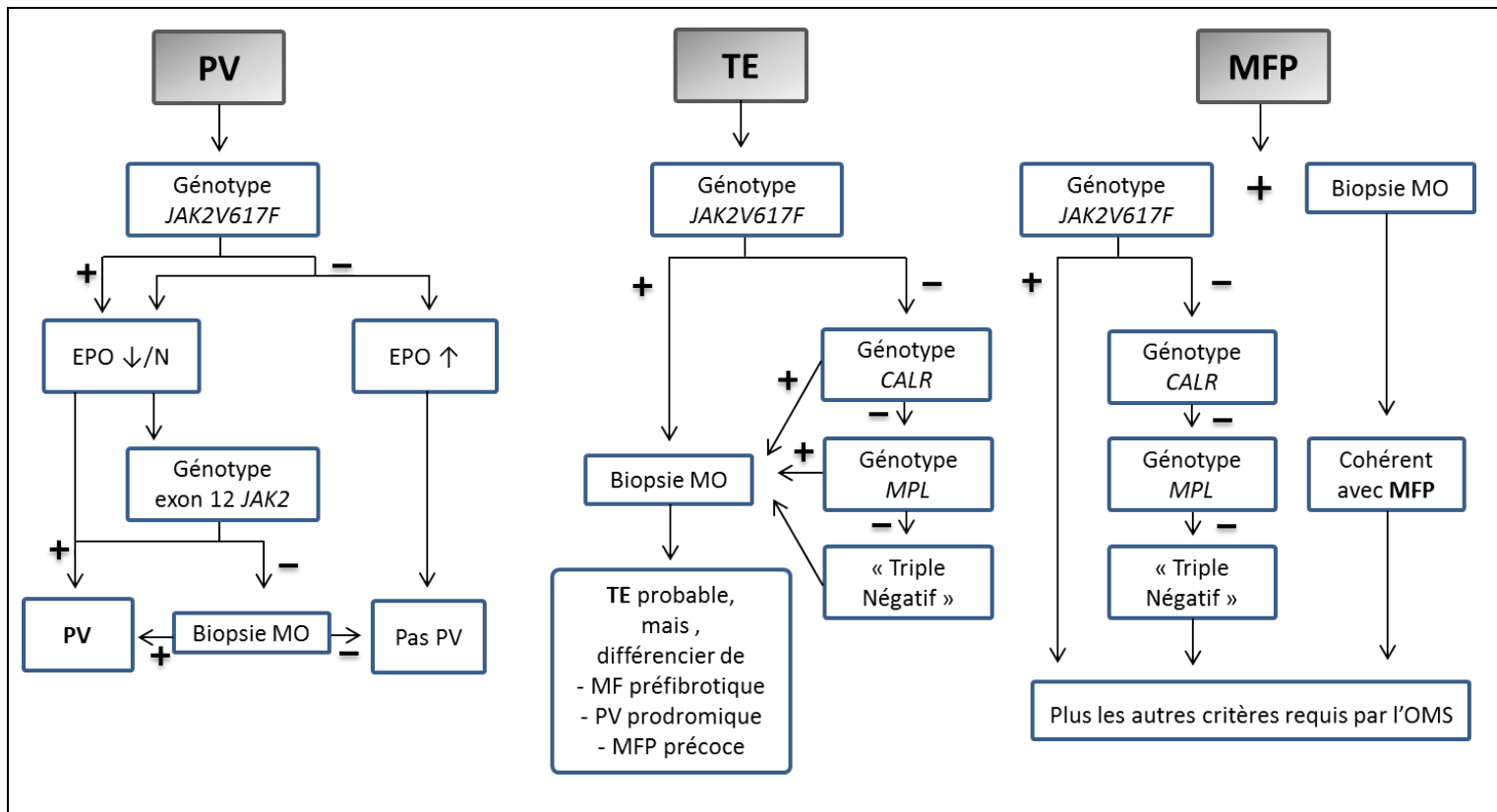
§ En l'absence de l'une des trois mutations clonales majeures, la recherche d'autres mutations fréquentes (ex : *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2*, *SF3b1*) peuvent aider à déterminer la nature clonale de la maladie.

|| Fibrose de la moelle osseuse secondaire à une infection, à une maladie autoimmune ou autres conditions inflammatoires chroniques, leucémie à tricholeucocytes, ou autres néoplasmes lymphoïdes, métastases malignes ou myélopathies toxiques (chroniques).

## ANNEXE B

Algorithme diagnostique des néoplasies myéloprolifératives selon l'European Society for Medical Oncology (ESMO)

Figure 1 Algorithme diagnostique des néoplasies myéloprolifératives



Source : Algorithme diagnostique de l'European Society for Medical Oncology (ESMO), basé sur les critères diagnostics de l'OMS. Tiré et traduit de Vannucchi *et al.*, 2015.

Abréviations : EPO : érythropoïétine sérique; MFP : myélofibrose primaire; MO : moelle osseuse; N : valeur normale d'EPO; OMS : Organisation mondiale de la santé; PV : polycythémie vraie; TE : thrombocytémie essentielle; ↑ : valeur EPO au-dessus de la valeur normale; ↓ : valeur EPO en-dessous de la valeur normale.

## RÉFÉRENCES

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-405.
- Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, Bench AJ, Erber WN, Bareford D, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: Analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008;112(1):141-9.
- Ding J, Komatsu H, Wakita A, Kato-Uranishi M, Ito M, Satoh A, et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood* 2004;103(11):4198-200.
- Furtado LV, Weigelin HC, Elenitoba-Johnson KS, Betz BL. Detection of MPL mutations by a novel allele-specific PCR-based strategy. *J Mol Diagn* 2013;15(6):810-8.
- Gong JZ, Cook JR, Greiner TC, Hedvat C, Hill CE, Lim MS, et al. Laboratory practice guidelines for detecting and reporting JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: A report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn* 2013;15(6):733-44.
- Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013;369(25):2379-90.
- Liu K, Martini M, Rocca B, Amos CI, Teofili L, Giona F, et al. Evidence for a founder effect of the MPL-S505N mutation in eight Italian pedigrees with hereditary thrombocythemia. *Haematologica* 2009;94(10):1368-74.
- Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: A study of 1182 patients. *Blood* 2006;108(10):3472-6.
- Pecquet C, Staerk J, Chaligne R, Goss V, Lee KA, Zhang X, et al. Induction of myeloproliferative disorder and myelofibrosis by thrombopoietin receptor W515 mutants is mediated by cytosolic tyrosine 112 of the receptor. *Blood* 2010;115(5):1037-48.
- Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006;3(7):e270.
- Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, Pacilli A, Pancrazzi A, Pieri L, et al. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood* 2014;123(10):1552-5.
- Staerk J, Lacout C, Sato T, Smith SO, Vainchenker W, Constantinescu SN. An amphipathic motif at the transmembrane-cytoplasmic junction prevents autonomous activation of the thrombopoietin receptor. *Blood* 2006;107(5):1864-71.
- Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2014;89(9):915-25.
- Tefferi A et Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2015;90(2):162-73.

- Tefferi A et Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22(1):14-22.
- Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood* 2014a;124(16):2507-13.
- Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling R, Hanson CH, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: Clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia* 2014b;28(7):1472-7.
- Tefferi A, Wassie EA, Lasho TL, Finke C, Belachew AA, Ketterling RP, et al. Calreticulin mutations and long-term survival in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2014c;28(12):2300-3.
- Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, Harrison C, Kiladjian JJ, Kroger N, et al. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015;26(Suppl 5):v85-99.

# ANALYSE MUTATIONNELLE DE L'EXON 12 DU GÈNE *JAK2* PAR PCR ALLÈLE-SPÉCIFIQUE MULTIPLEXÉE (RÉFÉRENCE – 2014.02.14A)

Avis d'évaluation abrégé

## 1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 12 septembre 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 10 novembre 2016

### Mise en garde

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

### Conflit d'intérêts

Le D<sup>r</sup> Lambert Busque n'a pas participé aux délibérations et s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

## 2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

### 2.1 Nom de l'analyse

Analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2* par PCR allèle-spécifique multiplexée.

### 2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

La présente analyse consiste en une amplification en chaîne par polymérase (PCR) allèle-spécifique multiplexée qui détecte les mutations de l'exon 12 du gène *JAK2* chez des patients soupçonnés de polycythémie vraie (maladie de Vaquez)<sup>5</sup>. Chez la plupart de ces patients, une mutation ponctuelle (*JAK* V617F) sur le gène *JAK2* entraîne son activation de façon constitutive, indépendamment de la présence d'érythropoïétine (EPO), ce qui se traduit par une érythrocytose [Baxter *et al.*, 2005]. L'analyse étudiée ici est effectuée en deuxième intention, c'est-à-dire lorsque la recherche de la mutation *JAK2* V617F s'est avérée négative.

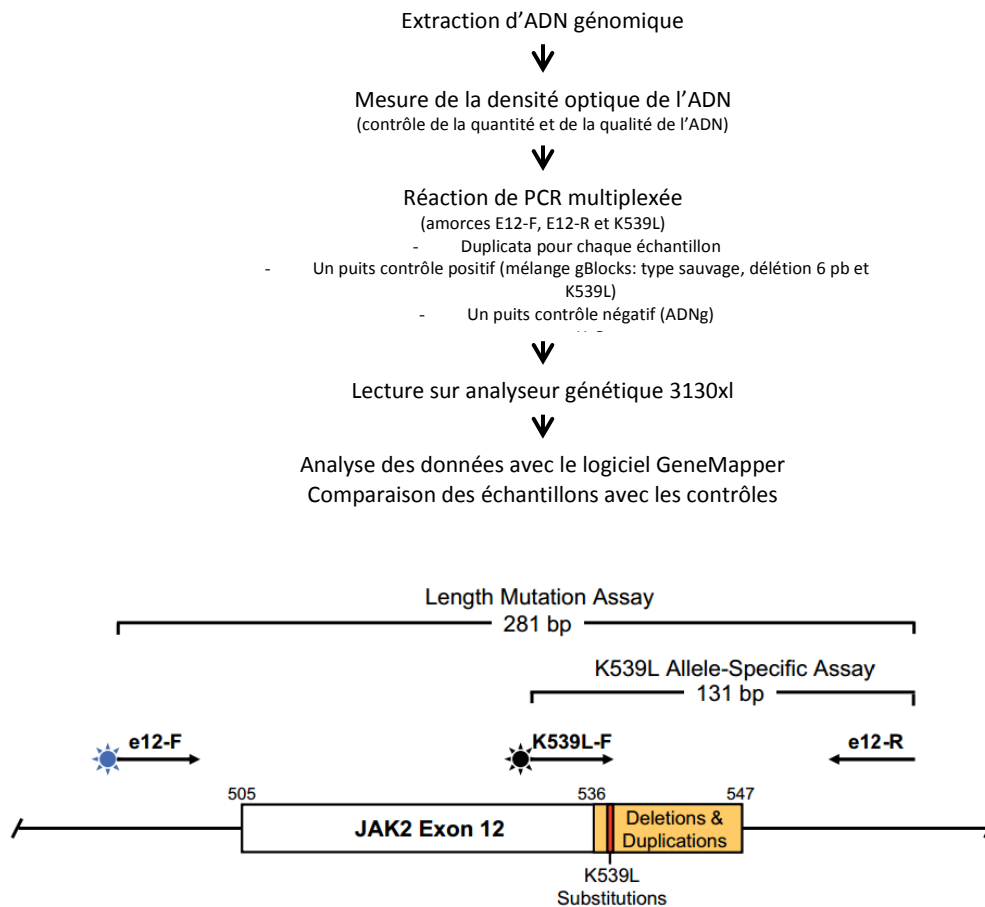
Les mutations visées sont regroupées à l'intérieur des codons 536 à 547. La plupart des mutations sont des délétions qui conservent le cadre de lecture, telles que des délétions de 3 à 12 paires de bases (pb), celles de 6 pb étant les plus communes. D'autres mutations moins communes consistent en des duplications de 10 à 11 acides aminés affectant le codon F547 et finalement la substitution de l'acide aminé K539L. Les fragments générés sont détectés par une électrophorèse capillaire sur un analyseur génétique ABI 3130XL

<sup>5</sup> La polycythémie vraie est un syndrome myéloprolifératif caractérisé principalement par une hyperplasie érythroïde, mais également par une leucocytose myéloïde, une thrombocytose et une splénomégalie (OMIM 263300).

(Applied Biosystems). L'analyse des électrophérogrammes est réalisée grâce au logiciel GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems). Les étapes clés de l'analyse sont présentées à la figure 1.

La technique utilise une paire d'amorces E12-F et E12-R qui amplifient l'exon 12 au complet résultant en un fragment de 283 pb. Cette première amplification permettra de détecter des insertions et des délétions dans l'exon 12. L'amorce K539L-F est spécifique à la substitution K539L. Si la mutation K539L est présente, la combinaison des amorces K539L-F et E12-R résultera en l'amplification d'un fragment de 133 pb.

**Figure 1 : Principe de l'analyse de l'exon 12 du gène JAK2 par PCR allèle-spécifique multiplexée**



L'amplification avec les amorces E12-F et E12-R génère un fragment théorique de 283 pb qui migre en réalité à 284 pb. S'il y a une délétion ou une insertion dans l'exon 12, la taille de ce fragment sera différente. La paire d'amorces K539L-F (amorce spécifique à la substitution K539L) et E12-R résulte en un fragment théorique de 133 pb qui en pratique migre aussi à 133 pb. Figure tirée de Furtado *et al.*, 2013.

### **2.3 Modalités d'administration du test**

L'analyse est effectuée sur un prélèvement de moelle osseuse *JAK2 V617F* négative. Le prélèvement sera effectué et expédié à la réception générale des spécimens au département de biochimie de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont. Le spécimen sera ensuite acheminé vers le laboratoire de biologie moléculaire où le matériel génétique sera extrait et l'analyse effectuée. Le temps de réponse est estimé à 20 jours ouvrables et la périodicité de l'analyse dépendra des besoins cliniques.

### **2.4 Société ou concepteur**

Le protocole fourni par le demandeur est notamment adapté de la technique publiée par Furtado et ses collaborateurs. Cette méthode est brièvement détaillée à la section 4.4. [Furtado *et al.*, 2013].

### **2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)**

Sans objet

### **2.6 Valeur pondérée : 43,63**

## **3 CONTEXTE**

### **3.1 Patients ciblés**

L'analyse vise les patients soupçonnés de polycythémie vraie et pour lesquels la recherche de la mutation *JAK2 V617F* s'est avérée négative.

### **3.2 Nombre prévu d'analyses et de personnes visées**

Le demandeur prévoit 40, 45 et 50 tests annuellement pour chacune des trois années suivant l'introduction de l'analyse au *Répertoire*.

### **3.3 Brève description de la situation actuelle**

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), la classification des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph- (chromosome de Philadelphie) inclut la polycythémie vraie, la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primaire [Tefferi et Vardiman, 2008].

Le diagnostic différentiel actuel de la polycythémie vraie est principalement basé sur les paramètres détaillés à l'annexe A.

### **3.4 Données médico-administratives**

La présente analyse est complémentaire à l'analyse 65155 (anciennement 20967) qui correspond à la recherche d'une mutation dans l'exon 14 de *JAK2*, soit : *JAK2 V617F*. Cette mutation est fréquemment retrouvée dans les cas de polycythémie vraie, de thrombocytémie essentielle et de myélofibrose. Aucune analyse mutationnelle de l'exon 12 de *JAK2* n'a été envoyée hors Québec selon les données ministérielles de 2012-13 et 2013-14.

**Tableau 1 Analyses mutationnelles du gène *JAK2* : recherche de mutation V617F réalisée au Québec en 2014-15**

| ANALYSE AU RÉPERTOIRE                              | CODE             | VP  | CENTRE             | VOLUME ANNUEL | IMPACT FINANCIER  |
|----------------------------------------------------|------------------|-----|--------------------|---------------|-------------------|
| Polycythémie Vraie<br>(Mutation <i>JAK2</i> V617F) | 65155<br>(20967) | 140 | CSSS de Chicoutimi | 145           | 20 300 \$         |
|                                                    |                  |     | CHU de Québec      | 836           | 117 040 \$        |
|                                                    |                  |     | CHUS               | 322           | 45 080 \$         |
|                                                    |                  |     | CHUM               | 842           | 117 880 \$        |
|                                                    |                  |     | CUSM               | 224           | 31 360 \$         |
|                                                    |                  |     | HGJ                | 1092          | 152 880 \$        |
|                                                    |                  |     | HMR                | 619           | 86 660 \$         |
|                                                    |                  |     | <b>Total</b>       | <b>4 080</b>  | <b>571 200 \$</b> |

Abréviations : CHU : Centre hospitalier universitaire ; CHUM : Centre hospitalier de l'Université de Montréal ; CHUS : Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke ; CSSS : Centre de santé et de services sociaux ; CUSM : Centre universitaire de santé McGill ; HGJ : Hôpital général juif ; HMR : Hôpital Maisonneuve-Rosemont; VP : valeur pondérée.

### 3.5 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse aura l'avantage de confirmer le diagnostic de polycythémie vraie chez les patients *JAK2* V617F négatifs.

### 3.6 Assurance qualité

Deux aspects sont essentiels à la réussite de la technique d'analyse : la qualité (ratio de la densité optique 260 nm/280 nm entre 1,7 et 2,3) et la quantité d'ADN (5 ng/μl) qui sont évaluées par spectrophotométrie. Par ailleurs, au cours de l'expérience, des contrôles positifs mutés et non mutés (gBlocks qui couvrent entièrement la région amplifiée) et des contrôles d'amplification sont utilisés.

Selon le demandeur, il n'existe pas de contrôle de qualité externe offert commercialement pour cette analyse. Un laboratoire du Princess Margaret Cancer Centre du Toronto University Health Network a accepté d'échanger des échantillons à l'aveugle une à deux fois par année avec le laboratoire demandeur.

## 4 DONNÉES PROBANTES

### 4.1 Valeur diagnostique

En 2005, plusieurs groupes de recherche ont rapporté une mutation ponctuelle acquise au niveau du gène *JAK2* chez la majorité des patients atteints de syndromes myéloprolifératifs Ph-, soit la V617F [Baxter *et al.*, 2005; James *et al.*, 2005; Kralovics *et al.*, 2005; Levine *et al.*, 2005]. Cette mutation, localisée au nucléotide 1 849 (G à T) de l'exon 14, entraîne un gain de fonction de la protéine *JAK2*.

Des études ont démontré la présence de la mutation *JAK2* V617F dans 95 % des cas de polycythémie vraie [James *et al.*, 2006; Tefferi *et al.*, 2006] et dans 50 % à 60 % des cas de thrombocytémie essentielle [Kittur *et al.*, 2007; Antonioli *et al.*, 2005; Campbell *et al.*, 2005; Wolanskyj *et al.*, 2005] ou de myélofibrose idiopathique [Tefferi *et al.*, 2014; Tefferi *et al.*, 2005].

Parmi les patients atteints de polycythémie vraie *JAK2* V617F négatifs, Scott et ses collaborateurs ont identifié des mutations dans l'exon 12 de *JAK2* [Scott *et al.*, 2007b]. Cette

étude a donc été retenue comme étude pivot afin d'apprécier la valeur diagnostique de l'analyse mutationnelle de l'exon 12 de *JAK2*.

L'étude de Scott et ses collaborateurs [2007b] est un essai prospectif dont l'objectif était d'identifier de nouvelles mutations chez des patients atteints de polycythémie vraie ou d'érythrocytose idiopathique, dont le statut mutationnel *JAK2* V617F était négatif, afin d'élucider les bases moléculaires de ces désordres myéloprolifératifs. La recherche de mutation a été effectuée par PCR allèle -spécifique à partir des granulocytes et du sang périphérique total sur les gènes *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *TYK2*, *STAT5A* et *STAT5B*.

- Parmi une cohorte de 73 patients atteints de polycythémie vraie [Baxter *et al.*, 2005], 2 patients (3 %) n'avaient pas la mutation *JAK2* V617F, mais présentaient des altérations somatiques acquises dans l'exon 12 de *JAK2*. Le premier patient présentait une délétion de 6 pb en phase avec le cadre de lecture résultant en une mutation F537-K539delinsL, alors que le second avait une substitution CAA → ATT résultant en une mutation H538Q-K539L.
- Des mutations dans l'exon 12 de *JAK2* ont aussi été identifiées chez 8 des 9 patients supplémentaires qui avaient reçu un diagnostic de polycythémie vraie *JAK2* V617F négatif. Les mutations étaient souvent présentes à de faibles niveaux dans l'ADN de granulocytes mais étaient facilement identifiables dans les colonies d'érythrocytes indépendantes de l'érythropoïétine.
- Au total, quatre allèles (F537-K539delinsL, H538Q-K539L, K539L et N542-E543del) de l'exon 12 ont été identifiés. Ils avaient tous des changements affectant les résidus situés entre la lysine 537 (K537) et l'acide glutamique 543 (E543). Trois de ces allèles contenaient une substitution K539L.
- Aucune mutation dans l'exon 12 de *JAK2* n'a été identifiée suite au séquençage de l'ADN des granulocytes chez 55 patients atteints de polycythémie vraie *JAK2* V617F positifs, ni chez 25 patients atteints de thrombocytémie essentielle, ni chez 12 patients atteints de myélofibrose idiopathique *JAK2* V617F négatifs.
- L'ADN de 90 patients supplémentaires atteints de thrombocytémie essentielle a été scruté pour chacune des mutations de l'exon 12 de *JAK2*, mais aucune mutation n'a pu être identifiée.

Il en ressort que, contrairement à la mutation *JAK2* V617F qui se trouve dans plusieurs syndromes myéloprolifératifs, les mutations présentes dans l'exon 12 de *JAK2* sont limitées aux cas de polycythémie vraie [Scott *et al.*, 2007b].

Les mutations identifiées par Scott et ses collaborateurs [2007b] ont été confirmées par plusieurs groupes de recherche qui en ont aussi identifié davantage [Albiero *et al.*, 2008; Butcher *et al.*, 2008; Kouroupi *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Pietra *et al.*, 2008; Colaizzo *et al.*, 2007; Martinez-Aviles *et al.*, 2007; Pardanani *et al.*, 2007; Percy *et al.*, 2007; Williams *et al.*, 2007]. Les mutations identifiées affectent une région adjacente au début du domaine pseudo-kinase comprenant les résidus 536 à 547. En 2011, Scott et ses collaborateurs ont recensé plusieurs études rapportant un total de 37 mutations situées dans l'exon 12 dont 11 substitutions, 20 délétions et 6 duplications. Les plus fréquentes sont : N542-E543del, E543-D544del, F537-K539delinsL K539L, ainsi que R541-E543delinsK [Scott, 2011].

Le tableau 2, présenté ci-dessous, détaille la fréquence mutationnelle de *JAK2* V617F et des mutations présentes dans l'exon 12 de *JAK2*. Celles-ci ont été identifiées par plusieurs auteurs chez différentes cohortes de patients atteints de polycythémie vraie.

**Tableau 2 Fréquence mutationnelle de *JAK2* V617F et des mutations présentes dans l'exon 12 de *JAK2* chez différentes cohortes de patients atteints de polycythémie vraie**

| ÉTUDE                              | NOMBRE DE PATIENTS | FRÉQUENCE MUTATIONNELLE N(%) |                        |                   |
|------------------------------------|--------------------|------------------------------|------------------------|-------------------|
|                                    |                    | JAK2 V617F POSITIF           | MUTATIONS EXON 12 JAK2 | JAK2 TYPE SAUVAGE |
| <b>ADULTES</b>                     |                    |                              |                        |                   |
| Scott <i>et al.</i> , 2007a        | 114                | 110 (96)                     | 4 (4)                  | 0 (0)             |
| Butcher <i>et al.</i> , 2008       | 62                 | 59 (95)                      | 3 (5)                  | 0 (0)             |
| Wang <i>et al.</i> , 2008          | 105                | 104 (99)                     | 1 (1)                  | 0 (0)             |
| Yeh <i>et al.</i> , 2010           | 22                 | 17 (77)                      | 5 (23)                 | 0 (0)             |
| Pardanani <i>et al.</i> , 2007     | 220                | 214 (97)                     | 5 (2)                  | 1 (1)             |
| Rothlisberger <i>et al.</i> , 2008 | 39                 | 24 (87)                      | 1 (3)                  | 4 (10)            |
| Siemiakowska <i>et al.</i> , 2010  | 46                 | 41 (89)                      | 2 (4)                  | 3 (7)             |
| Zhang <i>et al.</i> , 2010         | 89                 | 73 (82)                      | 3 (3)                  | 13 (15)           |
| Williams <i>et al.</i> , 2007      | 157                | 147 (93)                     | 3 (3)                  | 7 (5)             |
| Burjanivova <i>et al.</i> , 2009   | 64                 | 60 (94)                      | 2 (3)                  | 2 (3)             |
| Passamonti <i>et al.</i> , 2011    | 338                | 320 (95)                     | 14 (4)                 | 4 (1)             |
| <b>TOTAL</b>                       | <b>1 256</b>       | <b>1 179 (94)</b>            | <b>43 (3)</b>          | <b>34 (3)</b>     |
| <b>ENFANTS</b>                     |                    |                              |                        |                   |
| Cario <i>et al.</i> , 2008         | 8                  | 6 (75)                       | 2 (25)                 | 0 (0)             |

Tiré de Scott, 2011.

## 4.2 Valeur pronostique

L'étude de cohorte multicentrique de Passamonti [2011] avait pour objectif de définir les caractéristiques cliniques de 106 patients atteints de polycythémie vraie *JAK2* V617 et porteurs de mutations dans l'exon 12. Ils ont été comparés à un groupe contrôle constitué de 320 patients consécutifs atteints de polycythémie vraie *JAK2* V617F. Les patients avaient été diagnostiqués selon les critères de l'OMS 2008 et les mutations dans l'exon 12 ont été identifiées par différentes méthodes dont la PCR allèle-spécifique multiplexée. Il en ressort que l'incidence de thrombose, d'hémorragie, de myélofibrose post-polycythémie vraie, de leucémie myéloïde aigue et de décès n'est pas significativement différente entre les deux groupes de patients.

Ainsi, selon Passamonti [2011], l'évolution clinique des patients atteints de polycythémie vraie *JAK2* V617 avec mutations de l'exon 12 est très similaire à celle des patients *JAK2* V617F. Ce constat est aussi appuyé par un autre auteur [Tefferi *et al.*, 2013].

## 4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue puisque la présente analyse n'a pas pour objectif d'orienter ou de modifier les choix de traitement.

#### 4.4 Validité analytique

L'étude de Furtado et ses collaborateurs [2013] avait pour objectif de développer une PCR allèle-spécifique multiplexée basée sur l'analyse de la taille des fragments afin de détecter la plupart des insertions et des délétions ainsi que la substitution K539L potentiellement présentes dans l'exon 12 de *JAK2*. Les résultats obtenus avec cette méthode ont été comparés avec ceux obtenus par séquençage Sanger et l'analyse des courbes de fusion à haute résolution (high resolution melting - HRM).

Une validation inter-laboratoire a d'abord été réalisée à partir de 20 échantillons dont 10 étaient de type sauvage et 10 étaient mutés. Toutes les mutations ont été détectées. La corrélation avec les résultats de référence était de 20/20 (100 %). Les 10 échantillons mutés ont aussi été identifiés par séquençage de type Sanger et par HRM.

La spécificité analytique de l'essai a été évaluée avec 50 échantillons de sang périphérique provenant d'individus sains et 9 échantillons de moelle osseuse provenant de patients atteints de polycythémie vraie *JAK2* V617F positifs. Aucune mutation dans l'exon 12 de *JAK2* n'a été identifiée dans ces 59 échantillons.

La reproductibilité analytique a été évaluée en effectuant 14 analyses utilisant comme contrôles positifs deux mutations, dont une substitution et une délétion, de faible concentration, soit 5 % d'allèles mutés, ainsi qu'un contrôle négatif. Toutes les mutations ont été identifiées à chacune des analyses.

Au total, 1 731 échantillons consécutifs référés au laboratoire des auteurs ont été évalués, dont 99,4 % (1 720/1 731) ont donné des résultats interprétables dès la première analyse. La majorité des cas restant a pu être identifiée lors d'une analyse subséquente. Parmi les 1 731 échantillons, 17 (0,98 %) étaient positifs pour une mutation dans l'exon 12 de *JAK2* (14 délétions et 3 duplications). Ces 17 échantillons ont également été analysés par séquençage de type Sanger et par HRM. Les résultats obtenus par analyse de la taille des fragments concordaient bien avec ces deux méthodes. Toutefois, 2 échantillons positifs ayant des concentrations d'allèles mutés en deçà de 6 % et 7 % respectivement n'ont pas été détectés par la méthode de Sanger et étaient difficilement identifiables par HRM.

La sensibilité analytique a été déterminée à l'aide d'expériences de dilution en série d'ADN muté et d'ADN non muté. La limite inférieure de détection d'une mutation dans l'exon 12 de *JAK2* était approximativement de 0,5 %. Une détection était jugée robuste à 2 %. La sensibilité de cette technique a donc été établie de façon conservatrice à 5 % comparativement à 10 % pour le séquençage de type Sanger et l'analyse des courbes de fusion à haute résolution.

Les auteurs ont conclu que la PCR allèle-spécifique basée sur l'analyse de la taille des fragments représente une stratégie pratique pour l'identification des mutations dans l'exon 12 de *JAK2* et que celle-ci peut être déployée dans les laboratoires cliniques. Cette technique est simple, efficace et sensible et elle permet de détecter la majorité (>97 %) des mutations dans l'exon 12 de *JAK2* associées à la polycythémie vraie. Le séquençage de type Sanger et l'analyse des courbes de fusion à haute résolution sont des techniques dont la sensibilité est insuffisante pour détecter des mutations dont le niveau de positivité est inférieur à 10 % [Furtado *et al.*, 2013].

## 4.5 Données fournies par le demandeur

### Étude de validation

Le demandeur a réalisé une étude de validation à partir de 59 échantillons différents prélevés de 2013 à 2015. Tous avaient été préalablement séquencés par Sanger. L'extraction d'ADN a été faite à l'aide d'une technique automatisée.

Les résultats de l'étude de validation sont présentés au tableau 3. Parmi les 59 échantillons analysés, tous répondaient aux exigences en termes de qualité et de quantité d'ADN et tous ont été analysés avec succès par la nouvelle technique. Parmi les échantillons analysés, 56 patients n'avaient aucune mutation détectable par Sanger. Ceux-ci ont aussi été testés négatifs par la PCR allèle-spécifique multiplexée sauf un échantillon qui a révélé une substitution K539L. Enfin, 3 échantillons pour lesquels des mutations avaient été détectées par Sanger ont aussi été identifiés par la nouvelle technique.

**Tableau 3 : Résultats de l'étude de validation**

| ÉCHANTILLONS<br>(PATIENTS) | MUTATIONS DÉTECTÉES |                                   |
|----------------------------|---------------------|-----------------------------------|
|                            | SANGER              | PCR ALLÈLE-SPÉCIFIQUE MULTIPLEXÉE |
| 1 à 55                     | NON                 | NON                               |
| 56                         | H538-K539delinsL    | Délétion de 3 pb                  |
| 57                         | H538-K539delinsL    | Délétion de 3 pb                  |
| 58                         | E543-D544del        | Délétion de 6 pb                  |
| 59                         | NON                 | Substitution K539L                |

### Précision et efficacité

Parmi les 59 échantillons testés, les résultats de l'échantillon #59 ne concordaient pas avec les résultats obtenus par Sanger. Selon les calculs effectués à partir des électrophorégrammes de l'analyse de la taille des fragments, cette substitution est présente à un ratio de 15 %. En procédant à une deuxième analyse de l'électrophorégramme de la séquence, la mutation a pu être identifiée bien qu'elle était faible. Cette substitution avait été jugée comme étant du bruit de fond lors du séquençage et avait donc été rejetée.

### Reproductibilité

Afin d'établir la reproductibilité, 6 échantillons ont été testés de nouveau en duplicata. Parmi ceux-ci, on retrouve : 3 échantillons ne portant aucune mutation, l'échantillon 56 ayant la mutation H538-K539delinsL, l'échantillon 58 avec la délétion E543-D544del et l'échantillon 59 avec la substitution K539L. Les résultats obtenus lors du second essai concordaient à 100 % avec ceux du premier essai.

## 5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2*. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 4 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Selon le demandeur, 40, 45 et 50 analyses sont prévues pour le Québec au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*;
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec;
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 43,63.

**Tableau 4 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2***

|                                    | AN 1     | AN 2     | AN 3     | TOTAL    |
|------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Nombre d'analyses anticipées       | 40       | 45       | 50       | 135      |
| Coûts si introduction de l'analyse | 1 745 \$ | 1 963 \$ | 2 182 \$ | 5 890 \$ |

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2* au *Répertoire* sont estimés à un total de 5 890 \$ pour les trois premières années.

## 6 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Le diagnostic actuel de la polycythémie vraie est basé sur les critères diagnostiques de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) qui sont présentés à l'annexe A. En effet, l'OMS a publié, en 2008, une classification ainsi que des critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives. Les critères diagnostiques de la polycythémie vraie incluent notamment, comme critère majeur, la présence de la mutation *JAK2* V617F ou de mutations dans l'exon 12 du gène *JAK2* (annexe A) [Tefferi et Vardiman, 2008]. Ces critères diagnostiques ont été récemment révisés par l'OMS. La présence de mutations dans le gène *JAK2* est toujours considérée comme un critère diagnostique majeur [Arber *et al.*, 2016].

L'ESMO a publié des lignes directrices de pratiques cliniques pour le diagnostic, le traitement et le suivi des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph-. Celles-ci sont présentées à l'annexe B. L'algorithme diagnostique de la polycythémie vraie, basé sur la classification publiée par l'OMS en 2008, comprend la présence d'une mutation *JAK2* V617F ou une mutation dans l'exon 12 du gène *JAK2* (annexe B) [Vannucchi *et al.*, 2015].

Un panel d'experts de l'Association for Molecular Pathology (AMP) a publié des lignes directrices sur les analyses du statut mutationnel des gènes *JAK2* et *MPL* pour le diagnostic des néoplasies myéloprolifératives. Ces lignes directrices, basées sur la documentation scientifique et la pratique clinique aux États-Unis et au Canada, se veulent une référence pour les professionnels de laboratoires cliniques dans la sélection de la méthodologie, la validation de la procédure, et l'interprétation des résultats. Les auteurs y mentionnent entre autres que la PCR allèle-spécifique multiplexée est une méthode hautement sensible et simple d'utilisation pour la détection des mutations dans *JAK2* [Gong *et al.*, 2013].

## 7 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

L'analyse proposée cible les patients chez qui une polycythémie vraie est soupçonnée et pour lesquels la recherche de la mutation V617F du gène *JAK2* s'est avérée négative. Il s'agit d'une analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2* par PCR allèle-spécifique multiplexée.

Contrairement à la mutation *JAK2* V617F qui se trouve dans plusieurs syndromes myéloprolifératifs, les mutations présentes dans l'exon 12 de *JAK2* sont limitées aux cas de polycythémie vraie. Plusieurs mutations ont été recensées dont les plus fréquentes sont : N542-E543del, E543-D544del, F537-K539delinsL K539L, ainsi que R541-E543delinsK.

Les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2* au *Répertoire* sont estimés à 5 890 \$ pour les trois premières années.

Les critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives ont été révisés par l'OMS en 2016 et ceux-ci incluent la présence de la mutation V617F ou de mutations dans l'exon 12 du gène *JAK2* comme critère majeur de diagnostic de la polycythémie vraie.

## 8 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse mutationnelle de l'exon 12 du gène *JAK2* par PCR allèle-spécifique multiplexée

### La recommandation de l'INESSS

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

### Précisions accompagnant la recommandation

Le comité reconnaît la pertinence médicale de l'analyse proposée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui. Relativement au diagnostic de la polycythémie vraie, l'analyse proposée, utilisée dans un contexte où l'absence de la mutation *JAK2* V617F est démontrée, comble un besoin de santé actuellement non couvert par le *Répertoire*.

Concernant la validité analytique, les données fournies par le demandeur ont été jugées suffisantes.

En l'absence d'un programme d'assurance qualité établi pour cette analyse, le demandeur a mis en place un système d'échange de spécimens avec un laboratoire reconnu pour cette analyse. Toutefois, les membres du comité recommandent que les échanges de spécimens aient lieu deux fois par année plutôt qu'une.

# ANNEXE A

## Critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives selon l’OMS

**Tableau 5 Critères diagnostiques des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph-selon l’OMS (Tiré de Arber 2016)**

| CRITÈRES DE DIAGNOSTIC* | POLYCYTHÉMIE VRAIE                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | THROMBOCYTÉMIE ESSENTIELLE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | MYÉLOFIBROSE PRIMAIRE                                                                                                                                                       |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Majeurs                 | 1. Hémoglobine > 16,5 g/dL (homme)<br>> 16,0 g/dL (femme)<br><b>Ou</b><br>Hématocrite > 49 % (homme)<br>Hématocrite > 48 % (femme)<br><b>Ou</b><br>Augmentation de la masse érythrocytaire†                                                                                                                                 | 1. Décompte plaquettaire $\geq 450 \times 10^9/l$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 1. Présence et prolifération de mégacaryocytes atypiques‡ avec fibrose§ de la réticuline et/ou du collagène (grade 2 ou 3)                                                  |
|                         | 2. Biopsie de la moelle osseuse démontrant une hypercellularité pour l’âge avec myéloprolifération médullaire des trois lignées cellulaires (panmyélose) comprenant une importante prolifération des érythroïdes, des granulocytes et des mégacaryocytes avec pléomorphisme, mégacaryocytes matures (différentes tailles)‡. | 2. Biopsie de la moelle osseuse démontrant une prolifération principalement des lignées de mégacaryocytes accompagnée d’une augmentation du nombre et de la taille des mégacaryocytes matures avec un noyau hyperlobulé. Aucune augmentation ou <i>left-shift</i> de la granulopoïèse neutrophilique ou érythroïèse et, très rarement, une augmentation mineure (grade 1) des fibres réticulines. | 2. Ne rencontre pas les critères de l’OMS pour la TE, PV, LMC <i>BCR-ABL1</i> +, syndromes myélodysplasiques, ou autres néoplasies myéloïdes                                |
|                         | 3. Présence de la mutation <i>JAK2</i> V617F ou de mutations dans l’exon 12 de <i>JAK2</i>                                                                                                                                                                                                                                  | 3. Ne rencontre pas les critères de l’OMS pour LMC <i>BCR-ABL1</i> +, PV, MFP, syndromes myélodysplasiques, ou autres néoplasmes myéloïdes                                                                                                                                                                                                                                                        | 3. Présence d’une mutation <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i> ou en absence de ces mutations, présence d’un autre marqueur clonal§ ou absence de myélofibrose réactive |
|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 4. Présence d’une mutation <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                             |

|         |                                                            |                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mineurs | 1. Érythropoïétine sérique en-dessous des valeurs normales | 1. Présence d'un marqueur clonal ou absence d'évidence de thrombocytose réactive | 1. Présence d'au moins un des éléments suivants, confirmée deux fois de façon consécutive :<br>a. Anémie non attribuée à des comorbidités<br>b. Leucocytose $\geq 11 \times 10^9/L$<br>c. Splénomégalie palpable<br>d. Augmentation de la LDH sérique au-delà de la limite supérieure normale de référence institutionnelle<br>e. Leucoérythoblastose |
|---------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Abréviations : LDH : lactate déshydrogénase; LMC : leucémie myéloïde chronique; MFP : myélofibrose primaire; NM : néoplasie myéloïde; OMS : Organisation mondiale de la santé; PV : polycythémie vraie; SMD : syndrome myélodysplasique; TE : thrombocytémie essentielle.

\* Le diagnostic de PV nécessite soit les 3 critères majeurs ou les deux premiers critères majeurs et le critère mineur. Le diagnostic de TE nécessite les quatre critères majeurs ou les trois premiers critères majeurs et le critère mineur. Le diagnostic de MFP nécessite les trois critères majeurs et au moins un critère mineur.

† Masse érythrocytaire > 25 % de la valeur prédictive moyenne normale.

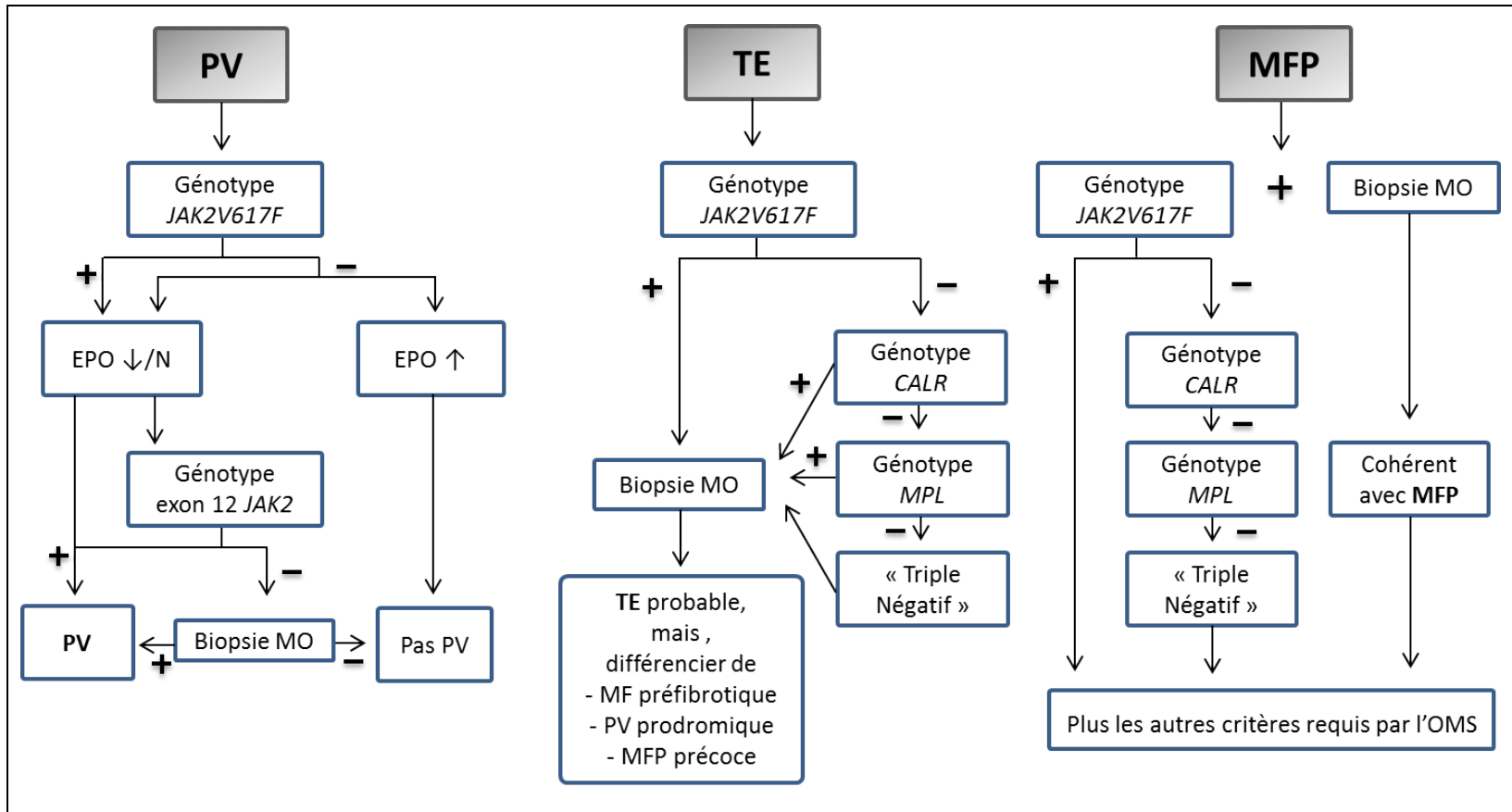
‡ Le 2e critère majeur (biopsie de la moelle osseuse) pourrait ne pas être requis dans les cas avec érythrocytose absolue soutenue : hémoglobine > 18,5 g/dL chez l'homme (hématocrite 55,5 %) ou > 16,5 g/dL chez la femme (hématocrite 49,5 %) si le critère majeur 3 et le critère mineur sont présents. Toutefois, la myélofibrose initiale (touchant jusqu'à 20 % des patients) peut seulement être détectée par une biopsie de la moelle osseuse; cette constatation pourrait prédire une progression plus rapide vers la myélofibrose manifeste (myélofibrose post-polycythémie vraie).

§ En l'absence de l'une des trois mutations clonales majeures, la recherche d'autres mutations fréquentes (ex : *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2*, *SF3b1*) peut aider à déterminer la nature clonale de la maladie.

|| Fibrose de la moelle osseuse secondaire à une infection, à une maladie auto-immune ou autres conditions inflammatoires chroniques, leucémie à tricholeucocytes, ou autres néoplasmes lymphoïdes, métastases malignes ou myélopathies toxiques (chroniques).

## ANNEXE B

Algorithme diagnostique des néoplasies myéloprolifératives selon l'European Society for Medical Oncology (ESMO)



Source : Algorithme diagnostique de l'European Society for Medical Oncology (ESMO), basé sur les critères diagnostiques de l'OMS. Tiré et traduit de Vannucchi *et al.*, 2015.

Abréviations : EPO : érythropoïétine sérique; MFP : myélofibrose primaire; MO : moelle osseuse; N : valeur normale d'EPO; OMS : Organisation mondiale de la santé; PV : polycythémie vraie; TE : thrombocyémie essentielle; ↑ : valeur EPO au-dessus de la valeur normale; ↓ : valeur EPO en-dessous de la valeur normale.

## RÉFÉRENCES

- Albiero E, Madeo D, Ruggeri M, Bernardi M, Giorgetti A, Rodeghiero F. Loss of the JAK2 intramolecular auto-inhibition mechanism is predicted by structural modelling of a novel exon 12 insertion mutation in a case of idiopathic erythrocytosis. *Br J Haematol* 2008;142(6):986-90.
- Antonioni E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bogani C, Verrucci M, Ponziani V, et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005;19(10):1847-9.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-405.
- Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365(9464):1054-61.
- Burjanivova T, Marcinek J, Lasabova Z, Minarik G, Szepe P, Balharek T, et al. A novel JAK2 exon 12 mutation identified in the retrospective analysis of paraffin-embedded tissues of polycythemia vera patients. *Diagn Mol Pathol* 2009;18(2):108-11.
- Butcher CM, Hahn U, To LB, Gecz J, Wilkins EJ, Scott HS, et al. Two novel JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythaemia vera patients. *Leukemia* 2008;22(4):870-3.
- Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: A prospective study. *Lancet* 2005;366(9501):1945-53.
- Cario H, Schwarz K, Herter JM, Komrska V, McMullin MF, Minkov M, et al. Clinical and molecular characterisation of a prospectively collected cohort of children and adolescents with polycythemia vera. *Br J Haematol* 2008;142(4):622-6.
- Colaizzo D, Amitrano L, Tiscia GL, Grandone E, Guardascione MA, Margaglione M. A new JAK2 gene mutation in patients with polycythemia vera and splanchnic vein thrombosis. *Blood* 2007;110(7):2768-9.
- Furtado LV, Weigelin HC, Elenitoba-Johnson KS, Betz BL. A multiplexed fragment analysis-based assay for detection of JAK2 exon 12 mutations. *J Mol Diagn* 2013;15(5):592-9.
- Gong JZ, Cook JR, Greiner TC, Hedvat C, Hill CE, Lim MS, et al. Laboratory practice guidelines for detecting and reporting JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: A report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn* 2013;15(6):733-44.
- James C, Delhommeau F, Marzac C, Teyssandier I, Couedic JP, Giraudier S, et al. Detection of JAK2 V617F as a first intention diagnostic test for erythrocytosis. *Leukemia* 2006;20(2):350-3.
- James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434(7037):1144-8.

- Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Wolanskyj AP, et al. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007;109(11):2279-84.
- Kouroupi E, Zoi K, Parquet N, Zoi C, Kiladjian JJ, Grigoraki V, et al. Mutations in exon 12 of JAK2 are mainly found in JAK2 V617F-negative polycythaemia vera patients. *Br J Haematol* 2008;142(4):676-9.
- Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352(17):1779-90.
- Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7(4):387-97.
- Li S, Kralovics R, De Libero G, Theocharides A, Gisslinger H, Skoda RC. Clonal heterogeneity in polycythemia vera patients with JAK2 exon12 and JAK2-V617F mutations. *Blood* 2008;111(7):3863-6.
- Martinez-Aviles L, Besses C, Alvarez-Larran A, Cervantes F, Hernandez-Boluda JC, Bellosillo B. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera or idiopathic erythrocytosis. *Haematologica* 2007;92(12):1717-8.
- Pardanani A, Lasho TL, Finke C, Hanson CA, Tefferi A. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia* 2007;21(9):1960-3.
- Passamonti F, Elena C, Schnittger S, Skoda RC, Green AR, Girodon F, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 2011;117(10):2813-6.
- Percy MJ, Scott LM, Erber WN, Harrison CN, Reilly JT, Jones FG, et al. The frequency of JAK2 exon 12 mutations in idiopathic erythrocytosis patients with low serum erythropoietin levels. *Haematologica* 2007;92(12):1607-14.
- Pietra D, Li S, Brisci A, Passamonti F, Rumi E, Theocharides A, et al. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood* 2008;111(3):1686-9.
- Rothlisberger B, Huber A, Bargetzi M, Mendez A, Heizmann M. JAK2 exon 12 mutation in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leuk Lymphoma* 2008;49(3):586-8.
- Scott LM. The JAK2 exon 12 mutations: A comprehensive review. *Am J Hematol* 2011;86(8):668-76.
- Scott LM, Beer PA, Bench AJ, Erber WN, Green AR. Prevalence of JAK2 V617F and exon 12 mutations in polycythaemia vera. *Br J Haematol* 2007a;139(3):511-2.
- Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007b;356(5):459-68.
- Siemiatkowska A, Bieniaszewska M, Hellmann A, Limon J. JAK2 and MPL gene mutations in V617F-negative myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res* 2010;34(3):387-9.
- Tefferi A et Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22(1):14-22.

- Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood* 2014;124(16):2507-13; quiz 615.
- Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: An international study. *Leukemia* 2013;27(9):1874-81.
- Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, Strand JS, Elliott M, Mesa R, et al. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* 2006;106(3):631-5.
- Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, Steensma DP, Mesa RA, Li CY, et al. The JAK2(V617F) tyrosine kinase mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: Lineage specificity and clinical correlates. *Br J Haematol* 2005;131(3):320-8.
- Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, Harrison C, Kiladjian JJ, Kroger N, et al. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015;26(Suppl 5):v85-99.
- Wang YL, Vandris K, Jones A, Cross NC, Christos P, Adriano F, Silver RT. JAK2 mutations are present in all cases of polycythemia vera. *Leukemia* 2008;22(6):1289.
- Williams DM, Kim AH, Rogers O, Spivak JL, Moliterno AR. Phenotypic variations and new mutations in JAK2 V617F-negative polycythemia vera, erythrocytosis, and idiopathic myelofibrosis. *Exp Hematol* 2007;35(11):1641-6.
- Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, et al. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: Clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005;131(2):208-13.
- Yeh YM, Chen YL, Cheng HY, Su WC, Chow NH, Chen TY, Ho CL. High percentage of JAK2 exon 12 mutation in Asian patients with polycythemia vera. *Am J Clin Pathol* 2010;134(2):266-70.
- Zhang SJ, Qiu HX, Li JY, Shi JY, Xu W. The analysis of JAK2 and MPL mutations and JAK2 single nucleotide polymorphisms in MPN patients by MassARRAY assay. *Int J Lab Hematol* 2010;32(4):381-6.

# ANTIGÈNE DE SURFACE DE L'HÉPATITE B - ANALYSE QUANTITATIVE (RÉFÉRENCE – 2016.01.001)

Avis d'évaluation abrégé

## 1 INFORMATION GÉNÉRALE

**1.1 Demandeur :** CHUM - Hôpital St-Luc

**1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 12 septembre 2016

**1.3 Date de publication de l'avis :** 10 novembre 2016

### Mise en garde

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

### Conflit d'intérêts

Le D<sup>r</sup> Louis Gaboury n'a pas participé aux délibérations et s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

### Lecture externe

La lecture externe est un mécanisme utilisé par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes valident l'exactitude du contenu en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, les experts consultés sont : D<sup>r</sup> Philip Wong, interniste et gastroentérologue à l'Hôpital Royal Victoria du CUSM ; D<sup>re</sup> Ève-Lyne Comeau, gastroentérologue à l'Hôpital de l'Enfant-Jésus du CHU de Québec ; D<sup>re</sup> Stéphanie Ferland, gastroentérologue au Centre Hospitalier de l'Université Laval du CHU de Québec.

## 2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

### 2.1 Nom de l'analyse

Dosage quantitatif de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg)

### 2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

La trousse Architect<sup>MC</sup> HBsAg d'Abbott Laboratories permet d'effectuer un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) pour mesurer quantitativement la concentration d'HBsAg dans le sérum ou le plasma humain. L'analyse est réalisée en deux étapes. Une aliquote de l'échantillon à tester est incubée en présence de microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps dirigés contre l'antigène de surface de l'hépatite B (anti-HBs). L'HBsAg présent dans les échantillons se lie aux microparticules recouvertes d'anti-HBs. Après un lavage, un conjugué d'anti-HBs marqué à l'acridine est ajouté. Par un deuxième lavage, des solutions activatrices sont ajoutées au mélange. La réaction de chimiluminescence qui en résulte est mesurée en unités relatives

de lumière. Une relation directe existe entre la quantité d'HBsAg dans l'échantillon et l'intensité lumineuse détectée.

La quantité d'HBsAg contenue dans l'échantillon est extrapolée à partir d'une courbe de calibration préalablement déterminée. Les échantillons dont la concentration est supérieure à 0,05 unités internationales par millilitre (UI/ml) sont considérés positifs [Abbott, 2015].

### **2.3 Modalités d'administration du test**

Le sérum est prélevé au centre de prélèvements et envoyé au laboratoire regroupé de l'Hôpital St-Luc du CHUM. L'analyse sera réalisée deux fois par mois.

### **2.4 Société ou concepteur**

Abbott Ireland, Diagnostics division

### **2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)**

Santé Canada : 73506, émis le 8 mars 2007.

FDA américaine : non approuvé.

Europe : Dispositif médical de diagnostic in vitro (CE 0843)

### **2.6 Valeur pondérée : 14,57**

## **3 CONTEXTE**

### **3.1 Patients ciblés**

Patients atteints d'hépatite B chronique :

- sous traitement au peginterféron ou aux analogues nucléos(t)idiques (AN);
- non traités, avec une charge virale basse.

### **3.2 Nombre prévu d'analyses et de personnes visées**

Considérant uniquement la population desservie par le CHUM, le demandeur estime la volumétrie à 500 analyses par année, soit une par patient :

- 125 patients par an en surveillance dont l'HBsAg est positif (HBsAg<sup>+</sup>) et l'antigène de l'enveloppe (HBeAg) est négatif (HBeAg<sup>-</sup>);
- 375 patients HBsAg<sup>+</sup> HBeAg<sup>-</sup> qui sont traités aux analogues nucléos(t)idiques;
- Entre 1 et 4 patients traités au peginterféron par an.

### **3.3 Données médico-administratives**

L'analyse de détection qualitative de l'HBsAg est inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, mais le dosage quantitatif de l'HBsAg ne l'est pas. Selon les bases de données du MSSS, l'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec en 2012-2013 et en 2013-2014. Les principales analyses utilisées lors du suivi de patients atteints d'hépatite B chronique et inscrites au *Répertoire* sont mentionnées au tableau 1.

**Tableau 1. Principales analyses reliées au suivi de l'hépatite B chronique inscrites au Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale pour l'année 2014-2015**

| ANALYSES                                             | CODE   | VALEUR PONDÉRÉE (UNITÉS) | VOLUME  | VALEUR ANNUELLE |
|------------------------------------------------------|--------|--------------------------|---------|-----------------|
| HBsAg (qualitatif)                                   | 20 676 | 6                        | 370 488 | 2 222 928 \$    |
| Charge virale de l'hépatite B par TAAN (quantitatif) | 45 056 | 79                       | 13 140  | 1 038 060 \$    |
| HBeAg                                                | 20 677 | 21                       | 9 004   | 79 235 \$       |

### 3.4 Brève description de la situation actuelle

Les patients souffrant d'hépatite B chronique sont actuellement traités avec des analogues nucléos(t)idiques ou du peginterféron.

La prescription d'un traitement au peginterféron est pour une durée de 48 semaines et les patients sont suivis une fois par mois. Les patients HBeAg<sup>-</sup> traités aux analogues nucléos(t)idiques sont suivis quatre fois par année. Ceux-ci sont traités indéfiniment ou jusqu'à ce que l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB) et l'HBsAg soient indétectables [Coffin *et al.*, 2012].

Les patients HbeAg<sup>-</sup> non traités sont suivis quatre fois par année afin d'évaluer le niveau d'activité du VHB. La décision de débiter un traitement dépend principalement de la concentration d'ADN du VHB et du niveau d'alanine aminotransférase (ALT) sérique [Coffin *et al.*, 2012].

Pour les patients en suivi qui ne sont pas traités et pour ceux en traitement avec les analogues nucléos(t)idiques (HBsAg<sup>+</sup> et HBeAg<sup>-</sup>), les tests de laboratoire utilisés pour les suivis sont : électrolytes, créatinine<sup>6</sup>, formule sanguine complète, mesure du rapport international normalisé (RIN), ALT, aspartate aminotransférase (AST), albumine, HBsAg qualitatif, anti-HBs et ADN du VHB. Chez les patients en traitement au peginterféron (HBsAg<sup>+</sup> et HBeAg<sup>+</sup>), les tests suivants sont aussi utilisés, en plus de ceux énumérés précédemment : HBeAg, anti-HBe, bilirubine totale et phosphatase alcaline<sup>7</sup>.

Notons que le dosage quantitatif de l'HBsAg est offert par le laboratoire provincial de santé publique de l'Alberta<sup>8</sup>. Celui-ci peut être demandé par une liste restreinte de médecins spécialisés en hépatologie. Les patients doivent être déjà en traitement avec de l'interféron ou des analogues nucléos(t)idiques.

### 3.5 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

- Aider à l'identification précoce d'un échec de traitement au peginterféron;
- Aider à identifier les patients HBeAg<sup>-</sup> sous traitement continu aux analogues nucléos(t)idiques qui pourraient cesser leur médication sans risque de récurrence;

<sup>6</sup> Informations précisées par D<sup>r</sup> Philip Wong, gastroentérologue à l'Hôpital Royal Victoria du CUSM, le 9 mai 2016.

<sup>7</sup> Renseignements fournis avec la demande par D<sup>r</sup> Jean-Pierre Villeneuve, gastroentérologue à l'Hôpital St-Luc du CHUM.

<sup>8</sup> Informations tirées du Provincial Laboratory for Public Health (ProvLab), *Guide to Services*, 2016, disponible à : <http://www.provlab.ab.ca/guide-to-services.pdf> (consulté le 22 mars 2016).

- Distinguer parmi les patients HBeAg<sup>-</sup>, les porteurs inactifs chez qui le suivi pourrait être allégé (visite annuelle plutôt que trimestrielle);
- Réaliser des économies en visites médicales, en analyses et en médicaments.

### 3.6 Assurance qualité

Pour le moment, seuls les contrôles internes de la trousse ont été effectués et ont validé la performance de l'analyse. Deux contrôles positifs et un contrôle négatif, tous inclus dans la trousse, sont testés à chaque jour d'analyse. Le demandeur affirme que les démarches afin de participer à un programme externe de contrôle de la qualité seront entreprises dès la mise en service de l'analyse.

## 4 DONNÉES PROBANTES

### 4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse d'HBsAg quantitatif n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

### 4.2 Valeur pronostique

#### 4.2.1 Identification des patients HBeAg<sup>-</sup> porteurs inactifs, chez qui le suivi pourrait être allégé

Une étude réalisée rétrospectivement par Brouwer et ses collaborateurs [2016] visait à vérifier la corrélation entre le niveau d'HBsAg et le niveau d'activité du VHB. L'étude a été réalisée à partir des prélèvements sériques répétés de patients atteints d'hépatite B chronique HBeAg<sup>-</sup> qui, au moment du recrutement, présentaient des taux d'ADN viral d'au maximum 20 000 UI/ml et une ALT sérique normale. Les mesures d'HBsAg ont été réalisées sur des analyseurs Architect<sup>MC</sup> d'Abbott et Elecsys<sup>MC</sup> de Roche Diagnostics.

Après un an de suivi, 189 (65 %) des 292 patients HBeAg<sup>-</sup> inclus ont été identifiés porteurs inactifs, alors que 85 (29 %) et 18 (6 %) étaient respectivement porteurs intermédiaires et actifs. La définition des niveaux d'activité utilisée dans l'étude est présentée au tableau 2.

**Tableau 2. Définition des niveaux d'activité du VHB**

| NIVEAU D'ACTIVITÉ | CONCENTRATION D'ADN DU VHB (UI/ml) | NIVEAU D'ALANINE AMINOTRANSFÉRISE (ALT) SÉRIQUE |
|-------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Actif             | > 20 000                           | -                                               |
|                   | > 2 000 – 20 000                   | Supérieur à la limite normale                   |
|                   | < 2 000                            | Supérieur la limite normale                     |
| Intermédiaire     | > 2 000 – 20 000                   | Normal                                          |
| Inactif           | ≤ 2 000                            | Normal                                          |

Abbréviations : UI/ml : unités internationales par millilitre; VHB : virus de l'hépatite B.

Pour les patients avec une infection inactive après une et deux années de suivi, la probabilité que l'infection demeure inactive une année supplémentaire a été déterminée sans tenir compte du niveau d'HBsAg, soit 86 % et 92 %, respectivement. Lorsque stratifiée en fonction du niveau d'HBsAg, la probabilité que l'infection demeure inactive en cours de suivi était significativement différente selon le niveau d'HBsAg de l'année précédente

(< 100 UI/ml, 100 à 1 000 UI/ml, > 1 000; p < 0,001) tant après une année qu'après deux années d'inactivité. Les données sont présentées au tableau 3.

**Tableau 3. Probabilité que l'infection par le VHB demeure inactive pendant le suivi selon le niveau d'HBsAg**

| NIVEAU D'HBsAg PENDANT LE SUIVI (UI/ml) | PROBABILITÉ QUE L'INFECTION DEMEURE INACTIVE |                                    |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------|
|                                         | APRÈS UNE ANNÉE D'INACTIVITÉ (%)             | APRÈS DEUX ANNÉES D'INACTIVITÉ (%) |
| Non mesuré                              | 86                                           | 92                                 |
| < 100                                   | 97                                           | 99                                 |
| 100 – 1 000                             | 85                                           | 94                                 |
| > 1 000                                 | 74                                           | 76                                 |

Abréviations : HBsAg : antigène de surface du virus de l'hépatite B; UI/ml : unités internationales par millilitre

Les performances diagnostiques combinées des niveaux d'HBsAg et d'ADN viral ont été établies relativement à la probabilité d'atteindre l'état de porteur inactif (tableau 4).

**Tableau 4. Performance des mesures d'HBsAg et d'ADN du VHB pour la prédiction d'une infection inactive**

| RÈGLES DE PRÉDICTION (UI/ml)        | SENSIBILITÉ (%) | SPÉCIFICITÉ (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|-------------------------------------|-----------------|-----------------|---------|---------|
| ADN du VHB ≤ 2 000                  | 99              | 22              | 72      | 92      |
| HBsAg ≤ 1 000                       | 66              | 59              | 78      | 43      |
| HBsAg ≤ 100                         | 37              | 93              | 92      | 40      |
| HBsAg ≤ 1 000 et ADN du VHB ≤ 2 000 | 62              | 88              | 82      | 53      |
| HBsAg ≤ 100 et ADN du VHB ≤ 2 000   | 35              | 98              | 97      | 42      |

Abréviations : HBsAg : antigène de surface du virus de l'hépatite B; UI/ml : unités internationales par millilitre; VHB : virus de l'hépatite B; VPN : valeur prédictive négative; VPP : valeur prédictive positive.

L'analyse de ces résultats a permis à l'auteur de proposer de nouveaux critères pour déterminer l'activité d'une infection par le VHB (tableau 5).

**Tableau 5. Nouveaux critères proposés pour déterminer l'évolution naturelle de l'hépatite B chronique HBeAg<sup>-</sup>**

| PHÉNOTYPE          | HBsAg (UI/ml) |    | ADN DU VHB (UI/ml) |    | ALT SÉRIQUE               |
|--------------------|---------------|----|--------------------|----|---------------------------|
| Infection inactive | ≤ 100         | et | ≤ 2 000            | et | Normale                   |
| Rémission du VHB   | 100 – 1 000   | et | ≤ 2 000            | et | Normale                   |
| Infection active   | > 1 000       | ou | > 2 000            |    | N'est pas prise en compte |

Abréviations : ALT : alanine aminotransférase; HBsAg : antigène de surface du virus de l'hépatite B; UI/ml : unités internationales par millilitre; VHB : virus de l'hépatite B.

Selon l'auteur, l'infection des patients HBeAg<sup>-</sup> dont le niveau d'HBsAg est inférieur à 100 UI/ml et celui d'ADN du VHB est inférieur à 2 000 UI/ml peut être considérée inactive. Ainsi, une révision des définitions en incluant le niveau d'HBsAg pourrait faciliter la gestion des patients atteints d'hépatite B chronique HBeAg<sup>-</sup> [Brouwer *et al.*, 2016].

## 4.3 Valeur thérapeutique

### 4.3.1 Identification précoce d'un échec de traitement au peginterféron

#### **Méta-analyse concernant la valeur prédictive de réponse au peginterféron selon le niveau d'HBsAg [Peng *et al.*, 2015]**

La revue des écrits a permis de repérer une méta-analyse publiée en 2015 par Peng et ses collaborateurs dont l'objectif était d'apprécier la valeur prédictive de l'échec au traitement de peginterféron par le niveau d'HBsAg [Peng *et al.*, 2015]. Un total de 13 études randomisées contrôlées ou de cohortes, dont 4 résumés de conférences, publiées entre janvier 1997 et décembre 2013 ont été retenues. Tous les patients inclus devaient répondre aux critères suivants :

- Âgés de plus de 18 ans;
- HBeAg<sup>+</sup> pendant au moins 6 mois;
- ALT élevée;
- Si HBeAg<sup>+</sup>, concentration en ADN du VHB supérieure à  $1,0 \times 10^5$  copies/ml;
- Si HBeAg<sup>-</sup>, concentration en ADN du VHB supérieure à  $1,0 \times 10^4$  copies/ml;
- Traitement au peginterféron seul ou combiné à un analogue nucléos(t)idique;

Les paramètres d'efficacité étaient l'atteinte d'une réponse virale soutenue après au moins 24 semaines suivant la fin du traitement. La réponse virale était définie comme :

- Pour les patients HBeAg<sup>+</sup> : la séroconversion HBeAg;
- Pour les patients HBeAg<sup>-</sup> : ADN viral indétectable ou inférieur à 2 000 UI/ml;
- Ou HBsAg indétectable.

Les études incluses totalisaient 1 493 patients. La réponse des patients a été déterminée en fonction du niveau d'HBsAg à la 12<sup>e</sup> et à la 24<sup>e</sup> semaine de traitement. Les patients qui présentaient un niveau d'HBsAg en cours de traitement jugé optimal (selon les termes établis dans chaque étude) avaient une probabilité de réponse 5 fois plus élevée que les patients n'ayant pas atteint ces niveaux d'HBsAg (Risque relatif-RR : 5,17 [IC95 % : 3,75-7,11];  $p < 0,001$ ). De plus, aucune hétérogénéité n'a été constatée entre les résultats des différentes études ( $p = 0,211$ ,  $I^2 = 21,8$  %).

Parmi les études, onze ont fourni des données concernant le taux de non-réponse à la fin du suivi en fonction du niveau d'HBsAg évalué à la 12<sup>e</sup> semaine de traitement. Parmi les patients dont le niveau d'HBsAg n'était pas optimal à ce moment (selon les termes établis dans chaque étude), 99 % [IC95 % : 98-100 %] ne présentaient pas de réponse soutenue au traitement à la fin du suivi. Cette information valide l'utilisation d'une règle d'arrêt précoce de la thérapie au peginterféron selon le niveau d'HBsAg mesuré, et ce, malgré l'absence d'un seuil spécifique commun aux différentes études [Peng *et al.*, 2015].

#### **Appréciation de la valeur thérapeutique du dosage quantitatif d'HBsAg par l'étude de phase IV NEPTUNE**

Une étude de phase IV multicentrique randomisée réalisée à double insu par Liaw et ses collaborateurs a été retenue [Liaw *et al.*, 2011]. L'objectif primaire de l'étude NEPTUNE était

de comparer l'efficacité et l'innocuité d'un traitement au peginterféron  $\alpha$ -2a de 24 semaines et de 48 semaines à des doses de 90  $\mu$ g/semaine et de 180  $\mu$ g/semaine. Un objectif secondaire de l'étude était d'évaluer l'association entre la réponse à 6 mois post-traitement et le niveau d'HBsAg. Les patients étaient admissibles s'ils présentaient les critères suivants :

- HBeAg<sup>+</sup>;
- HBsAg<sup>+</sup> pour plus de 6 mois;
- ADN viral supérieur à 100 000 UI/ml;
- ALT élevée;
- Biopsie confirmant la présence de lésions hépatiques compatibles avec une hépatite B chronique.

L'atteinte des paramètres d'efficacité de l'étude était déterminée à 6 mois post-traitement. Les paramètres d'efficacité étaient les suivants :

- La séroconversion HBeAg (paramètre primaire);
- ADN du VHB inférieur à 2 000 UI/ml;
- HBsAg indétectable.

Parmi les patients admis dans l'étude, majoritairement porteurs des génotypes B (34 %) et C (51 %) du VHB, 114 ont complété le traitement de peginterféron à 180  $\mu$ g/semaine pendant 48 semaines. Dans ce groupe, l'atteinte d'une réponse soutenue a été déterminée en fonction du niveau d'HBsAg mesuré à 12 et à 24 semaines de traitement. Le tableau 6 présente les données de réponse soutenue à 6 mois post-traitement selon des seuils d'HBsAg de 1 500 UI/ml et de 20 000 UI/ml.

**Tableau 6. Réponse soutenue à 6 mois post-traitement au peginterféron selon le niveau d'HBsAg mesuré à 12 et à 24 semaines de traitement**

| NIVEAUX D'HBsAg<br>(UI/ml) (PATIENTS) | PROPORTION DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE RÉPONSE<br>SOUTENUE (%) |                             |                           |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                                       | SÉROCONVERSION<br>HBeAg                                        | ADN DU VHB<br>< 2 000 UI/ml | DISPARITION DE<br>L'HBsAg |
| À 12 semaines :                       |                                                                |                             |                           |
| • < 1 500 (31)                        | 58                                                             | 52                          | 10                        |
| • 1 500 à 20 000 (62)                 | 42                                                             | 31                          | 0                         |
| • > 20 000 (21)                       | 0                                                              | 0                           | 0                         |
| À 24 semaines :                       |                                                                |                             |                           |
| • < 1 500 (46)                        | 57                                                             | 54                          | 7                         |
| • 1 500 à 20 000 (52)                 | 35                                                             | 19                          | 0                         |
| • > 20 000 (16)                       | 0                                                              | 0                           | 0                         |

Aucun des patients dont le niveau d'HBsAg était supérieur à 20 000 UI/ml après 12 semaines ou après 24 semaines de traitement au peginterféron ne présentait de réponse soutenue à 6 mois post-traitement (VPN : 100 %). Ainsi, l'étude de Liaw et ses collaborateurs [2011] valide l'utilisation d'une règle d'arrêt de traitement à 24 semaines chez les patients dont le niveau d'HBsAg est supérieur à 20 000 UI/ml pour cause d'échec.

#### **4.3.2 Identification des patients sous traitement continu aux analogues nucléos(t)idiques qui pourraient cesser leur médication sans risque de récurrence**

Trois études visant à démontrer la valeur thérapeutique du dosage quantitatif d'HBsAg chez les patients traités aux analogues nucléos(t)idiques ont été sélectionnées [Qiu *et al.*, 2016; Ge *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2014].

La première étude a été réalisée de manière rétrospective par Qiu et ses collaborateurs [2016]. Celle-ci visait à analyser la corrélation entre le niveau d'HBsAg et les récurrences chez les patients HBeAg<sup>+</sup> suivant l'arrêt de la thérapie à l'entécavir (un analogue nucléos(t)idique). Au total, 112 patients répondaient aux critères d'admissibilité :

- HBsAg<sup>+</sup> depuis plus de 6 mois;
- ALT élevée;
- ADN viral d'au moins 10<sup>5</sup> copies/ml;
- Traitement à l'entécavir au moins 2 ans dont au moins un an suite à la séroconversion de l'HBeAg.

La thérapie était arrêtée suivant l'atteinte des paramètres suivants :

- Séroconversion de l'HBeAg;
- Au moins un an de thérapie de consolidation;
- ADN viral indétectable;
- ALT normale persistante.

Le niveau d'HBsAg a été mesuré avec un analyseur Architect<sup>MC</sup>. La médiane de la durée de traitement à l'entécavir a été de 30,7 mois ± 3,5 mois. Au cours du suivi de 52 semaines post-traitement, une récurrence du virus, définie par une concentration d'ADN viral supérieure à 10 000 copies/ml, a été documentée dans 48,2 % des cas (54/112). Comparativement aux patients qui n'ont pas subi de récurrence virale durant la période de suivi, ceux avec récurrence étaient en moyenne significativement plus âgés (46,1 ans ± 11,2 ans contre 34,6 ans ± 9,6 ans ; p < 0,001).

Le taux de récurrences à 52 semaines post-traitement a été déterminé en fonction des niveaux d'HBsAg et d'ADN du VHB mesurés à différentes étapes du traitement, dont :

- À la 12<sup>e</sup> semaine de traitement;
- Au moment de la séroconversion de l'HBeAg;
- À l'arrêt du traitement.

À la 12<sup>e</sup> semaine de traitement, le déclin du niveau d'HBsAg a permis une distinction significative des patients à risque de subir une récurrence (p = 0,002) :

- Déclin HBsAg ≥ 1 log<sub>10</sub> UI/ml (déclin ≥ 90 %) : 7,7 %;
- Déclin HBsAg < 1 log<sub>10</sub> UI/ml : 53,5 %.

Au moment de la séroconversion HBeAg, le niveau d'HBsAg a permis une distinction significative des patients à risque de subir une récurrence (p < 0,001) :

- HBsAg ≤ 2,5 log<sub>10</sub> UI/ml (316 UI/ml) : 9,5 %;
- HBsAg > 2,5 log<sub>10</sub> UI/ml : 57,1 %.

Toujours au moment de la séroconversion, la combinaison de l'âge des patients et de leur niveau d'HBsAg a permis de classer les patients en trois groupes relativement au risque de subir une récurrence. Des différences significatives ont été constatées entre le groupe 3 et les groupes 1 et 2 (p < 0,001). De même, entre le groupe 2 et le groupe 1 (p = 0,007) :

1. < 50 ans, HBsAg  $\leq$  2,5 log<sub>10</sub> UI/ml : 6,7 %;
2. < 50 ans, HBsAg > 2,5 log<sub>10</sub> UI/ml : 43,7 %;
3. > 50 ans : 84,6 %.

À l'arrêt du traitement, le niveau d'HBsAg a permis une distinction significative des patients à risque de subir une récurrence (p = 0,005) :

- HBsAg  $\leq$  2,0 log<sub>10</sub> UI/ml (100 UI/ml) : 13,3 %;
- HBsAg > 2,0 log<sub>10</sub> UI/ml : 53,6 %.

Suivant ces résultats, les auteurs concluent de ne pas cesser la thérapie chez les patients de plus de 50 ans puisque leur taux de récurrence à 52 semaines post-traitement est de 84,6 %. Toutefois, chez les patients de moins de 50 ans, le traitement à l'entécavir pourrait être cessé lorsque les patients répondent aux critères suivants, puisque le risque de récurrence à 52 semaines post-traitement est de 6,7 % :

- Séroconversion HBeAg<sup>-</sup> en cours de traitement;
- Au moins un an de traitement de consolidation;
- ADN viral indétectable;
- ALT normale persistante;
- Niveau d'HBsAg  $\leq$  2,5 log<sub>10</sub> UI/ml.

La deuxième étude a été réalisée de manière rétrospective par Ge et ses collaborateurs [2015]. Celle-ci visait à déterminer les facteurs associés au taux de récurrence à un an et à deux ans post-traitement aux analogues nucléos(t)idiques des patients atteints d'hépatite B chronique. Les patients considérés dans cette étude devaient répondre aux critères suivants :

- HBsAg<sup>+</sup> depuis au moins 6 mois;
- HBeAg<sup>-</sup>;
- ADN du VHB  $\geq$  10<sup>4</sup> copies/ml;
- ALT anormale  $\geq$  6 mois;
- Observance du traitement par les patients.

Tous les patients ont été suivis à intervalles réguliers, dès le début du traitement antiviral, et ce, jusqu'à 24 mois post-traitement. L'arrêt du traitement pouvait être envisagé lorsque l'ADN du VHB était indétectable à trois reprises à six mois d'intervalle. Les niveaux d'HBsAg ont été déterminés uniquement post-traitement à l'aide d'un analyseur Architect<sup>MC</sup>. La récurrence virologique était définie par une concentration d'ADN du VHB supérieure à 1 000 copies/ml.

Parmi les 204 patients suivis, 162 ont présenté une récurrence à 8,99  $\pm$  9,38 mois (de 1 à 20 mois) après l'arrêt du traitement. Le risque cumulatif de récurrence après 1 an et 2 ans était respectivement de 34,8 % (n = 71) et 79,4 % (n = 162). Comparativement aux patients chez qui une récurrence du virus a été documentée, les cas sans récurrence présentaient un niveau moyen d'HBsAg à l'arrêt du traitement significativement plus faible (3 290  $\pm$  2 019 UI/ml contre 4 334  $\pm$  2 494 UI/ml; p = 0,013). Une analyse multivariée du risque

cumulatif de récurrence virologique a démontré que seul le niveau d'HBsAg mesuré à la fin du traitement était un facteur prédictif indépendant de récurrence (RR : 1,97 [IC95 % : 1,17 - 3,32];  $p = 0,011$ ). En formant deux groupes selon le niveau d'HBsAg post-traitement, le risque cumulatif de récurrence était quatre fois plus élevé pour les patients du groupe  $\geq 1\ 500$  UI/ml (rapport de risque instantané-RRI : 2,07 [IC95 % : 1,42-3,016] comparativement à celui du groupe  $< 1\ 500$  UI/ml (RRI : 0,48 [IC95 % : 0,33 - 0,70];  $p = 0,0013$ ).

Le calcul de l'aire sous la courbe ROC a permis d'établir une valeur seuil précise d'HBsAg à 1 443 UI/ml relativement à la prédiction d'une récurrence virologique post-traitement (0,603 [IC95 % : 0,508 - 0,699];  $p = 0,033$ ). Pour un patient dont le niveau d'HBsAg était supérieur à cette valeur à la fin du traitement, on prédit une récurrence de l'infection à VHB avec une sensibilité de 88,3 % et une spécificité de 30,2 %.

La troisième étude a été réalisée de manière rétrospective par Chen et ses collaborateurs [2014]. Celle-ci visait à établir le lien entre le niveau d'HBsAg et le risque de récurrence post-traitement chez des patients atteints d'hépatite B chronique et traités à la lamivudine (un analogue nucléos(t)idique). Des patients n'ayant jamais été traités aux analogues nucléos(t)idiques ont été traités à la lamivudine et suivis au moins 12 mois post-traitement. Tous les patients étaient positifs pour l'HBsAg pendant plus de 6 mois avant d'entamer la thérapie [Chen *et al.*, 2014].

La règle d'arrêt du traitement pour les patients HBeAg<sup>+</sup> était la séroconversion HBeAg et l'absence d'ADN viral détectable à 2 reprises à un intervalle d'au moins 6 mois et à la fin du traitement.

La règle d'arrêt du traitement pour les patients HBeAg<sup>-</sup> était d'avoir reçu le traitement pour un minimum de 18 mois, et que l'ADN du VHB soit indétectable à au moins 2 reprises à un intervalle de 6 mois.

La récurrence virale post-traitement était définie comme une concentration d'ADN du VHB supérieure à 2 000 UI/ml à 2 mesures consécutives à au moins 3 mois d'intervalle après la fin du traitement. Suite à cette sélection, 188 patients ont été retenus ; 83 HBeAg<sup>+</sup> et 105 HBeAg<sup>-</sup>. Les niveaux d'HBsAg ont été mesurés rétrospectivement au moyen d'un analyseur Elecsys<sup>MC</sup>. Suivant l'arrêt des traitements, la durée médiane de la période de suivi était de 49 mois, soit de 12 à 157 mois. Au total, 117 patients ont subi une récurrence post-traitement. L'incidence cumulative de récurrence à une, trois et six années post-traitement était respectivement de 43,9 %, 59,4 % et 65,9 %.

Des analyses multivariées de Cox ont permis de déterminer qu'un niveau plus élevé d'HBsAg des patients HBeAg<sup>-</sup> à la fin du traitement était un facteur prédictif indépendant de récurrence post-traitement (RRI : 2,94 [IC95 % : 2,06 - 4,20]). Le calcul de l'aire sous la courbe ROC a permis d'établir une valeur seuil précise d'HBsAg de 205,48 UI/ml à l'arrêt du traitement relativement à la prédiction d'une récurrence virologique à 6 ans post-traitement (sensibilité : 97 %, spécificité : 73,7 %).

La valeur seuil de 200 UI/ml à l'arrêt du traitement a été utilisée comme marqueur de prédiction d'une récurrence virale. D'après celle-ci, les patients ont présenté une réponse soutenue à la lamivudine dans les proportions suivantes :

- $< 200$  UI/ml : 93,3 % (28/30);
- 200 à 1 000 UI/ml : 11,1 % (4/36);

- > 1 000 UI/ml : 15,4 % (6/39).

Ainsi, l'étude de Chen [2014] démontre que le niveau d'HBsAg sérique à la fin du traitement est un marqueur prédictif de la réponse soutenue post-traitement à la lamivudine.

#### 4.4 Validité analytique

##### 4.4.1 Informations de la trousse Architect<sup>MC</sup> HBsAg

Les informations de la trousse Architect<sup>MC</sup> HBsAg indiquent que le seuil de détection du dosage est de 0,05 UI/ml [Abbott, 2015].

La sensibilité du dosage a été de 100 % lorsque testée sur 403 échantillons de sérum et de plasma provenant de patients atteints de l'hépatite B. Parmi ceux-ci, 343 provenaient d'individus connus comme étant positifs pour l'HBsAg, 10 individus présentaient une infection aiguë par le VHB et 50 individus présentaient une infection chronique par le VHB.

La spécificité du dosage d'HBsAg a été validée avec 5 043 échantillons de sérum et de plasma provenant de donneurs de sang total volontaires. Les échantillons réactifs étaient confirmés et la présence d'HBsAg était validée par neutralisation spécifique. De plus, des échantillons provenant de patients hospitalisés (500), d'individus présentant des symptômes autres que ceux du VHB (333) et 50 couples d'échantillons sérum/plasma ont été testés. La spécificité est demeurée supérieure à 99 % dans les quatre cas. Les données sont présentées au tableau 7.

**Tableau 7. Réactivité du dosage Architect<sup>MC</sup> HBsAg**

| CATÉGORIE                                                                                                            | ÉCHANTILLONS TESTÉS     | RÉACTIFS                               | RÉACTIFS CONFIRMÉS NÉGATIFS (%)  | SPÉCIFICITÉ (%)         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sérum</li> <li>• Plasma</li> <li>• Total</li> </ul>                         | 2 537<br>2 506<br>5 043 | 4 (0,16 %)<br>4 (0,16 %)<br>8 (0,16 %) | 3 (0,12)<br>4 (0,16)<br>7 (0,14) | 99,88<br>99,84<br>99,86 |
| Patients hospitalisés                                                                                                | 500                     | 3 (0,60 %)                             | 0 (0)                            | 100                     |
| Échantillons de plasma provenant de couples d'échantillons sérum/plasma                                              | 50                      | 0 (0 %)                                | -                                | 100                     |
| Individus avec des symptômes sans relation avec une infection par le VHB et substances potentiellement interférentes | 333                     | 7 (2,10 %)                             | 1 (0,3)                          | 99,70                   |

La reproductibilité du dosage d'HBsAg a été déterminée à l'aide de 3 lots de réactifs. Cinq (5) échantillons ont été analysés en 4 répliques avec chaque lot de réactifs une fois par jour pendant 5 jours dans 3 laboratoires différents. À chaque série quotidienne, les contrôles positifs étaient analysés en double au début et à la fin de l'analyse. Les analyses réalisées totalisent 180 répliques pour chaque échantillon et contrôles positifs. Les données sont présentées au tableau 8.

**Tableau 8. Reproductibilité du dosage Architect<sup>MC</sup> HBsAg**

| ÉCHANTILLONS          | MOYENNE TOTALE<br>(UI/ML) | INTRA-ESSAIS |        | INTER-ESSAIS |        | TOTAL  |        |
|-----------------------|---------------------------|--------------|--------|--------------|--------|--------|--------|
|                       |                           | E.T.         | CV (%) | E.T.         | CV (%) | E.T.   | CV (%) |
| 1                     | 0,23                      | 0,011        | 4,6    | 0,016        | 6,7    | 0,018  | 7,7    |
| 2                     | 4,68                      | 0,191        | 4,1    | 0,290        | 6,2    | 0,339  | 7,2    |
| 3                     | 23,76                     | 1,205        | 5,1    | 2,179        | 9,2    | 2,268  | 9,5    |
| 4                     | 96,61                     | 4,617        | 4,8    | 7,587        | 7,9    | 8,913  | 9,2    |
| 5                     | 182,07                    | 9,448        | 5,2    | 14,352       | 7,9    | 21,705 | 11,9   |
| Contrôle positif<br>1 | 0,23                      | 0,018        | 7,8    | 0,020        | 8,8    | 0,022  | 9,7    |
| Contrôle positif<br>2 | 177,36                    | 11,889       | 6,7    | 12,969       | 7,3    | 16,126 | 9,1    |

Abréviations : CV : coefficient de variation; E.T. : écart-type; UI/ml : unités internationales par millilitre.

#### 4.4.2 Études démontrant la validité du dosage d'HBsAg avec un analyseur Architect<sup>MC</sup>

La recherche documentaire a permis de repérer 12 études comparant la performance du dosage quantitatif d'HBsAg réalisé avec l'analyseur Architect<sup>MC</sup>. Trois études attestant de la validité du dosage de l'HBsAg avec un analyseur Architect<sup>MC</sup> d'Abbott ont été sélectionnées [Tuaille *et al.*, 2012; Sonneveld *et al.*, 2011; Wursthorn *et al.*, 2011].

La première étude comparant les plateformes Architect<sup>MC</sup> et Elecsys<sup>MC</sup> a été réalisée par Sonneveld et ses collaborateurs [2011]. Dans cette étude, 1 427 échantillons provenant de patients atteints d'hépatite B chronique ont été analysés.

La comparaison entre les deux plateformes a présenté un coefficient de corrélation  $r = 0,96$ ,  $p < 0,001$ . Les résultats de l'Elecsys<sup>MC</sup> étaient en moyenne supérieurs de  $0,01 \log_{10}$  UI/ml comparativement à ceux de l'analyseur Architect<sup>MC</sup>.

Ainsi les deux plateformes présentent une forte corrélation et peuvent être utilisées pour doser le niveau d'HBsAg en pratique clinique [Sonneveld *et al.*, 2011].

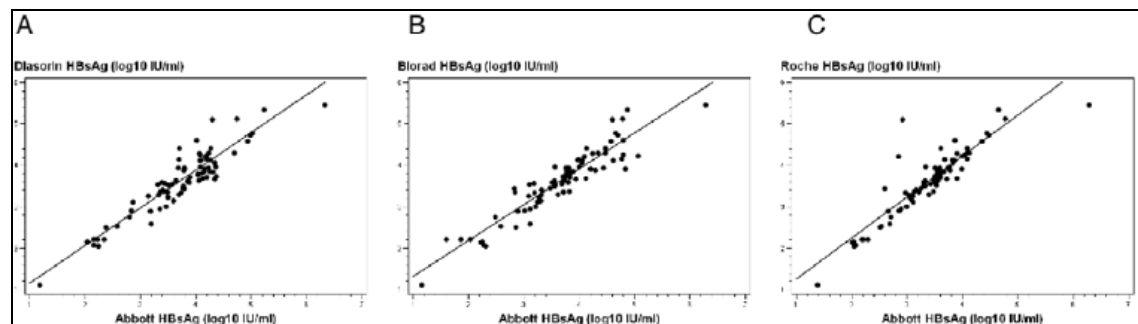
La seconde étude a été réalisée par Wursthorn et ses collaborateurs [2011] et avait pour but de comparer la performance de l'essai HBsAg II de l'Elecsys<sup>MC</sup> de Roche contre l'essai quantitatif d'HBsAg de l'analyseur Architect<sup>MC</sup> d'Abbott [Wursthorn *et al.*, 2011]. Les analyses ont été réalisées sur 79 échantillons provenant de patients atteints d'hépatite B chronique non traités dans différentes phases de l'infection.

Les méthodes ont présenté une corrélation globale significative ( $r = 0,97$ ;  $p < 0,001$ ). L'Elecsys<sup>MC</sup> a présenté un biais de 2,5 % à 5,1 % comparativement aux résultats de l'analyseur Architect<sup>MC</sup>. La corrélation était également valable entre les deux méthodes pour les échantillons dont la concentration en HBsAg était inférieure à 1 000 UI/ml ( $R^2 = 0,64$ ;  $n = 25$ ). Dans tous ces spécimens, les résultats de l'Elecsys<sup>MC</sup> étaient systématiquement plus élevés que ceux de l'analyseur Architect<sup>MC</sup> (68 UI/ml à 2 755 UI/ml par l'analyseur Elecsys<sup>MC</sup> contre 53 UI/ml à 996 UI/ml par l'analyseur Architect<sup>MC</sup>). Les données de corrélation sont présentées au tableau 9.

**Tableau 9. Corrélation des méthodes Elecsys<sup>MC</sup> et Architect<sup>MC</sup> selon la phase de l'infection chez des patients non traités**

| PATIENTS                               | NOMBRE | CORRÉLATION R | BIAIS (%) | DÉVIATION STANDARD DU BIAIS (%) | IC 95 %      |
|----------------------------------------|--------|---------------|-----------|---------------------------------|--------------|
| Tous les patients non traités          | 79     | 0,97          | -3,7      | 5,3                             | -14,1 à 6,6  |
| Phase de l'infection                   |        |               |           |                                 |              |
| Tolérance immunitaire                  | 23     | 0,96          | -2,5      | 2,1                             | -6,6 à 1,5   |
| Clairance immunitaire                  | 16     | 0,80          | -4,0      | 4,6                             | -12,9 à 4,9  |
| Faible réplication                     | 17     | 0,90          | -5,1      | 8,6                             | -22,0 à 11,7 |
| Infection réactivée HBeAg <sup>-</sup> | 23     | 0,86          | -3,8      | 4,9                             | -13,4 à 5,7  |

Une troisième étude réalisée par Tuailon et ses collaborateurs [2012] a utilisé le dosage d'HBsAg de l'analyseur Architect<sup>MC</sup> (CMIA) pour valider le potentiel de 3 essais qualitatifs pour un usage quantitatif (avec des dilutions) [Tuailon *et al.*, 2012]. Deux des méthodes évaluées étaient des essais immunoenzymatiques conventionnels (Diasorin et Bio-Rad) alors que la troisième était une CMIA (Roche). L'étude a été réalisée avec des échantillons provenant de 80 patients atteints d'une hépatite B chronique et non traités au moment de l'échantillonnage. La corrélation entre les 3 essais et le dosage d'HBsAg avec un analyseur Architect<sup>MC</sup> est présentée graphiquement à la figure 1.



**Figure 1. Corrélation des concentrations d'HBsAg ( $\log_{10}$  UI/ml sur les deux échelles) mesurées par les méthodes d'Abbott contre Diasorin, Bio-Rad et Roche (respectivement A, B et C). Figure tirée de l'étude de Tuailon et ses collaborateurs [2012]**

La concentration d'HBsAg médiane et l'intervalle interquartile associé était de 3,68 (4,13-3,27)  $\log_{10}$  UI/ml pour la méthode de référence Abbott, 3,79 (4,18-3,36)  $\log_{10}$  UI/ml pour Diasorin, 3,75 (4,16-3,18)  $\log_{10}$  UI/ml pour Bio-Rad et 3,49 (3,79-3,01)  $\log_{10}$  UI/ml pour Roche. Les trois méthodes ont présenté une corrélation de 0,88 à 0,93 avec l'analyseur Architect<sup>MC</sup> d'Abbott. Les résultats sont présentés au tableau 10.

**Tableau 10. Corrélation entre les trois essais qualitatifs modifiés et la méthode Architect<sup>MC</sup> d'Abbott**

| MÉTHODE  | CONCENTRATION MOYENNE ET EIQ (LOG <sub>10</sub> UI/ml) | COEFFICIENT DE CORRÉLATION (ρ) | p       | LIMITE D'ACCORD À 95 % (LOG <sub>10</sub> UI/ml) | DIFFÉRENCE MOYENNE (LOG <sub>10</sub> UI/ml) |
|----------|--------------------------------------------------------|--------------------------------|---------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Abbott   | 3,68 (4,13-3,27)                                       | -                              | -       | -                                                | -                                            |
| Diasorin | 3,79 (4,18-3,36)                                       | 0,88                           | < 0,001 | -0,5 à 0,69                                      | 0,09                                         |
| Bio-Rad  | 3,75 (4,16-3,18)                                       | 0,93                           | < 0,001 | -0,57 à 0,65                                     | 0,04                                         |
| Roche    | 3,49 (3,79-3,01)                                       | 0,88                           | < 0,001 | -0,9 à 0,45                                      | -0,23                                        |

Abréviations : EIQ : intervalle écart inter-quartile; UI/ml : unités internationales par millilitre.

L'étude démontre que la quantification de l'HBsAg dans des échantillons cliniques par différentes méthodes analytiques apparaît exacte, présentant peu de variabilité et peu de résultats discordants.

#### 4.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a fourni les résultats des contrôles internes réalisés pour le dosage d'HBsAg entre le 22 février 2016 et le 28 mars 2016. Les données sont présentées au tableau 11. Aucune donnée provenant de spécimen clinique n'est disponible.

**Tableau 11. Données des contrôles de qualité interne de l'analyseur Architect<sup>MC</sup> pour le dosage d'HBsAg**

| ANALYSES                    | NIVEAU DES CONTRÔLES |                    |                    |
|-----------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
|                             | CONTRÔLE NÉGATIF     | CONTRÔLE POSITIF 1 | CONTRÔLE POSITIF 2 |
| Valeurs attendues (UI/ml) : |                      |                    |                    |
| Moyenne                     | 0,00000              | 0,25000            | 175,00000          |
| Écart-type                  | 0,01000              | 0,04000            | 30,62000           |
| Limites                     | 0,00 à 0,04          | 0,16 à 0,34        | 113,75 à 236,25    |
| Résultats obtenus (UI/ml) : |                      |                    |                    |
| 2016-02-22                  | 0,01                 | 0,26               | 170,49             |
| 2016-02-29                  | 0,01                 | 0,25               | 172,57             |
| 2016-03-07                  | 0,00                 | 0,23               | 171,40             |
| 2016-03-14                  | 0,01                 | 0,25               | 163,03             |
| 2016-03-21                  | 0,00                 | 0,23               | 161,30             |
| 2016-03-28                  | 0,01                 | 0,26               | 161,93             |
| Moyenne                     | 0,00667              | 0,24667            | 166,78667          |
| Écart-types                 | 0,00516              | 0,01366            | 5,22011            |
| IC (%)                      | 77,36132             | 5,53776            | 3,12981            |

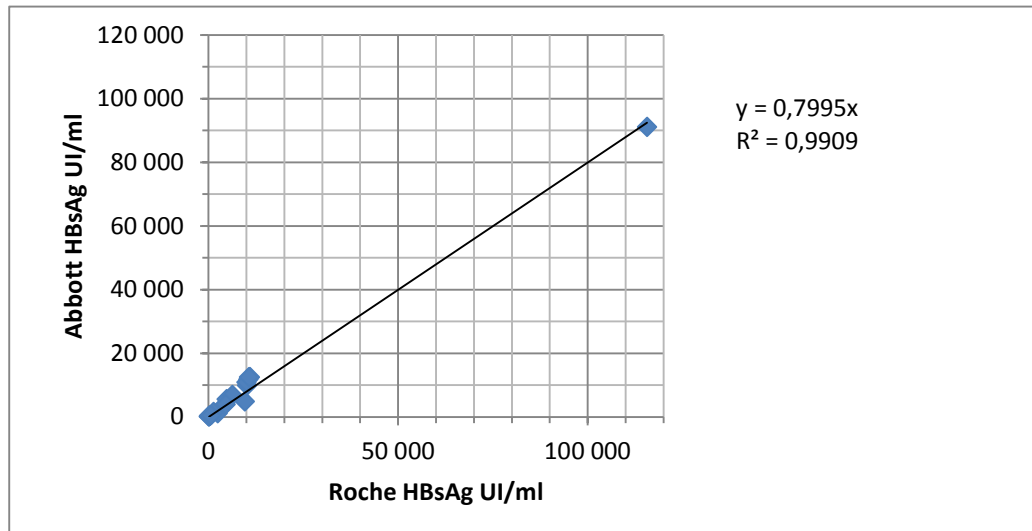
Abréviations : IC : intervalle de confiance; UI/ml : unités internationales par millilitre

Le demandeur a également réalisé une étude de corrélation entre l'analyseur Architect<sup>MC</sup> d'Abbott à l'Hôpital Saint-Luc du CHUM et l'analyseur Elecsys<sup>MC</sup> de Roche du Laboratoire national de microbiologie. Le tableau 12 présente les résultats de dosage d'HBsAg obtenus pour 20 échantillons testés par les deux analyseurs.

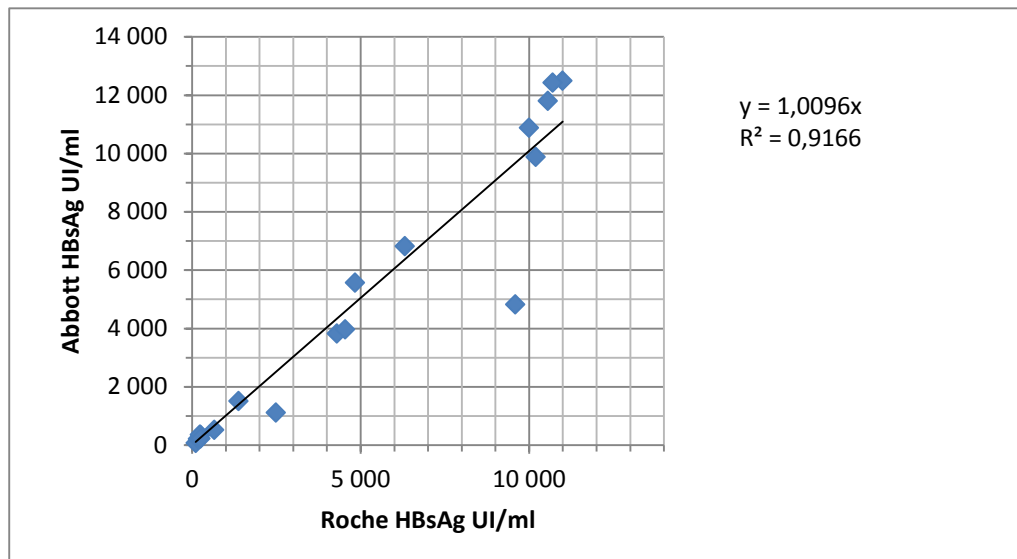
**Tableau 12. Dosage de l'antigène de surface de l'hépatite B réalisé par les analyseurs Architect<sup>MC</sup> et Elecsys<sup>MC</sup>**

| CONCENTRATION D'HBSAG (UI/ML) |                       |                         |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| ÉCHANTILLONS                  | ELECSYS <sup>MC</sup> | ARCHITECT <sup>MC</sup> |
| 1                             | 252,9                 | 345,4                   |
| 2                             | 9 592,0               | 4 829,0                 |
| 3                             | 2 483,0               | 1 120,0                 |
| 4                             | 192,9                 | 198,9                   |
| 5                             | 1 380,0               | 1 510,0                 |
| 6                             | 10 551,0              | 11 800,0                |
| 7                             | 4 297,0               | 3 830,0                 |
| 8                             | 106,8                 | 73,2                    |
| 9                             | 171,4                 | 213,8                   |
| 10                            | 4 839,0               | 5 565,0                 |
| 11                            | 10 192,0              | 9 882,0                 |
| 12                            | 115 660,0             | 91 102,0                |
| 13                            | 6 309,0               | 6 823,0                 |
| 14                            | 9 992,0               | 10 883,0                |
| 15                            | 234,6                 | 360,2                   |
| 16                            | 10 993,0              | 12 493,0                |
| 17                            | 4 537,0               | 3 972,0                 |
| 18                            | 252,2                 | 228,5                   |
| 19                            | 662,2                 | 526,8                   |
| 20                            | 10 702,0              | 12 434,0                |

Les deux analyseurs ont présenté un coefficient de corrélation (r) de 0,995 avec une pente de 0,7995 (Figure 2). La courbe a été reprise en excluant le sérum 12 afin de mieux distinguer la corrélation entre les deux analyseurs. Celle-ci a présenté un coefficient de corrélation (r) de 0,957 avec une pente de 1,0096 (Figure 3).



**Figure 2.** Corrélation entre le dosage HBsAg de l'analyseur Architect<sup>MC</sup> et celui de l'analyseur Elecsys<sup>MC</sup>



**Figure 3.** Corrélation entre le dosage HBsAg de l'analyseur Architect<sup>MC</sup> et celui de l'analyseur Elecsys<sup>MC</sup> de 0 et 14 000 UI/ml

## 5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs et indirects liés à l'introduction au *Répertoire* du dosage de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) par CMIA.

L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 13 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Basé sur des données de 2014, le demandeur estime que 450, 475 et 500 analyses sont prévues pour le CHUM au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*;
- Ces analyses représentent celles réalisées par le CHUM pour la population atteinte d'hépatite B chronique que l'établissement prend en charge. Bien qu'elles représentent la majorité des analyses prévues pour le Québec, elles n'en représentent pas la totalité;
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 14,57.

**Tableau 13. Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* du dosage de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) par CMIA**

| COÛTS DIRECTS                | AN 1     | AN 2     | AN 3     | TOTAL     |
|------------------------------|----------|----------|----------|-----------|
| Nombre d'analyses anticipées | 450      | 475      | 500      | 1 425     |
| Coûts de l'analyse           | 6 557 \$ | 6 921 \$ | 7 285 \$ | 20 763 \$ |

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire* sont estimés à un total de 20 763 \$ pour les trois premières années.

L'évaluation des coûts indirects est basée sur les éléments suivants ainsi que sur les informations présentées à l'annexe A :

- Parmi les patients atteints d'hépatite B chronique, il est estimé que:
  - 25 % des patients HBsAg<sup>+</sup> HBeAg<sup>-</sup> sont sous surveillance. L'analyse permettrait d'en identifier 30 % comme étant des porteurs inactifs. Chez ces patients, un suivi annuel plutôt qu'un suivi effectué 4 fois par année est anticipé si les concentrations d'HBsAg sont inférieures à 1 000 UI/ml et que celles de l'ADN viral sont inférieures à 2 000 UI/ml.
  - 75 % des patients HBsAg<sup>+</sup> HBeAg<sup>-</sup> sont sous traitement aux analogues nucléos(t)idiques. L'analyse permettrait d'en identifier 20 % chez qui le traitement pourra être cessé si les concentrations d'HBsAg sont inférieures à 500 UI/ml. Un suivi annuel plutôt qu'un suivi effectué 4 fois par année est aussi anticipé chez ces patients.
  - Quelques patients HBsAg<sup>+</sup> HBeAg<sup>+</sup> sont traités à l'interféron. L'analyse permettrait d'en identifier 25 % qui pourront cesser précocement le traitement, soit à 24 semaines pour cause d'échec si les concentrations d'HBsAg sont supérieures à 20 000 UI/ml. Chez ces patients, des tests effectués lors de visites mensuelles seront alors évités. Un analogue nucléos(t)idique serait alors utilisé en traitement de remplacement.

- Les analyses de laboratoire effectuées à chaque visite paraissent au tableau 14 de l'annexe A.
- Les principaux analogues nucléos(t)idiques et interférons utilisés pour le traitement de l'hépatite B chronique ainsi que leur coût sont présentés au tableau 15 de l'annexe A.
- Pour les patients considérés comme porteurs inactifs et pour ceux chez qui un arrêt de traitement avec les analogues nucléos(t)idiques est envisagé (HBsAg<sup>+</sup> et HBeAg<sup>-</sup>), les coûts liés aux tests de laboratoire suivants seraient réduits de 75 % par année puisqu'un seul suivi annuel serait désormais effectué au lieu de quatre grâce au dosage quantitatif de l'HBsAg : électrolytes, créatinine, formule sanguine complète, mesure du rapport international normalisé (RIN), aspartate aminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT), albumine, HBsAg qualitatif, anti-HBs et ADN du VHB. Chez les patients pour lesquels un arrêt de traitement avec l'interféron est envisagé (HBsAg<sup>+</sup> et HBeAg<sup>+</sup>), les tests suivants seraient aussi cessés, en plus de ceux énumérés précédemment : HBeAg, anti-HBe, bilirubine totale et phosphatase alcaline.
- Les coûts en visites médicales et en honoraires de professionnels n'ont pas été pris en considération dans la présente analyse d'impact budgétaire.

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, le dosage quantitatif de l'HBsAg permettrait de générer des économies provenant essentiellement de l'arrêt d'un traitement avec analogues nucléos(t)idiques chez les patients HBsAg<sup>+</sup> HBeAg<sup>-</sup> et en tests de laboratoire. Ainsi, une réduction de ces coûts de plus de 300 000 \$ par année pour chacune des trois prochaines années suivant l'introduction de l'analyse au *Répertoire* est anticipée à près de 1 M\$.

## 6 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

### Association canadienne pour l'étude du foie

Dans ses lignes directrices publiées en 2012, l'Association canadienne pour l'étude du foie recommande que l'analyse quantitative de l'HBsAg soit accessible aux cliniciens car elle peut aider à orienter un traitement et à prédire la réponse aux thérapies basées sur l'interféron [Coffin *et al.*, 2012].

### National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

Le guide de pratique clinique pour le diagnostic et la gestion des patients atteints d'hépatite B chronique publié par le NICE en 2013 recommande le dosage de l'HBsAg. Ainsi, on indique de considérer l'arrêt du traitement au peginterféron après 24 semaines si [NICE, 2013]:

- Patients HBeAg<sup>+</sup> : l'ADN du VHB a diminué de moins de 2 log<sub>10</sub> UI/ml ou si le niveau d'HBsAg est supérieur à 20 000 UI/ml;
- Patients HBeAg<sup>-</sup> : l'ADN du VHB a diminué de moins de 2 log<sub>10</sub> UI/ml et le niveau d'HBsAg n'a pas diminué.

Le NICE recommande également de doser l'HBsAg en cours de traitement :

- Au peginterféron : semaines 0, 12, 24 et 48;

- Aux analogues nucléos(t)idiques : semaines 0, 12, 24 et 48 et par la suite à tous les 6 mois.

#### European Association for the Study of the Liver

Le guide de pratique clinique de l'European Association for the Study of the Liver reconnaît que le niveau d'HBsAg est un indicateur de la réponse thérapeutique tant pour un traitement au peginterféron qu'avec des analogues nucléos(t)idiques [EASL, 2012].

Ainsi l'EASL recommande de cesser la thérapie au peginterféron pour :

- Patients HBeAg<sup>+</sup> : si le niveau d'HBsAg ne diminue pas sous 20 000 UI/ml ou ne présente pas de déclin après 3 mois;
- Patients HBeAg<sup>-</sup> : absence de déclin d'HBsAg après 3 mois et déclin de l'ADN du VHB inférieur à 2 log<sub>10</sub>.

#### American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)

Le guide de pratique pour le traitement de l'hépatite B chronique publié en 2016 par l'American Association for the Study of Liver Diseases stipule que des études additionnelles sont requises afin d'identifier de potentiels marqueurs permettant de prédire l'arrêt sécuritaire du traitement aux analogues nucléos(t)idiques, incluant le niveau d'HBsAg [Terrault *et al.*, 2016].

## **7 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION**

Dans le but d'évaluer l'activité virale, le dosage quantitatif d'HBsAg va compléter les analyses de charge virale et d'alanine aminotransférase pour faciliter la gestion des patients atteints d'hépatite B chronique.

Le dosage quantitatif de l'HBsAg permet de déceler un échec de traitement au peginterféron après 24 semaines et d'interrompre ce dernier.

Le dosage quantitatif de l'HBsAg chez les patients traités aux analogues nucléos(t)idiques permet de déterminer si l'arrêt de traitement chez ceux-ci risque d'engendrer une récurrence de l'infection à VHB ou si la réponse demeurera soutenue, ce qui permettra de déterminer si le traitement aux analogues nucléos(t)idiques peut être cessé ou doit être maintenu chez ces patients.

D'après le nombre d'analyses annuelles anticipées pour le CHUM, l'introduction de l'analyse devrait engendrer des coûts directs de 7 000 \$/an et des économies indirectes supérieures à 300 000 \$/an.

L'Association canadienne pour l'étude du foie recommande que l'analyse d'HBsAg quantitative soit accessible aux cliniciens.

Le National Institute for Health and Care Excellence recommande que l'analyse soit réalisée en cours de traitement au peginterféron et aux analogues nucléos(t)idiques. Il recommande également de cesser la thérapie au peginterféron selon le niveau d'HBsAg.

L'European Association for Study of the Liver reconnaît que le niveau d'HBsAg est un indicateur de la réponse thérapeutique tant lors d'un traitement au peginterféron qu'aux analogues nucléos(t)idiques. Cette association recommande de cesser le traitement au peginterféron selon le niveau d'HBsAg.

L'American Association for Study of Liver Diseases stipule que des études additionnelles sont requises pour valider le dosage d'HBsAg quantitatif comme marqueur permettant de prédire l'arrêt sécuritaire du traitement aux analogues nucléos(t)idiques.

## 8 RECOMMANDATION DE L'INESSS

### Antigène de surface de l'hépatite B – Analyse quantitative

#### La recommandation de l'INESSS

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

#### Précisions accompagnant la recommandation

Le comité reconnaît la pertinence médicale de l'analyse proposée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui.

Concernant la validité analytique, les données fournies par le demandeur ont été jugées suffisantes.

## RÉFÉRENCES

- Abbott. Architect HBsAg. Abbott Park, IL : Abbott Laboratories; 2015.
- Brouwer WP, Lik-Yuen Chan H, Brunetto MR, Martinot-Peignoux M, Arends P, Cornberg M, et al. Repeated measurements of hepatitis B surface antigen identify carriers of inactive HBV during long-term follow-up. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14(10):1481-9.e5.
- Chen CH, Lu SN, Hung CH, Wang JH, Hu TH, Changchien CS, Lee CM. The role of hepatitis B surface antigen quantification in predicting HBsAg loss and HBV relapse after discontinuation of lamivudine treatment. *J Hepatol* 2014;61(3):515-22.
- Coffin CS, Fung SK, Ma MM. Management of chronic hepatitis B: Canadian Association for the Study of the Liver consensus guidelines. *Can J Gastroenterol* 2012;26(12):917-38.
- European Association For The Study Of The Liver (EASL). EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012;57(1):167-85.
- Ge GH, Ye Y, Zhou XB, Chen L, He C, Wen DF, Tan YW. Hepatitis B surface antigen levels of cessation of nucleos(t)ide analogs associated with virological relapse in hepatitis B surface antigen-negative chronic hepatitis B patients. *World J Gastroenterol* 2015;21(28):8653-9.
- Liaw YF, Jia JD, Chan HL, Han KH, Tanwandee T, Chuang WL, et al. Shorter durations and lower doses of peginterferon alfa-2a are associated with inferior hepatitis B e antigen seroconversion rates in hepatitis B virus genotypes B or C. *Hepatology* 2011;54(5):1591-9.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Hepatitis B (chronic): Diagnosis and management. Londres, Angleterre : NICE; 2013. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/cg165/resources/hepatitis-b-chronic-diagnosis-and-management-35109693447109>.
- Peng H, Wei F, Liu JY, Hu HD, Ren H, Hu P. Response-guided therapy of regimens based on PEG-interferon for chronic hepatitis B using on-treatment hepatitis B surface antigen quantification: A meta-analysis. *Hepatol Int* 2015;9(4):543-57.
- Qiu YW, Huang LH, Yang WL, Wang Z, Zhang B, Li YG, et al. Hepatitis B surface antigen quantification at hepatitis B e antigen seroconversion predicts virological relapse after the cessation of entecavir treatment in hepatitis B e antigen-positive patients. *Int J Infect Dis* 2016;43:43-8.
- Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, Zwang L, Beersma MF, Hansen BE, Janssen HL. A comparison of two assays for quantification of Hepatitis B surface Antigen in patients with chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2011;51(3):175-8.
- Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2016;63(1):261-83.
- Tuaillon E, Mondain AM, Nagot N, Ottomani L, Kania D, Nogue E, et al. Comparison of serum HBsAg quantitation by four immunoassays, and relationships of HBsAg level with HBV replication and HBV genotypes. *PLoS One* 2012;7(3):e32143.

Wursthorn K, Jaroszewicz J, Zacher BJ, Darnedde M, Raupach R, Mederacke I, et al. Correlation between the Elecsys HBsAg II assay and the Architect assay for the quantification of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the serum. *J Clin Virol* 2011;50(4):292-6.

## ANNEXE A

Tests de laboratoire et médicaments utilisés pour la prise en charge des patients atteints d'hépatite B chronique

**Tableau 14 Coûts des différents tests de laboratoire effectués chez les patients atteints d'hépatite B chronique**

| TESTS DE LABORATOIRE                                      | PRIX UNITAIRE |
|-----------------------------------------------------------|---------------|
| Formule sanguine complète                                 | 1,30 \$       |
| Rapport international normalisé                           | 1,10 \$       |
| Aspartate aminotransférase                                | 0,70 \$       |
| Alanine aminotransférase                                  | 0,70 \$       |
| Albumine                                                  | 0,70 \$       |
| HBsAg qualitatif                                          | 6,00 \$       |
| Anti-HBs                                                  | 3,60 \$       |
| ADN-VHB                                                   | 79,00 \$      |
| HBeAg                                                     | 21,00 \$      |
| Anti-HBe                                                  | 12,10 \$      |
| Bilirubine totale                                         | 0,70 \$       |
| Phosphatase alcaline                                      | 0,70 \$       |
| Électrolytes (Chlorure, sodium, potassium et bicarbonate) | 2,90 \$       |
| Créatinine                                                | 0,70 \$       |

**Tableau 15 Coûts de traitement de l'hépatite B chronique avec les analogues nucléos(t)idiques et les interférons**

| DÉNOMINATION COMMUNE<br>NOM COMMERCIAL, FABRICANT                                                                           | POSOLOGIE                                                                                                                                                                          | PRIX UNITAIRE | COÛT* DE<br>TRAITEMENT |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------------------|
| <b>Analogues nucléos(t)idiques</b>                                                                                          |                                                                                                                                                                                    |               |                        |
| Entécavir, Co., 0,5 mg<br>Baraclude <sup>MC</sup> , BMS et autres versions <sup>†</sup>                                     | 1 Co., par jour                                                                                                                                                                    | 5,50 \$       | 2 026 \$/an            |
| Lamivudine, Co., 100 mg<br>Heptovir <sup>MC</sup> , GSK et autres versions <sup>†</sup>                                     | 1 Co., par jour                                                                                                                                                                    | 3,53 \$       | 1 288 \$/an            |
| Ténofovir, Co., 300 mg<br>Viread <sup>MC</sup> , Gilead                                                                     | 1 Co., par jour                                                                                                                                                                    | 17,29 \$      | 6 311 \$/an            |
| <b>Interférons</b>                                                                                                          |                                                                                                                                                                                    |               |                        |
| Interféron alfa-2b, Pd. Inj. S.C.,<br>10 millions UI<br>Intron A <sup>MC</sup> , Gilead                                     | 30 x 10 <sup>6</sup> UI à 35 x 10 <sup>6</sup> UI par semaine<br>(administrer 5 x 10 <sup>6</sup> UI par jour ou<br>10 x 10 <sup>6</sup> UI 3x par semaine) pendant<br>16 semaines | 123,35 \$     | 5 920 \$ à<br>8 470 \$ |
| Peginterféron alfa-2a, Sol. Inj. S.C.,<br>180 mcg/0,5 ml<br>Pegasys <sup>MC</sup> et Pegasys ProClick <sup>MC</sup> , Roche | 180 mcg par semaine pendant<br>48 semaines                                                                                                                                         | 395,84 \$     | 19 000 \$              |

\* Coût établi selon le prix de la *Liste de médicaments* de mai 2016. Ce coût n'inclut pas celui des services professionnels en pharmacie.

<sup>†</sup> La méthode du prix le plus bas s'applique. Parmi les analogues nucléos(t)idiques énumérés dans le tableau ci-haut, environ 62 % des patients sont traités avec le ténofovir, 28 % avec la lamivudine et 10 % avec l'entécavir. Ces données sont basées sur les statistiques de facturation de la RAMQ en 2015 et sur l'opinion d'experts consultés.

# DOSAGE DU PROPEPTIDE N-TERMINAL DU PROCOLLAGÈNE DE TYPE 1 (P1NP) ( RÉFÉRENCE – 2015.03.003)

Avis d'évaluation

## 1 INFORMATION GÉNÉRALE

**1.1 Demandeur :** CHUM - Hôpital St-Luc

**1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 12 septembre 2016

**1.3 Date de publication de l'avis :** 10 novembre 2016

### Mise en garde

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

### Conflit d'intérêts

Le D<sup>r</sup> Louis Gaboury 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 propre.

Pour le présent avis, l'experte consultée est :

D<sup>re</sup> Suzanne Morin, clinicienne-chercheure et interniste, Centre Universitaire de santé McGill

## 2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

### 2.1 Nom de l'analyse

Dosage du propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (P1NP) par ECLIA (*electro-chemiluminescence immunoassay*)

### 2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Le collagène de type 1 est la protéine la plus abondante de la matrice organique osseuse [Burch *et al.*, 2014; Vasikaran *et al.*, 2011]. Elle est produite au niveau de l'ostéoblaste, la cellule assurant la formation du tissu osseux. La maturation du collagène de type 1 implique, entre autres, une étape de clivage enzymatique du procollagène ayant comme conséquence la formation de deux propeptides, soit un en N-terminal (P1NP) et l'autre en C-terminal (P1CP). Le P1NP et le P1CP peuvent être mesurés dans le sérum et sont considérés comme

des marqueurs de la formation osseuse, tout comme l'ostéocalcine et la phosphatase alcaline osseuse [Burch *et al.*, 2014]. Le dosage sera utilisé pour mesurer l'efficacité thérapeutique pendant le traitement anabolisant à la téraparatide<sup>9</sup> des patients avec ostéoporose et pour le suivi thérapeutique des patients atteints de maladie osseuse de Paget, traités surtout avec des bisphosphonates. La variation attendue des valeurs sériques de P1NP mesurées avant et après l'initiation d'une thérapie diffère selon le mode d'action de celle-ci : 1) les thérapies anti-résorption (bisphosphonates) engendrent une diminution du P1NP alors que la thérapie anabolisante (téraparatide) engendre une augmentation du P1NP [Brown *et al.*, 2009].

L'analyse proposée ici concerne la trousse commerciale P1NP Total de Roche Diagnostics, dont l'objectif est de mesurer quantitativement la concentration de P1NP dans le sérum et le plasma humains au moyen d'un test immunologique de type « sandwich ».

Le dosage est effectué par électrochimiluminescence (ECLIA) sur les systèmes d'immunoanalyse Elecsys<sup>MC</sup> et Cobas<sup>MC</sup>. Le test Elecsys<sup>MC</sup> P1NP total détecte les deux isoformes du P1NP présentes dans le sang: les formes trimérique et monomérique.

### **2.3 Modalités d'administration du test**

Cette analyse sera réalisée sur des échantillons sanguins de patients souffrant d'ostéoporose. Le demandeur mentionne que la prise de sang sera faite au centre de prélèvements et envoyée au laboratoire regroupé du CHUM, où l'analyse sera effectuée. L'échantillon de sang sera centrifugé, décanté et congelé. L'analyse sera faite après la décongélation, sur le Cobas<sup>MC</sup> 8000, au laboratoire regroupé du CHUM. Lorsque le prélèvement proviendra d'un autre établissement, celui-ci aura déjà été centrifugé, décanté et congelé au laboratoire du centre hospitalier demandeur. Le prélèvement congelé sera envoyé au CHUM pour y être analysé.

### **2.4 Société ou concepteur**

Le demandeur utilise la trousse P1NP Total de Roche Diagnostics.

### **2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)**

La trousse P1NP Total a été homologuée par Santé Canada le 30 août 2004 (numéro d'homologation : 65673). Elle est également homologuée par l'Union européenne (Union Europe EC 03141071).

### **2.6 Valeur pondérée : 23,99**

## **3 CONTEXTE**

### **3.1 Patients ciblés**

Les personnes atteintes d'ostéoporose primaire, secondaire ou de la maladie de Paget, et traitées avec la téraparatide.

---

<sup>9</sup> La téraparatide (Fortéo<sup>MC</sup>, Eli Lilly and Company Ltd.) est une forme recombinante de l'hormone parathyroïdienne (PTH 1-34) qui intervient dans la régulation des niveaux de calcium et sur l'activité des cellules impliquées dans la formation osseuse.

### 3.2 Description des maladies visées

L'ostéoporose est une maladie progressive du tissu osseux, caractérisée par une masse osseuse basse et une détérioration micro-architecturale du tissu osseux, avec une grande fragilité osseuse conséquente et une susceptibilité de fractures [Brown *et al.*, 2009]. On estime à 1,4 million, le nombre de Canadiennes et de Canadiens qui souffrent d'ostéoporose, soit une prévalence estimée à 21,3 % et à 5,5 % pour les femmes et les hommes de 50 ans ou plus, respectivement [Tarride *et al.*, 2012; Berger *et al.*, 2010].

La maladie osseuse de Paget est une affection chronique du squelette caractérisée par des zones localisées d'hyperactivité et remodelage osseux désorganisés, qui font place à des structures osseuses peu résistantes et hypertrophiques. Après l'ostéoporose, la maladie de Paget est la deuxième maladie osseuse la plus fréquemment diagnostiquée [Blumsohn *et al.*, 2011]. Aux États-Unis, la prévalence de la maladie osseuse de Paget est estimée entre 1 % et 3 % chez les 40 ans et plus; sa prévalence augmente avec l'âge, ainsi chez les 80 ans et plus, elle est estimée à 8-10 % [Morissette *et al.*, 2006].

### 3.3 Nombre prévu d'analyses et de personnes visées

Depuis 2011, le dosage du P1NP est offert au CHUM pour des projets de recherche, pour les laboratoires privés et pour les endocrinologues du CHUM spécialisés en métabolisme phosphocalcique. Le demandeur estime le nombre annuel de dosages de P1NP à environ 200 pour le CHUM et entre 1 000 et 5 000 pour le Québec.

**Tableau 1 Dosages du P1NP au CHUM**

| 2011-2012 | 2012-2013 | 2013-2014 | 2014-2015 | 2015-2016<br>(périodes 1 à 10) |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------------------|
| 319       | 410       | 926       | 1 013     | 1 149                          |

### 3.4 Spécialités médicales concernées

Endocrinologie, rhumatologie, médecine familiale et médecine interne.

### 3.5 Brève description de la situation actuelle

Les Lignes directrices d'Ostéoporose Canada recommande un suivi par DXA (dual-energy X-ray absorptiometry) 1 à 3 ans après le début de la thérapie [Vallet et Ralston, 2016; Ralston *et al.*, 2011; Papaioannou *et al.*, 2010]. Les marqueurs du métabolisme osseux représentent une alternative à la DXA. Les plus utilisés sont le C-télopeptide, l'ostéocalcine et la phosphatase alcaline osseuse [Brown *et al.*, 2009].

### 3.6 Données médico-administratives

Deux marqueurs de la formation osseuse (l'ostéocalcine et la phosphatase alcaline osseuse) et un marqueur de la résorption osseuse (les télopeptides C ou N) sont intégrés au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (tableau 2).

**Tableau 2 Analyses de télépeptides (C ou N), d'ostéocalcine et de phosphatase alcaline osseuse réalisées en 2014-2015 dans les installations publiques du Québec**

| ANALYSES                      | CODE  | VALEUR PONDÉRÉE (UNITÉS) | 2014-2015 |                      |
|-------------------------------|-------|--------------------------|-----------|----------------------|
|                               |       |                          | VOLUME    | VALEUR ANNUELLE (\$) |
| Ostéocalcine                  | 30363 | 8,5                      | 15 970    | 135 745              |
| Phosphatase alcaline osseuse  | 30583 | 4,9                      | 1 399     | 6 855                |
| Télopeptides (C ou N) (sérum) | 30504 | 8,0                      | 29 354    | 234 832              |

### 3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, le P1NP est le marqueur qui démontre la meilleure réponse face à un traitement anabolisant à la tériparatide et possède de nombreux avantages : meilleure stabilité à température ambiante, bonne précision et faible variation intra-individuelle.

De plus, le demandeur souligne que le P1NP a été choisi par les groupes de travail de l'International Osteoporosis Foundation (IOF) et de l'International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) comme analyse de référence de la formation osseuse pour la prédiction du risque de fracture et le suivi du traitement en ostéoporose. Ce dosage sera utilisé dans les prochaines études cliniques concernant l'ostéoporose.

### 3.8 Assurance qualité

L'approche utilisée par le demandeur pour assurer l'intégrité des résultats réside dans l'utilisation des contrôles de qualité de la compagnie Roche Diagnostics (PreciControl<sup>MC</sup> Varia 2) à chaque dosage. Le demandeur mentionne également que le dosage est effectué selon les instructions de la compagnie.

Le laboratoire participe à un programme externe de contrôle de qualité: « UK NEQAS for Immunology, Immunochemistry and Allergy » sous-programme Bone Metabolism Markers<sup>10</sup>.

Les résultats inférieurs à 5 µg/L seront dosés de nouveau systématiquement et les résultats supérieurs à 1200 µg/L seront dilués et réévalués.

### 3.9 Remplacement d'un autre test

Le dosage du P1NP peut remplacer, dans certains cas, l'analyse de l'ostéocalcine (30363), un marqueur de formation osseuse. Le demandeur mentionne que le test pourrait également être complémentaire à l'analyse du C-télopeptide (30504), un marqueur de résorption osseuse qui est au *Répertoire*.

## 4 DONNÉES PROBANTES

### 4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic.

<sup>10</sup> UK National External Quality Assessment Schemes (UK NEQAS) for Immunology, Immunochemistry and Allergy. *Participation Handbook 2014-2015*. Disponible à : [http://www.immqas.co.uk/downloads/Scheme\\_Handbook\\_2014\\_2015.pdf](http://www.immqas.co.uk/downloads/Scheme_Handbook_2014_2015.pdf) (consulté le 17 mai 2016).

## 4.2 Valeur pronostique

Trois études traitant de la valeur pronostique du P1NP ont été retenues : deux analyses a posteriori appuyées sur des essais contrôlés randomisés (ECR) et une étude prospective observationnelle [Yamamoto *et al.*, 2014; Delmas *et al.*, 2009; Bauer *et al.*, 2006]. Les études retenues ont analysé la relation entre les concentrations sériques du P1NP et l'incidence ou le risque relatif des fractures spécifiques à l'ostéoporose.

Bauer et ses collaborateurs [2006] ont analysé les données de l'étude FIT (Fracture Intervention Trial) afin d'évaluer l'association entre le niveau de certains marqueurs osseux et l'incidence des fractures vertébrales et non vertébrales chez 3 495 femmes atteintes d'ostéoporose sévère. La moitié des sujets ont reçu l'alendronate et l'autre partie un placebo. Les valeurs sériques du P1NP, mesurées avant l'initiation de la thérapie, ont été utilisées de manière à diviser les patients en 3 groupes selon la concentration. La densité minérale osseuse a été mesurée au niveau de la hanche et de la colonne vertébrale, au début de l'étude et annuellement. Après un suivi moyen de 3,2 ans, les chercheurs ont documenté 336 fractures vertébrales et 492 fractures non vertébrales chez les femmes ostéoporotiques [Bauer *et al.*, 2006]. Parmi ces femmes avec ostéoporose :

- du groupe P1NP faible (< 41,6 ng/ml), la prise d'alendronate, comparativement à celle du placebo, a été associée à une réduction non significative du risque de fractures non vertébrales de 12 % :  
Risque relatif-RR : 0,88 (Intervalle de confiance à 95 %-IC95 : 0,65 – 1,21);
- du groupe P1NP élevé (>56,8 ng/ml), cette réduction s'est avérée significativement plus grande, soit 46 % :  
RR = 0,54 (IC95 : 0,39 – 0,74); p = 0,03.
- Une analyse ajustée selon l'âge a montré une réduction significative du risque de fractures non vertébrales dans le groupe alendronate de 52 % (IC95 : 25 % - 69 %) pour les femmes avec une concentration pré-traitement de P1NP > 67 ng/ml, comparativement à 23 % (IC95 : 6 % - 37 %) pour celles avec un P1NP < 67 ng/ml (p = 0,05).
- Une tendance similaire, mais statistiquement non significative, a été observée concernant le risque de fractures non vertébrales relativement au niveau de la phosphatase alcaline osseuse (PAo).
- Aucune association entre les niveaux pré-traitement de P1NP ou de PAo et l'efficacité de l'alendronate à prévenir les fractures vertébrales n'a été observée.

En accord avec la réduction du risque de fractures non vertébrales observées parmi le groupe P1NP élevé, celui-ci est également associé à une plus grande variation de la densité osseuse parmi les femmes avec ostéoporose traitées par alendronate (tableau 3).

**Tableau 3 Variation moyenne de la densité osseuse des patientes avec ostéoporose, traitées par alendronate contre placebo, et regroupées selon le niveau initial de P1NP ou de PAo (N = 3 288)**

| MARQUEUR | DIFFÉRENCE DE DMO VERTÉBRALE SELON LA CONCENTRATION % (IC 95 %) |                      |                      |          |
|----------|-----------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------|
|          | 1 <sup>ER</sup> TIERS                                           | 2 <sup>E</sup> TIERS | 3 <sup>E</sup> TIERS | VALEUR P |
| P1NP*    | 1,77 (1,57-1,96)                                                | 2,09 (1,87-2,31)     | 2,11 (1,89-2,32)     | 0,02     |
| PAo**    | 1,31 (1,13-1,48)                                                | 1,20 (1,00-1,40)     | 1,22 (1,02-1,43)     | 0,56     |

Source : Bauer *et al.*, 2006.

Abréviations : DMO : densité minérale osseuse; IC 95 % : intervalle de confiance à 95 %; PAo : phosphatase alcaline osseuse; P1NP : propeptide N-terminal du pro collagène de type 1.

\* Tiers du P1NP : 1) <41,6 ng/ml; 2) 41,6-56,8 ng/ml et 3) >56,8 ng/ml

\*\* Tiers de la PAo : 1) <11,7 ng/ml; 2) 11,7-14,9 ng/ml et 3) >14,9 ng/ml

Une étude observationnelle prospective multicentrique menée sur 1 671 personnes atteintes d'ostéoporose (93 % de femmes) et à risque élevé de fracture avait comme principal objectif d'évaluer l'innocuité à long terme (jusqu'à 24 mois) de la tériparatide [Yamamoto *et al.*, 2014]. Parmi les objectifs secondaires, l'effet du traitement sur certains marqueurs sériques et sur la densité minérale osseuse a entre autres été évalué.

Les auteurs ont observé une croissance rapide du taux de P1NP 1 mois après le début de la thérapie. Parmi les 579 personnes pour lesquelles une valeur de P1NP pré-traitement était disponible, la concentration moyenne était de 51,04 ( $\pm$  60,95) ng/ml. Après 1 mois de traitement, la concentration de P1NP avait augmenté en moyenne de 200 % parmi les 201 personnes testées, comparativement à une augmentation moyenne de 50 % pour la PAo. À 6 mois de traitement, les 178 personnes testées pour le P1NP affichaient une augmentation moyenne de la concentration de 543 % comparativement à une augmentation de 86 % de la PAo pour les 60 cas également mesurés à 6 mois. Après 12 mois de traitement, une augmentation de la densité minérale osseuse (DMO) a été constatée au niveau de la colonne lombaire, du col fémoral et de la hanche totale. Les principales données sont présentées au tableau 4 [Yamamoto *et al.*, 2014].

**Tableau 4 Taux d'accroissement moyen de certains marqueurs osseux par rapport aux valeurs mesurées avant l'initiation de la tériparatide chez des personnes atteintes d'ostéoporose**

| MARQUEUR (N CAS TESTÉS) :<br>VALEURS PRÉTRAITEMENT                | ACCROISSEMENT MOYEN (N CAS TESTÉS) |                                  |              |
|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--------------|
|                                                                   | 1 MOIS                             | 6 MOIS                           | 12 MOIS      |
| <b>P1NP</b> (579) : 51 $\pm$ 61 ng/ml                             | $\approx$ 200 % (201)              | 543 % (178)                      | ND           |
| <b>PAo</b> (208) : 19,3 $\pm$ 17,9 IU/l                           | $\approx$ 50 % (48)                | 86 % (60)                        | ND           |
| <i>Densité minérale osseuse</i>                                   |                                    |                                  |              |
| <b>Colonne lombaire</b> (452) : 0,68 $\pm$ 0,15 g/cm <sup>2</sup> | ND                                 | $\approx$ 4 %* (208)             | 6,7 %* (152) |
| <b>Col fémoral</b> (442) : 0,49 $\pm$ 0,10 g/cm <sup>2</sup>      | ND                                 | $\approx$ 0,5 % (190)            | 1,7 %* (137) |
| <b>Hanche totale</b> (240) : 0,55 $\pm$ 0,12 g/cm <sup>2</sup>    | ND                                 | $\downarrow \approx$ 1,3 % (126) | 1,7 % (90)   |

Source : Yamamoto *et al.*, 2014.

Abréviations : N : nombre; ND : non déterminé; P1NP : propeptide N-terminal du procollagène de type 1; Pao' : phosphatase alcaline osseuse; \*différence significative par rapport aux valeurs prétraitement (p < 0,05)

L'étude HORIZON-PFT (Health Outcomes and Reduced Incidence with Zoledronic Acid Once Yearly - Pivotal Fracture Trial) a démontré que l'utilisation d'acide zolédronique une fois par année pour trois ans chez des femmes postménopausées atteintes d'ostéoporose, comparativement à un placebo, réduit significativement le risque de fracture [Black *et al.*, 2007]. Delmas et ses collaborateurs [2009] ont présenté une analyse a posteriori appuyée sur les données d'HORIZON dont les 2 objectifs étaient : 1) Doser le niveau de certains marqueurs osseux en fonction du traitement et de comparer ces valeurs avec celles établies comme référence chez des femmes préménopausées en santé. 2) Vérifier la relation entre le niveau de ces marqueurs à 1 an et le risque de fracture sur 3 ans. Le P1NP a été mesuré au moyen du système Elecsys<sup>MC</sup> de Roche, avant chacune des infusions d'acide zolédronique et à la fin de l'étude, sur un échantillon de 1 270 femmes [Delmas *et al.*, 2009].

Parmi les femmes ayant reçu le placebo, les niveaux de P1NP sont demeurés relativement stables au cours des 3 années de l'étude, tout comme les autres marqueurs testés (C-télopeptide et PAo). Par contre, parmi celles du groupe traitées avec l'acide zolédronique, une diminution de la concentration médiane des trois marqueurs a été constatée, et ce, pour chaque point de contrôle. Les données pour le P1NP et la PAo sont présentées au tableau 5. Trois ans après l'initiation du traitement (i.e. 1 an après la dernière infusion), ces diminutions de concentration étaient de 56 % pour le P1NP et de 30 % pour la PAo [Delmas *et al.*, 2009].

**Tableau 5 Concentrations médianes des marqueurs P1NP et PAo mesurées en cours de traitement avec bisphosphonate (acide zolédronique) comparativement à un placebo**

| MARQUEUR           | CONCENTRATIONS MÉDIANES SELON LE TRAITEMENT EN µg/L (N patientes testées) |             |             |             |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                    | PRÉTRAITEMENT                                                             | 12 MOIS (N) | 24 MOIS (N) | 36 MOIS (N) |
| <b>P1NP</b>        |                                                                           |             |             |             |
| Acide zolédronique | 49,95 (619)                                                               | 18,12 (553) | 18,63 (514) | 21,83 (411) |
| Placebo            | 49,00 (627)                                                               | 46,18 (579) | 48,15 (520) | 48,88 (401) |
| <b>PAo</b>         |                                                                           |             |             |             |
| Acide zolédronique | 13,03 (299)                                                               | 8,96 (240)  | 9,22 (230)  | 9,33 (177)  |
| Placebo            | 13,36 (305)                                                               | 12,77 (258) | 13,46 (237) | 13,15 (174) |

Source : Delmas *et al.*, 2009.

Abréviations : N : nombre; PAo : phosphatase alcaline osseuse; P1NP : propeptide N-terminal du procollagène de type 1.

Bien que les concentrations de P1NP et de la PAo du groupe sous acide zolédronique soient plus basses que celles du groupe placebo, et ce, durant toute la durée du traitement, elles sont cependant demeurées à l'intérieur des valeurs de références pour la majorité des patientes ayant reçu le bisphosphonate. Dans la population avec une concentration sérique du P1NP diminuée à un an de traitement, il y avait une diminution significative des fractures vertébrales et non vertébrales diagnostiquées cliniquement et une diminution des fractures vertébrales diagnostiquées par un examen morphométrique (tableau 6).

**Tableau 6 Risque de fracture à 3 ans dans le groupe de patient avec réduction de P1NP documentée à un an de thérapie**

| TYPE DE FRACTURES                  | FRACTURES SELON LE TRAITEMENT N (%) |                               | RISQUE RELATIF /<br>RAPPORT DE COTES |
|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
|                                    | PLACÉBO (N=640)                     | ACIDE ZOLÉDRONIQUE<br>(N=630) |                                      |
| <b>Toutes*</b>                     | 80 (12,5)                           | 50 (7,9)                      | 0,62 (0,43 - 0,88); p = 0,0076       |
| <b>Non-vertébrales</b>             | 68 (10,6)                           | 46 (7,3)                      | 0,67 (0,46 - 0,98); p = 0,038        |
| <b>Hanche</b>                      | 14 (2,2)                            | 6 (0,95)                      | 0,43 (0,17 - 1,13); p = 0,086        |
| <b>Vertébrales cliniques</b>       | 16 (2,5)                            | 5 (0,8)                       | 0,32 (0,11 - 0,86); p = 0,024        |
| <b>Vertébrales morphométriques</b> | 34 (7,9)                            | 6 (1,5)                       | 0,17 (0,07 - 0,41); p < 0,0001       |

Source : Delmas *et al.*, 2009.

\* Fractures non- vertébrales et vertébrales diagnostiquées cliniquement

La proportion des patientes présentant des concentrations de marqueurs sous les valeurs de références, à n'importe quel temps durant l'étude, a été établie à 1,7 % et 19 % pour la PAO et le P1NP, respectivement. Aucune association entre une concentration faible de P1NP mesurée à 1 an et une augmentation de l'incidence des fractures survenues sur 3 ans n'a été constatée. Selon les chercheurs, maintenir la concentration sérique des marqueurs osseux dans les limites normales des femmes préménopausées est jugée désirable afin d'éviter le risque de « *oversuppression* », qui pourrait se traduire par une augmentation du risque de fracture pathologique (par exemple les fractures atypiques du fémur). En conclusion, l'injection annuelle pour trois ans consécutifs d'acide zolédronique réduit la concentration de P1NP jusqu'à un intervalle de valeurs observées chez des femmes préménopausées, et ce, sans que le risque de fracture soit augmenté [Delmas *et al.*, 2009].

### 4.3 Valeur thérapeutique

Pour démontrer la valeur thérapeutique du P1NP, sept études qui ont analysé la corrélation entre les valeurs sériques du P1NP chez des patients atteints d'ostéoporose et la DMO ont été retenues [Niimi *et al.*, 2015; Niimi *et al.*, 2014; Blumsohn *et al.*, 2011; Tsujimoto *et al.*, 2011; Burshell *et al.*, 2010; Miller *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2005]. Pour les patients atteints de la maladie osseuse de Paget, une revue systématique avec méta-analyse qui a évalué la corrélation entre les valeurs sériques du P1NP et la scintigraphie osseuse, dans l'évaluation de l'activité de la maladie, avant et après le traitement aux bisphosphonates a été retenue [Al Nofal *et al.*, 2015].

#### 4.3.1 Ostéoporose et traitement à la téraparatide

L'étude européenne Forsteo (EUROFORS) est une étude clinique contrôlée, randomisée en partie et ouverte pour une autre partie, menée sur 868 femmes ménopausées avec ostéoporose sévère [Blumsohn *et al.*, 2011]. L'investigation du traitement à la téraparatide a été menée sur 443 femmes qui ont complété deux ans de traitement. Les objectifs de cette étude étaient de :

- Comparer la réponse observée dans les premiers 6 mois de traitement à la téraparatide, pour 3 marqueurs de formation osseuse (P1NP, phosphatase alcaline osseuse et phosphatase alcaline totale);

- Déterminer lequel de ces trois marqueurs est le plus fiable pour détecter une réponse à ce traitement et,
- Déterminer si les changements précoces de ces marqueurs sont prédictifs de changements de la DMO.

La concentration sérique de ces trois marqueurs a été déterminée au début du traitement, puis après 1 et 6 mois. En réponse à la tériparatide, la concentration sérique des trois marqueurs de formation osseuse était significativement plus élevée à 1 mois par rapport aux valeurs initiales et a continué d'augmenter à 6 mois. Une corrélation positive significative entre les valeurs absolues de P1NP et les changements de la DMO de la colonne lombaire et à la hanche a été observée après 24 mois de traitement (tableau 7). La concentration sérique de P1NP à 1 mois est celle qui a présenté la meilleure corrélation ( $r = 0,365$ ) avec les changements de la DMO de la colonne lombaire après 24 mois de traitement à la tériparatide. Cependant, selon les auteurs, ces corrélations sont modestes, et les variations de concentrations de P1NP expliquent seulement 17,4 % des changements de DMO de la colonne lombaire et 5,6 % des changements de DMO de la hanche totale selon les modèles prédictifs utilisés. Aucune relation significative entre la concentration ou la variation du P1NP après 1 et 6 mois de traitement et le risque global de fractures n'a été mise en évidence. Les auteurs concluent que le P1NP est le marqueur le plus sensible pour évaluer la réponse précoce à un traitement à la tériparatide. Par contre, les indicateurs de formation osseuse étaient modestement prédictifs d'un changement de DMO de la colonne lombaire et de la hanche totale, et n'étaient pas corrélés avec le risque de fracture [Blumsohn *et al.*, 2011].

**Tableau 7** Corrélation (r) entre les valeurs absolues de P1NP et le changement de densité minérale osseuse après 24 mois de tériparatide

| P1NP sérique<br>Temps (mois) | Corrélation P1NP et DMO       |                            |                          |
|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|
|                              | Colonne lombaire<br>(n = 414) | Hanche totale<br>(n = 401) | Col fémoral<br>(n = 401) |
| Début traitement             | 0,301 (p < 0,0001)            | 0,218 (p < 0,0001)         | 0,116 (p < 0,05)         |
| 1 mois                       | 0,365 (p < 0,0001)            | 0,141 (p < 0,005)          | 0,081 (ns)               |
| 6 mois                       | 0,219 (p < 0,0001)            | 0,111 (p < 0,05)           | 0,107 (p < 0,05)         |

Source : Blumsohn *et al.*, 2011.

Abréviations : DMO : densité minérale osseuse; ns : non significatif; P1NP : propeptide N-terminal du procollagène de type 1.

Niimi et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une étude de cohorte prospective chez 154 personnes (92 % femmes) atteintes d'ostéoporose sévère traitées à la tériparatide. Les objectifs étaient de déterminer si les changements précoces de concentration en P1NP étaient corrélés avec les changements de DMO après 12 mois de traitement et de développer un algorithme de suivi des patients. Les résultats ont démontré des corrélations significatives entre les changements absolus de concentration en P1NP après 1 mois de traitement et les changements absolus de DMO à 12 mois au niveau de la colonne lombaire et du col fémoral (tableau 8). Après 4 mois de traitement, une corrélation significative a été observée uniquement au niveau de la colonne lombaire. Afin d'évaluer la possibilité d'utiliser les changements de concentration du P1NP pour prédire les changements subséquents de DMO de la colonne lombaire à 12 mois, une analyse de courbe ROC a été réalisée. Cette analyse a révélé qu'une augmentation de plus de 80 µg/L du P1NP à un mois

était le meilleur indicateur de réponse au traitement en terme de DMO de la colonne lombaire à 12 mois (Aire sous la courbe = 0,72). Si une augmentation de plus de 80 µg/L en P1NP était observée suite au traitement, la valeur prédictive positive d'une augmentation de plus de 10 % de la DMO de la colonne lombaire à 12 mois était de 65 %, soit chez environ deux tiers des patients. Pour le clinicien, l'augmentation du P1NP à un mois est un signe que le patient observe le traitement. Il pourra s'en servir pour donner au patient un message positif de réponse à la téraparatide. En conclusion, les auteurs recommandent l'usage du niveau sérique du P1NP à 1 mois dans un algorithme de suivi des patients avec un risque de fracture élevé, traités avec la téraparatide, dans le but de prédire l'augmentation de la DMO et de vérifier l'observance au traitement [Niimi *et al.*, 2014].

**Tableau 8** Corrélation entre les changements absolus du P1NP à 1 et 4 mois et les changements absolus de la DMO au niveau de la colonne lombaire et du col fémoral, après 12 mois de traitement à la téraparatide

| CHANGEMENTS ABSOLUS DU P1NP | CHANGEMENTS ABSOLUS DMO |        |             |        |
|-----------------------------|-------------------------|--------|-------------|--------|
|                             | COLONNE LOMBAIRE        |        | COL FÉMORAL |        |
|                             | r                       | p      | r           | p      |
| 1 mois                      | 0,34                    | < 0,01 | 0,17        | < 0,05 |
| 4 mois                      | 0,32                    | < 0,01 | - 0,03      | n.s.   |

Source : Niimi *et al.*, 2014.

Abréviations : DMO : densité minérale osseuse; n.s.: non significatif; p : valeur de p (statistique); r : coefficient de corrélation (Spearman).

L'effet d'un traitement quotidien à la téraparatide sur la DMO a été étudié de façon rétrospective chez 334 femmes ménopausées et chez 47 hommes souffrant d'ostéoporose [Niimi *et al.*, 2015]. L'objectif était d'identifier les marqueurs osseux permettant de détecter de possibles différences entre les hommes et les femmes. Le P1NP sérique, le N-télopeptide urinaire (nNTX) ainsi que la DMO de la colonne lombaire et du col fémoral ont été mesurés au début puis à 4, 8 et 12 mois après l'initiation du traitement. Après 12 mois, dans chaque groupe à l'étude, les niveaux sériques de P1NP ont augmenté de façon significative par rapport au début du traitement ( $p < 0,01$ ) sans différence statistiquement significative entre les deux sexes. La DMO de la colonne lombaire a augmenté de façon significative par rapport au début du traitement, dans les deux groupes après 12 mois de traitement (tableau 9). Par contre, au niveau du col fémoral, une augmentation significative a été observée seulement chez les femmes. Selon les chercheurs, il est possible que le faible nombre d'hommes et les différences inhérentes au genre expliquent cette observation [Niimi *et al.*, 2015].

**Tableau 9** Changement de la DMO à la colonne lombaire et du col fémoral chez les femmes et les hommes souffrant d'ostéoporose en réponse à 12 mois de traitement avec la téraparatide

| P1NP À 4 MOIS (µg/L)   | DMO-CL                       | DMO-CF                     |
|------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Hommes : 140,9 ± 98,5  | 11,3 ± 9,9 % ( $p < 0,01$ )† | 0,4 ± 6,4 % ( $p = n.s.$ ) |
| Femmes : 159,1 ± 118,3 | 9,6 ± 8,1 % ( $p < 0,01$ )   | 2,4 ± 7,8 % ( $p < 0,01$ ) |

Source : Niimi *et al.*, 2015.

Abréviations : DMO-CF : densité minérale osseuse au col fémoral; DMO-CL : densité minérale osseuse de la colonne lombaire; n.s.: non significatif; p : valeur de p (statistique). † Les valeurs de p présentées dans ce tableau comparent la DMO à 12 mois à celle mesurée au début du traitement.

L'étude de Miller et ses collaborateurs [2008] avait pour objectif d'évaluer les effets de la tériparatide chez des femmes ménopausées avec ostéoporose précédemment traitées avec l'alendronate ou le risédronate avec comme prémices que le prétraitement avec les bisphosphonates peut altérer ou retarder la réponse à la tériparatide. La réponse à la tériparatide administrée durant 12 mois a été évaluée chez 166 et 158 femmes précédemment traitées à l'alendronate et au risédronate, respectivement. Les changements absolus moyens de P1NP après 3 mois de traitement à la tériparatide, par rapport au début du traitement, ont été comparés pour les deux groupes. Le changement moyen de P1NP était significativement supérieur dans le groupe risédronate (moins puissant en tant qu'antirésorptif que l'alendronate) comparativement au groupe alendronate ( $86,0 \pm 5,6$  ng/ml contre  $61,2 \pm 5,3$  ng/ml;  $p < 0,001$ ). La DMO a été mesurée au niveau de la colonne lombaire et de la hanche chez 231 patientes (risédronate = 112 et alendronate = 119). Après 12 mois de traitement au risédronate, les changements de la DMO au niveau de la colonne lombaire avaient presque doublé par rapport au groupe traité à l'alendronate (24,1 % c. 13,7 %, respectivement;  $p < 0,05$ ). Au niveau de la hanche, une tendance similaire a été observée, sans toutefois être significative statistiquement ( $p = 0,06$ ). Les changements de la DMO, 12 mois après l'initiation de la tériparatide, corrèlent de façon significative avec les changements du P1NP à 3 mois (coefficient de corrélation Spearman,  $r = 0,45$ ). Les auteurs concluent que la réponse anabolique à la tériparatide peut être différente selon le type de bisphosphonate préalablement administré [Miller *et al.*, 2008].

#### **4.3.2 Ostéoporose et traitement à la tériparatide contre placebo**

Parmi les participantes de l'étude « Fracture Prevention Trial », 1 637 femmes ménopausées souffrant d'ostéoporose ont été randomisées pour recevoir la tériparatide 20 µg/jour (541), 40 µg/jour (552) ou un placebo (544) [Chen *et al.*, 2005]. La durée médiane de traitement était de 19 mois. Le but de cette étude était de connaître la relation entre trois marqueurs de la formation osseuse et la DMO mesurée au niveau de la colonne lombaire après 18 mois de traitement et au niveau du col fémoral après 12 mois. Les concentrations sériques des marqueurs suivants ont été mesurées : la phosphatase alcaline osseuse (PAo), le peptide C-terminal du procollagène de type 1 (P1CP) et le P1NP. Le P1NP a été mesuré au début du traitement et après 3 mois, dans un sous-groupe de 771 participantes et les deux autres marqueurs, dans un sous-groupe de 520 participantes, au début du traitement puis à 1, 3, 6, et 12 mois.

La corrélation entre les changements des marqueurs de formation osseuse et la réponse en DMO suite au traitement est présentée au tableau 11. Sous tériparatide 20 µg, la corrélation entre la DMO du col fémoral et le changement de P1CP à 1 mois ( $r = 0,39$ ) est supérieure à celle de la PAo à 1 mois et du P1NP à 3 mois. La corrélation avec le changement en P1CP est également supérieure aux autres marqueurs incluant le P1NP sous tériparatide 40 µg ( $r = 0,53$ ).

Une analyse ROC a été réalisée afin de déterminer quel était le meilleur marqueur pour prédire la réponse de la DMO de la colonne lombaire après 18 mois de traitement. Pour une spécificité de 90 %, le P1CP à 1 mois et le P1NP à 3 mois offrent les meilleures sensibilités, soit 59 % et 69 %, respectivement. La précision diagnostique représentée par les valeurs d'aire sous la courbe (AUC) était également plus élevée pour le P1CP à 1 mois (0,83) et le P1NP à 3 mois (0,81). La probabilité d'obtenir une réponse positive de la DMO à la colonne

lombaire était de 0,88 avec le P1NP à 3 mois (associé à un changement minimal de 17,2 ng/ml) comparativement à 0,93 avec le P1CP à 3 mois (associé à un changement minimal de 46,0 ng/ml). Selon les auteurs, les résultats obtenus au niveau du col fémoral étaient moins accentués en raison du rythme de remodelage plus lent à cet endroit comparativement à l'os trabéculaire de la région lombaire ou de la durée de traitement plus courte. Dans cette population à l'étude, la corrélation la plus élevée a été observée entre les niveaux sériques du P1CP à un mois et du P1NP à 3 mois et les changements dans la DMO à la colonne lombaire après 18 mois de téraparatide [Chen *et al.*, 2005].

**Tableau 11** Corrélation (r) entre les changements des marqueurs de formation osseuse et la réponse en DMO au niveau de la colonne lombaire et du col fémoral suite au traitement à la téraparatide.

| MARQUEURS   | CHANGEMENTS DMO-CL À 18 MOIS |            |            | CHANGEMENTS DMO-CF À 12 MOIS |            |            |
|-------------|------------------------------|------------|------------|------------------------------|------------|------------|
|             | Placébo                      | TPTD-20 µg | TPTD-40 µg | Placébo                      | TPTD-20 µg | TPTD-40 µg |
| PAo 1 mois  | 0,11                         | 0,08       | 0,20*      | 0,06                         | 0,15       | 0,20*      |
| P1CP 1 mois | - 0,12                       | 0,39*      | 0,53*      | 0,11                         | 0,17       | 0,16       |
| P1NP 3 mois | - 0,14*                      | 0,26*      | 0,38*      | - 0,19*                      | - 0,04     | 0,24*      |

Source : Chen *et al.*, 2005.

Abréviations : DMO-CF : densité minérale osseuse au col fémoral; DMO-CL : densité minérale osseuse colonne lombaire; PAo : phosphatase alcaline osseuse; P1CP: peptide C-terminal du procollagène de type 1; P1NP : propeptide N-terminal du procollagène de type1; TPTD : téraparatide. \*p < 0,05 contre la valeur mesurée en début de traitement.

Une étude randomisée à double insu menée sur 207 patients (93 % de femmes) avec un risque élevé de fracture a évalué, entre autres, la relation entre les changements précoces des marqueurs osseux et les changements de la DMO après 12 mois de téraparatide ou d'un placebo [Tsujiimoto *et al.*, 2011]. Deux marqueurs sériques de formation osseuse (P1NP et PAo) et la DMO ont été évalués au début puis à 1, 3, 6 et 12 mois de traitement. La corrélation la plus élevée a été observée entre le changement absolu du P1NP à 1 mois et le changement de la DMO à la colonne lombaire à 12 mois de téraparatide ( $r = 0,56$ ;  $p < 0,01$ ; tableau 12).

Des analyses supplémentaires concernant le P1NP ont démontré que, comparativement au début du traitement, la proportion de patients qui ont eu une augmentation supérieure à 10 µg/ml du P1NP à 1, 3 et 6 mois étaient de 93 %, 87 % et 83 %, respectivement. Par ailleurs, une augmentation supérieure ou égale à 3 % de DMO à la colonne lombaire à 3, 6 et 12 mois sous téraparatide par rapport au début du traitement a été observée chez 67 %, 88 % et 94 % des patients, respectivement (tableau 13). Selon les auteurs, ces résultats confirment que relativement aux autres marqueurs, les changements précoces de P1NP sont prédictifs d'augmentations ultérieures de la DMO et pourraient être utiles dans la prise en charge des patients sous téraparatide. Les auteurs affirment également que le P1NP à 1 mois pourrait être plus utile que la mesure de la DMO à la colonne lombaire relativement à l'identification des patients chez qui l'observance du traitement à la téraparatide serait sous-optimale [Tsujiimoto *et al.*, 2011].

**Tableau 12** Corrélation (r) entre les changements absolus de P1NP et de PAo et les changements de la DMO de la colonne lombaire, du col fémoral et de la hanche totale après 12 mois de téraparatide.

| MARQUEUR |        | DMO-CL |         |       | DMO-CF |         |       | DMO-HT |         |       |
|----------|--------|--------|---------|-------|--------|---------|-------|--------|---------|-------|
|          |        | Tous   | TPTD-20 | PB    | Tous   | TPTD-20 | PB    | Tous   | TPTD-20 | PB    |
| P1NP     | 1 mois | 0,76** | 0,56**  | -0,18 | 0,11   | -0,02   | -0,16 | 0,35** | 0,21*   | -0,07 |
|          | 3 mois | 0,70** | 0,36**  | -0,11 | 0,12   | -0,04   | -0,01 | 0,29** | 0,04    | 0,08  |
|          | 6 mois | 0,54** | 0,12    | -0,23 | 0,05   | -0,12   | -0,17 | 0,15   | -0,18   | 0,01  |
| PAo      | 1 mois | 0,24** | 0,02    | -0,08 | 0,07   | 0,06    | -0,07 | -0,01  | -0,17   | -0,13 |
|          | 3 mois | 0,20** | -0,12   | 0,05  | 0,01   | -0,06   | -0,06 | 0,14   | -0,06   | 0,24  |
|          | 6 mois | 0,09   | -0,20*  | -0,05 | -0,09  | -0,17   | -0,12 | -0,09  | -0,23*  | -0,17 |

Source : Tsujimoto *et al.*, 2011.

Abréviations : DMO-CF : densité minérale osseuse au col fémoral; DMO-CL : densité minérale osseuse de la colonne lombaire; DMO-HT : densité minérale osseuse à la hanche totale; PAo : phosphatase alcaline osseuse; PB : placebo; TPTD : téraparatide.

\*p < 0,05 ou \*\*p < 0,01 contre la valeur mesurée en début de traitement

**Tableau 13** Proportion des patients ayant présenté une hausse de P1NP et de DMO à la colonne lombaire sous traitement à la téraparatide.

| TESTS                | DURÉE DU TRAITEMENT À LA TÉRAPARATIDE |        |        |         |
|----------------------|---------------------------------------|--------|--------|---------|
|                      | 1 MOIS                                | 3 MOIS | 6 MOIS | 12 MOIS |
| ↑ P1NP<br>> 10 µg/ml | 93 %                                  | 87 %   | 83 %   | 82 %    |
| ↑ DMO-CL<br>≥ 3 %    | ND                                    | 67 %   | 88 %   | 94 %    |

Source : Tsujimoto *et al.*, 2011.

Abréviations : DMO-CL : densité minérale osseuse à la colonne lombaire; ND : non déterminé.

#### 4.3.3 Ostéoporose et traitement à la téraparatide comparativement à l'alendronate

Burshell et ses collaborateurs [2010] ont analysé la relation entre les changements précoces des marqueurs osseux (dont le P1NP) et la DMO à 18 mois chez les patients souffrant d'ostéoporose secondaire aux glucocorticoïdes, traités à la téraparatide (n = 80; 20 µg/jour) ou à l'alendronate (n = 77; 10 mg/jour). Dans le groupe téraparatide, le changement de P1NP à 1 et 6 mois a été corrélé de façon significative (p < 0,05) avec l'augmentation de la DMO à la colonne lombaire et au col fémoral. Dans le groupe alendronate, une corrélation négative significative a été observée au niveau du col fémoral (tableau 14). Chez ces patients, les changements des marqueurs osseux (P1NP inclus) avec la téraparatide et l'alendronate allaient dans des directions opposées. Les mécanismes d'action des deux molécules sont différents : la téraparatide est un agent anabolisant, avec lequel on s'attend à une augmentation des valeurs plasmatiques du P1NP, tandis que l'alendronate est un agent antirésorptif, avec lequel on s'attend à une diminution du P1NP. En résumé, pour les deux traitements, les changements précoces de certains marqueurs ont été corrélés avec une augmentation de la DMO à 18 mois chez les patients avec ostéoporose secondaire aux glucocorticoïdes [Burshell *et al.*, 2010].

**Tableau 14 Corrélation (r) entre les changements de P1NP et la densité minérale osseuse à 18 mois, selon les groupes de thérapies.**

| VARIATION DE P1NP | ALENDRONATE |        | TÉRIPARATIDE |        |
|-------------------|-------------|--------|--------------|--------|
|                   | DMO- CL     | DMO-CF | DMO-CL       | DMO-CF |
| Dosage initial    | 0,02        | 0,44*  | 0,14         | 0,03   |
| 1 mois            | 0,02        | -0,30* | 0,33*        | 0,34*  |
| 6 mois            | -0,13       | -0,34* | 0,23*        | 0,30*  |

Source : Burshell *et al.*, 2010.

Abréviations : DMO-CF : densité minérale osseuse au col fémoral; DMO-CL : densité minérale osseuse à la colonne lombaire. r : coefficient de corrélation Spearman. \*p <0,05

#### 4.3.5 Maladie osseuse de Paget et traitement avec les bisphosphonates

Al Nofal et ses collaborateurs [2015] ont publié une revue systématique avec méta-analyse dont l'objectif principal était d'évaluer l'utilité des marqueurs osseux dans l'évaluation de l'activité de la maladie osseuse de Paget, avant et après le traitement avec les bisphosphonates. Ainsi, la corrélation entre les niveaux sériques de marqueurs osseux, dont le P1NP, avec la scintigraphie osseuse (qui est l'étalon-or d'estimation de l'activité de cette maladie) a été évaluée. Parmi les 18 études retenues, l'utilité des marqueurs osseux chez les patients avec maladie de Paget a été évaluée :

- Avant l'initiation du traitement (7 études);
- Avant et sur toute la durée du traitement (6 études);
- Après l'arrêt du traitement (5 études).

Considérant les mesures effectuées avant l'initiation du traitement, une corrélation avec les observations en scintigraphie variant de modérée à forte a été observée pour tous les marqueurs osseux. Seules les données pour le P1NP et la phosphatase alcaline osseuse (PAo) et totale (PA<sub>t</sub>) sont présentées au tableau 15. Suivant l'initiation du traitement avec les bisphosphonates, une diminution significative des niveaux de tous les marqueurs osseux a été mesurée; le P1NP et la PAo étant les marqueurs avec la diminution la plus significative. Cependant, toujours après l'initiation du traitement, seul le niveau de P1NP continue de montrer une corrélation élevée avec les mesures effectuées par la scintigraphie osseuse (tableau 15). En conclusion, l'activité de la maladie est mieux évaluée avec le P1NP, avant et après la thérapie aux bisphosphonates. Cependant, si le P1NP n'est pas disponible, d'autres marqueurs tels que la PA<sub>t</sub> (considérant une diminution de la précision chez les patients avec une maladie hépatique) peuvent le remplacer dans le suivi des patients avec la maladie de Paget [Al Nofal *et al.*, 2015].

**Tableau 15** Corrélation entre les niveaux de différents marqueurs de la formation osseuse et les données de scintigraphie obtenues avant et après l'initiation d'un traitement avec les bisphosphonates chez les patients atteints de la maladie osseuse de Paget.

| MARQUEUR DE FORMATION OSSEUSE | PATIENTS (N) | CORRÉLATION (r)                  |                                  |
|-------------------------------|--------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                               |              | Avant l'initiation du traitement | Après l'initiation du traitement |
| PAo                           | 70           | 0,75 (0,62 – 0,84); p < 0,001    | 0,24 (0,00 – 0,46); p = 0,047    |
| P1NP                          | 221/70       | 0,76 (0,69 – 0,81); p < 0,001    | 0,70 (0,56 – 0,81); p < 0,001    |
| PAT                           | 190/110      | 0,62 (0,52 – 0,70); p < 0,001    | 0,43 (0,30 – 0,75); p < 0,001    |

Source : Al Nofal *et al.*, 2015.

Abréviations : N : nombre; P1NP : propeptide N-terminal du procollagène de type1; PAo : phosphatase alcaline osseuse; PAT : phosphatase alcaline totale; r : coefficient de corrélation de Spearman.

## 4.4 Validité analytique

### 4.4.1 Données publiées

L'étude primaire de Blumsohn [2011] présente des données concernant la fiabilité et la reproductibilité de différents marqueurs du métabolisme osseux, dont le P1NP mesuré par ECLIA [Blumsohn *et al.*, 2011]. Pour ce faire, le ratio signal-to-noise (S/N) a été déterminé en utilisant des mesures effectuées en duplicata chez 83 patients traités avec la téraparotide. Concernant le P1NP, la PAo et la PAT, les ratios S/N étaient de 12,4, 8,0 et 4,2, respectivement. Les coefficients de corrélation calculés entre les valeurs mesurées à intervalles de 3 à 14 jours étaient les suivants : P1NP (0,983), PAo (0,988) et PAT (0,972).

Garnero et ses collaborateurs [2008] ont évalué la performance analytique de l'essai automatisé (Elecsys 2010 de Roche) pour la mesure de P1NP sérique total. Les principaux résultats sont les suivants :

#### Précision et sensibilité :

Variabilité intra essai : 20 mesures effectuées sur 4 échantillons (concentration moyenne de P1NP : 35,1; 64,1; 108,3; et 147,1 µg/L), coefficients de variation (CV) = 1,17 %; 1,70 %; 1,00 %; et 1,27 %, respectivement.

Variabilité inter essai : 15 mesures effectuées sur 6 échantillons (concentrations moyennes de P1NP : 27,6; 62,7; 105,0; 153,7; 231,3; et 285,5 µg/L), CV = 2,70 %; 2,91 %; 2,53 %; 2,72 %; 2,00 %; et 4,41 %, respectivement.

Limite inférieure de détection (Lower limit of detection – LOD) : calculée comme étant la concentration qui se situe à 3 écarts-types du point de calibration le moins concentré, c'est-à-dire dans ce cas-ci, < 5 µg/L.

Limite inférieure de quantification (Lower limit of quantification – LLOQ) : définie comme étant la concentration de P1NP la plus faible pouvant être mesurée dans le sérum humain avec justesse et où l'erreur sur la précision est inférieure à 20 %, c'est-à-dire dans ce cas-ci, < 9,2 µg/L.

**Test de dilution** : 3 échantillons de concentration connue (63,6; 159,0; et 229,0 µg/L) ont été dilués 1:2; 1:4; 1:8 et 1:16. Le dosage des échantillons dilués a permis de recouvrir les

concentrations connues dans des proportions variant de 89 % à 118 %, à l'exception des dilutions 1:8 et 1:16 de l'échantillon de plus faible concentration (63,6 µg/L), lesquelles se situaient sous la LLOQ.

**Test de recouvrement** : deux quantités connues de P1NP (24,5 µg/L et 148,0 µg/L) ont été ajoutées à des échantillons de concentration connue (31,8; 79,3; et 114,0 µg/L). Le dosage des échantillons additionnés a permis de recouvrir les concentrations attendues dans des proportions variant entre 94 % et 103 %.

**Stabilité des échantillons** : les échantillons de sérum dédiés au dosage de P1NP ont été démontrés stables pendant 5 jours d'incubation autant à 4 °C qu'à température ambiante. Aucune variation significative de concentration n'a été mesurée suite à un entreposage de 24 mois à -18 °C ou de 19 mois à -70 °C. Trois échantillons de concentration connue (63,2; 157,7; et 235,0 µg/L) ont subi 4 cycles de gel-dégel. Les concentrations mesurées par rapport aux valeurs initiales connues ont varié entre -0,4 % et +0,6 %.

La **variation intra-individuelle** d'un dosage automatisé du P1NP sérique a été étudiée sur une période de 3 mois auprès de 15 femmes préménopausées non traitées. La concentration moyenne initiale ( $\pm$  écart-type) a été établie à 60,5 ( $\pm$  22,9) µg/L. La médiane de variation intra individuelle a été établie à 7,2 % (25<sup>e</sup> et 75<sup>e</sup> percentiles : 5,3 % et 13,9 %, respectivement) [Garnero *et al.*, 2008].

#### 4.4.2 Performances analytiques selon les spécifications de la trousse Total P1NP

Toutes les informations ont été prises intégralement dans le manuel de la trousse fourni par le demandeur (2015-06, V 11.0 Français).

##### Précision

La précision a été déterminée à l'aide de réactifs Elecsys<sup>MC</sup>, d'échantillons et de contrôles, selon un protocole (EP5-A2) du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Chaque échantillon a été dosé en double dans 2 séries par jour pendant 21 jours (n = 84). Les résultats suivants ont été obtenus :

| ANALYSEURS ELECSYS <sup>MC</sup> 2010 ET COBAS <sup>MC</sup> E 411 |                |                   |        |                         |        |
|--------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------|--------|-------------------------|--------|
| Échantillon                                                        | Moyenne (µg/L) | RÉPÉTABILITÉ      |        | PRÉCISION INTERMÉDIAIRE |        |
|                                                                    |                | Écart-type (µg/L) | CV (%) | Écart-type (µg/L)       | CV (%) |
| Sérum humain 1                                                     | 12,8           | 0,340             | 2,6    | 0,531                   | 4,1    |
| Sérum humain 2                                                     | 57,2           | 1,04              | 1,8    | 1,34                    | 2,3    |
| Sérum humain 3                                                     | 527            | 6,93              | 1,3    | 11,7                    | 2,2    |
| Sérum humain 4                                                     | 33,4           | 0,891             | 2,7    | 0,960                   | 2,9    |
| Sérum humain 5                                                     | 1140           | 34,1              | 3,0    | 37,6                    | 3,3    |
| PreciControl Varia1                                                | 30,5           | 0,488             | 1,6    | 0,629                   | 2,1    |
| PreciControl Varia2                                                | 166            | 2,06              | 1,2    | 2,83                    | 1,7    |

### **Spécificité analytique**

Une réaction croisée < 1 % a été observée avec les analytes suivants:  $\beta$ -CrossLaps (CTX), N-MID ostéocalcine, hormone parathyroïdienne et 25-OH vitamine D.

### **Limites d'utilisation - interférences**

Le test n'est pas influencé par l'ictère (bilirubine < 1 112  $\mu\text{mol/L}$  ou < 65 mg/dL), l'hémolyse (Hb < 0,062 mmol/L ou < 0,1 g/dL).

La lipémie (Intralipid < 30,8 mmol/L ou < 2 000 mg/dL) et la biotine < 205 nmol/L ou < 50 ng/mL ne gênent pas la réaction.

Critère d'acceptabilité: Recouvrement  $\pm$  10 % de la valeur initiale.

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.

Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à une concentration de 2 490 UI/ml.

Aucun effet crochet n'a été observé jusqu'à des concentrations en P1NP de 3 900  $\mu\text{g/L}$ .

L'influence de 28 médicaments fréquemment administrés a été recherchée in vitro: aucune interférence n'a été observée.

L'influence de médicaments communément administrés dans le traitement de l'ostéoporose tels que l'ibandronate, le risédronate et l'alendronate, les préparations à base d'estrogène (THS), de même que le calcium et la vitamine D a été testée: aucune interférence n'a été observée.

Il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun et il n'y a pas de grande variation au cours du cycle circadien [Brown *et al.*, 2009].

Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps dirigés contre des anticorps spécifiques de l'analyte, des anticorps anti-streptavidine ou anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences.

### **Limites et intervalles**

#### **Domaine de mesure**

Entre 5 et 1 200  $\mu\text{g/L}$  (défini par la limite inférieure de détection et le maximum de la courbe de référence).

#### **Limites inférieures de mesure**

Limite inférieure de détection du test : < 5 ng/mL ( $\mu\text{g/L}$ )

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et représente la concentration du standard la plus faible de la courbe de référence + 2 écarts-type (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, répétabilité, n = 21).

#### **Dilution**

Les échantillons présentant une concentration en P1NP située au-dessus du domaine de mesure peuvent être dilués avec Diluent Universal<sup>IMC</sup>. Rapport de dilution recommandé: 1/2.

La concentration de l'échantillon dilué doit être > 100 µg/L (ng/mL).

### Valeurs de référence

Les taux de P1NP ont été déterminés dans le sérum de 573 femmes saines volontaires ayant participé à une étude sur les déterminants de la perte osseuse (OFELY) [Garnero *et al.*, 2000]. Les résultats suivants ont été obtenus (µg/L ou ng/mL):

|                              | POSTMÉNOPAUSE |           |          | PRÉMÉNOPAUSE |
|------------------------------|---------------|-----------|----------|--------------|
|                              | Tous          | sous THS* | Sans THS | Tous         |
| N                            | 444           | 154       | 290      | 129          |
| 5 <sup>ème</sup> percentile  | 16,27         | 14,28     | 20,25    | 15,13        |
| Médiane                      | 37,09         | 28,48     | 42,94    | 27,80        |
| Moyenne                      | 40,43         | 31,74     | 45,05    | 30,10        |
| 95 <sup>ème</sup> percentile | 73,87         | 58,92     | 76,31    | 58,59        |

\* THS = traitement hormonal de substitution

## 4.5 Données fournies par le demandeur

Voir l'annexe B

## 5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (P1NP) par ECLIA.

L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 16 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Selon le demandeur, en incluant le secteur privé, entre 1 000 et 5 000 analyses sont prévues pour le Québec au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*.
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.
- Selon les statistiques de facturation de la RAMQ, près de 1 000 personnes reçoivent de la téraparatide annuellement, et ce, depuis 2012 (annexe C).
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 23,99.

**Tableau 16 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du P1NP**

|                                    | AN 1                               | AN 2      | AN 3      | TOTAL      |
|------------------------------------|------------------------------------|-----------|-----------|------------|
| Nombre d'analyses anticipées       | 1 750                              | 2 250     | 2 750     | 7 000      |
| Coûts si introduction de l'analyse | 41 983 \$                          | 53 978 \$ | 65 973 \$ | 161 934 \$ |
| Analyses de sensibilité            | Pour 3 ans, coûts les plus faibles |           |           | 143 940 \$ |
|                                    | Pour 3 ans, coûts les plus élevés  |           |           | 287 880 \$ |

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse permettant le dosage du P1NP par ECLIA au *Répertoire* sont estimés à un total de 161 934 \$ pour les trois premières années. Les analyses de sensibilité présentées sont principalement influencées par le nombre d'analyses anticipées annuellement.

En considérant que le dosage du P1NP pourrait être complémentaire à l'analyse du C-télopeptide, les coûts présentés plus haut s'ajoutent aux coûts de cette analyse qui sont présentés à la section 3.6 du présent avis. Par ailleurs, il est anticipé que le dosage du P1NP pourrait remplacer l'analyse de l'ostéocalcine selon une volumétrie minimalement équivalente à celle attendue pour l'analyse du P1NP. Ainsi, une réduction des coûts en analyse de l'ostéocalcine estimée à 57 375 \$ est envisagée pour les trois premières années suivant l'ajout du dosage du P1NP au *Répertoire*.

## 6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le P1NP est perçu par les experts dans la communauté « osseuse » comme étant supérieur à l'ostéocalcine en tant que mesure de la formation osseuse (plus stable, pas de variation diurne, etc.). Il est certain que, si disponible, celui-ci sera privilégié et que le nombre de dosages augmentera rapidement alors que celui de l'ostéocalcine diminuera de façon parallèle. Il n'y a aucun avantage à mesurer les 2 marqueurs, ni pour l'ostéoporose, ni pour la maladie de Paget.

Pour la maladie osseuse de Paget, cette mesure sera privilégiée par rapport à la phosphatase alcaline totale. Par contre, cette maladie est assez rare, donc l'impact sur les demandes au service de laboratoire sera moindre que pour l'ostéoporose.

Les experts consultés de même que la littérature confirment que l'utilité du P1NP est fortement reliée au monitoring de l'efficacité du Fortéo<sup>MC</sup>, le seul agent anabolique actuellement disponible sur le marché. Toutefois, les cliniciens utilisent aussi le test pour évaluer l'observance des patients au traitement. En effet, les médecins qui traitent l'ostéoporose n'ont que la densité minérale osseuse à deux ans pour montrer au patient que le traitement fonctionne, ce qui s'avère souvent abstrait. Les cliniciens utilisent donc le résultat du P1NP à 1 mois pour évaluer l'observance du traitement et pour motiver le patient à le poursuivre<sup>11</sup>.

## 7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Le groupe de travail multidisciplinaire du Conseil consultatif scientifique d'Ostéoporose Canada a proposé un algorithme dans lequel il est indiqué que la mesure du P1NP devrait être faite au début du traitement et après 3 à 6 mois afin de documenter la réponse au traitement et d'évaluer l'observance thérapeutique [Brown *et al.*, 2009].

L'European Society for Clinical and Economic Evaluation of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) en collaboration avec l'International Osteoporosis Foundation (IOF) recommande le suivi des patientes sous une thérapie anti-ostéoporotique à l'aide des marqueurs du métabolisme osseux. Selon l'organisation, le P1NP serait un des marqueurs les plus informatifs pour l'investigation de l'ostéoporose [Kanis et Reginster, 2008].

Le National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) a produit et a mis à jour en 2013 des Lignes directrices pour le diagnostic et la prise en charge de l'ostéoporose chez les femmes ménopausées et les hommes de 50 ans et plus au Royaume-Uni. Le dosage des marqueurs du métabolisme osseux (sans plus de détail) est mentionné comme étant une des

---

<sup>11</sup> Communications téléphoniques personnelles avec Dre Claudia Gagnon, médecin spécialiste en endocrinologie et métabolisme au CHU de Québec (13 mai 2016).

procédures pouvant être utilisées dans l'investigation de l'ostéoporose, mais les auteurs ne l'incluent pas dans la liste des procédures de routine [Compston *et al.*, 2013].

Le comité de la Japan Osteoporosis Society a émis en 2012 les lignes directrices japonaises pour la prévention et le traitement de l'ostéoporose, qui indiquent que le P1NP sérique doit être mesuré tous les 6 à 12 mois pour une période maximale de 24 mois de traitement à la tériparatide. Également, chez les patients sous traitement aux bisphosphonates à long terme, le P1NP ou la PAo, comme marqueurs de formation osseuse, et les marqueurs de résorption osseuse doivent être mesurés pour le suivi des patients. De plus, les marqueurs osseux doivent être mesurés pendant au moins 6 mois après l'arrêt du traitement aux bisphosphonates [Orimo *et al.*, 2012].

L'International Osteoporosis Foundation (IOF) et l'International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) ont recommandé le P1NP et le CTx sériques (C-terminal télopeptide du collagène type 1) comme marqueurs de référence du métabolisme osseux dans les essais cliniques afin de comparer leur performance [Vasikaran *et al.*, 2011].

## 8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Le marqueur de la formation osseuse P1NP peut prédire de façon précoce la réponse aux traitements anti-ostéoporotiques, les changements de densité minérale osseuse (DMO) et le risque de fractures (surtout vertébrales) après une ou plusieurs années de thérapie.

Pour la maladie de Paget, les concentrations sériques du P1NP sont très bien corrélées avec l'activité de la maladie (comparées aux résultats de la scintigraphie osseuse) et avec la réponse aux bisphosphonates. Il présente une bonne fiabilité dans sa capacité de prédire les changements de la DMO après 12 ou 24 mois de traitement.

Le P1NP a été identifié comme un des marqueurs les plus sensibles relativement à sa capacité de prédire des changements de la DMO comparativement à d'autres marqueurs de la formation osseuse couramment utilisés comme la phosphatase alcaline osseuse et totale.

L'augmentation de son niveau sérique de  $>10 \mu\text{g/L}$ , un mois après l'initiation du traitement à la tériparatide, prédit l'augmentation de la DMO lombaire et au col fémoral après 12 ou 24 mois de traitement.

Bien qu'une corrélation appropriée entre la concentration sérique de P1NP et les changements de la DMO ait été établie, il n'y a pas de cible sérique à atteindre relativement au monitoring de P1NP à court terme et l'efficacité thérapeutique traduite par la réduction du risque de fractures de fragilisation à long terme.

Dans certaines études, les données montrent que le dosage du P1NP est un marqueur de remplacement de la DMO chez les hommes avec ostéoporose secondaire ou les femmes avec ostéoporose sévère sous tériparatide.

L'approche proposée par le demandeur pour effectuer le dosage du P1NP a été démontrée fiable et robuste par des études externes. Les récentes lignes directrices consultées incluent le dosage du P1NP dans le suivi thérapeutique de l'ostéoporose et l'évaluation du risque de fractures.

## 9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

### Dosage du propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (P1NP)

#### La recommandation de l'INESSS

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

#### Précisions accompagnant la recommandation

Les membres du comité reconnaissent l'utilité de l'analyse du point de vue clinique pour la population traitée avec la tériparatide. Toutefois, l'absence de données provenant de spécimens cliniques dont le dosage a été réalisé localement a été soulevée.

Les études de reproductibilité devraient être réalisées avec des échantillons de patients et la mesure de la sensibilité et spécificité devrait être réalisée à l'aide d'échantillons testés par un autre laboratoire clinique déjà reconnu/accrédité pour la réalisation de cette analyse.

Advenant une introduction ultérieure du test au *Répertoire*, un suivi prospectif du nombre d'analyses est recommandé.

# ANNEXE A

## Caractéristiques des 3 marqueurs sériques de la formation osseuse

|                                       | <b>Phosphatase alcaline osseuse</b>                                                                                | <b>P1NP sérique</b>                                                                                                                         | <b>Ostéocalcine sérique</b>                                     |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Intervalle analytique                 | 0,1-120 µg/L                                                                                                       | 5-1200 µg/L                                                                                                                                 | 0,5-300 µg/L                                                    |
| Intervalle de référence pré-ménopause | 4,5-15,7                                                                                                           | 16,2-60,9                                                                                                                                   | 11-43                                                           |
| CV intra-individuel*                  | 6,2 %                                                                                                              | 6,8 %                                                                                                                                       | 7,2 %                                                           |
| CV inter-essai**                      | 3,6 - 6,4 %                                                                                                        | 2,1 - 4,5 %                                                                                                                                 | 1,1 - 6,5 %                                                     |
| Facteurs de variabilité analytique    | Réactivité croisée avec les formes hépatiques de PA, surtout si le patient présente une maladie hépatique          | Sa concentration peut être influencée par les dysfonctions hépatiques; Non affecté par les dysfonctions rénales                             | Sa concentration est affectée par les dysfonctions rénales      |
| Inconvénients                         | Présence de maladies hépatiques                                                                                    | Présence de maladies hépatiques<br>Coût élevé                                                                                               | Fragilité des échantillons<br>Présence de dysfonctions rénales. |
| Avantages                             | Non influencée par dysfonctions rénales<br>Stabilité des échantillons, variation diurne très basse;<br>Coût faible | Non influencée par dysfonctions rénales<br>Stabilité des échantillons<br>Pas influencée par la prise d'aliments,<br>Peu de variation diurne | Pas influencée par la prise d'aliments<br>Coût faible           |

Sources : Ebina *et al.*, 2015; Atalay *et al.*, 2012; Aonuma *et al.*, 2009; Brown *et al.*, 2009.

\*Rapportés par le fabricant; \*\* intervalles déterminés par le fabricant

# ANNEXE B

## Contrôles du demandeur

### Contrôles du 24 avril 2012

- 1) échantillon plasmatique S122-1A : [Cible] : 2566 µg/L; [Mesurée] : > 2400 µg/L ;  
Variance : 0<sup>12</sup>
- 2) échantillon sérique normal S122-1B : [Cible] : 15,17 µg/L; [Mesurée] : 16,96 µg/L;  
Variance : +47

### Contrôles du 19 juin 2012

- 1) échantillon sérique normal S123-1A : [Cible] : 15,03 µg/L; [Mesurée] : 12,37 µg/L;  
Variance : -71
- 2) échantillon sérique normal S123-1B : [Cible] : 15,05 µg/L; [Mesurée] : 12,92 µg/L;  
Variance : -57

### Contrôles du 14 août 2012

- 1) échantillon sérique normal S124-1A : [Cible] : 13,60 µg/L; [Mesurée] : 12,43 µg/L;  
Variance : -34
- 2) échantillon sérique normal S124-1B : [Cible] : 13,45 µg/L; [Mesurée] : 11,74 µg/L;  
Variance : -51

### Contrôles du 09 octobre 2012

- 1) échantillon sérique normal S125-1A : [Cible] : 11,75 µg/L; [Mesurée] : 11,68 µg/L;  
Variance : -2
- 2) échantillon sérique normal S125-1B : [Cible] : 11,76 µg/L; [Mesurée] : 11,54 µg/L;  
Variance : -8

### Contrôles du 04 décembre 2012

- 1) échantillon sérique normal S126-1A : [Cible] : 11,23 µg/L; [Mesurée] : 11,93 µg/L;  
Variance : +25
- 2) échantillon sérique normal S126-1B : [Cible] : 11,14 µg/L; [Mesurée] : 11,79 µg/L;  
Variance : +23

### Contrôles du 23 avril 2013

- 1) échantillon sérique S132-1A : [Cible] 109,90 µg/L; [Mesurée] : 110,3 µg/L ; Variance : +1
- 2) échantillon sérique normal S132-1B : [Cible] : 20,11 µg/L; [Mesurée] : 15,01 µg/L; Variance : -  
101

---

<sup>12</sup> Légende interprétation variance : 0-50 : Idéal; 51-100 : Bon; 101-200 : Adéquat; 200 et + : Faible

#### Contrôles du 18 juin 2013

- 1) échantillon sérique normal S133-1A : [Cible] : 15,19 µg/L; [Mesurée] : 15,32 µg/L;  
Variance : +3
- 2) échantillon sérique normal S133-1B : [Cible] : 14,86 µg/L; [Mesurée] : 16,34 µg/L;  
Variance : +40

#### Contrôles du 18 août 2013

- 1) échantillon sérique normal S134-1A : [Cible] : 22,92 µg/L; [Mesurée] : 28,77 µg/L;  
Variance : +102
- 2) échantillon sérique normal S134-1B : [Cible] : 18,83 µg/L; [Mesurée] : 23,51 µg/L;  
Variance : +99

#### Contrôles du 08 octobre 2013

- 1) échantillon sérique normal S135-1A : [Cible] : 23,63 µg/L; [Mesurée] : 24,12 µg/L;  
Variance : +8
- 2) échantillon sérique normal S135-1B : [Cible] : 20,06 µg/L; [Mesurée] : - µg/L;  
Variance : -

#### Contrôles du 03 décembre 2013

- 1) échantillon sérique normal S136-1A : [Cible] : 56,49 µg/L; [Mesurée] : 54,9 µg/L;  
Variance : -11
- 2) échantillon sérique normal S136-1B : [Cible] : 23,66 µg/L; [Mesurée] : 23,92 µg/L;  
Variance : +4

#### Contrôles du 22 avril 2014

- 1) échantillon sérique normal S142-1A : [Cible] : 25,66 µg/L; [Mesurée] : 30,92 µg/L;  
Variance : +82
- 2) échantillon sérique normal S142-1B : [Cible] : 18,75 µg/L; [Mesurée] : 24,89 µg/L;  
Variance : +131

#### Contrôles du 17 juin 2014

- 1) échantillon sérique normal S143-1A : [Cible] : 17,11 µg/L; [Mesurée] : 24,64 µg/L;  
Variance : +176
- 2) échantillon sérique normal S143-1B : [Cible] : 16,77 µg/L; [Mesurée] : 24,53 µg/L;  
Variance : +185

#### Contrôles du 12 août 2014

- 1) échantillon sérique normal S144-1A : [Cible] : 16,64 µg/L; [Mesurée] : 17,75 µg/L;  
Variance : +27
- 2) échantillon sérique normal S144-1B : [Cible] : 16,59 µg/L; [Mesurée] : 17,29 µg/L;  
Variance : +17

Contrôles du 07 octobre 2014

- 1) échantillon sérique normal S145-1A : [Cible] : 60,66 µg/L; [Mesurée] : 60,07 µg/L;  
Variance : -4
- 2) échantillon sérique normal S145-1B : [Cible] : 16,99 µg/L; [Mesurée] : 15,99 µg/L;  
Variance : -24

Contrôles du 02 décembre 2014

- 1) échantillon sérique normal S146-1A : [Cible] : 14,81 µg/L; [Mesurée] : 16,02 µg/L;  
Variance : +33
- 2) échantillon sérique normal S146-1B : [Cible] : 16,37 µg/L; [Mesurée] : 16,36 µg/L;  
Variance : 0

Contrôles du 03 mars 2015

- 1) échantillon sérique normal S151-1A : [Cible] : 17,20 µg/L; [Mesurée] : 15,38 µg/L;  
Variance : -42
- 2) échantillon sérique normal S151-1B : [Cible] : 41,96 µg/L; [Mesurée] : 41,98 µg/L;  
Variance : 0

Contrôles du 28 avril 2015

- 1) échantillon sérique normal S152-1A : [Cible] : 25,45 µg/L; [Mesurée] : 22,38 µg/L;  
Variance : -48
- 2) échantillon sérique normal S152-1B : [Cible] : 19,12 µg/L; [Mesurée] : 15,34 µg/L;  
Variance : -79

Contrôles du 23 juin 2015

- 1) échantillon sérique normal S153-1A : [Cible] : 40,13 µg/L; [Mesurée] : 41,01 µg/L;  
Variance : + 9
- 2) échantillon sérique normal S153-1B : [Cible] : 12,76 µg/L; [Mesurée] : 12,72 µg/L;  
Variance : -1

Contrôles du 18 août 2015

- 1) échantillon sérique normal S154-1A : [Cible] : 28,82 µg/L; [Mesurée] : 29,95 µg/L;  
Variance : + 16
- 2) échantillon sérique normal S154-1B : [Cible] : 34,26 µg/L; [Mesurée] : 35,72 µg/L;  
Variance : +17

Contrôles du 13 octobre 2015

- 1) échantillon sérique normal S155-1A : [Cible] : 26,75 µg/L; [Mesurée] : 28,11 µg/L;  
Variance : + 20
- 2) échantillon sérique normal S155-1B : [Cible] : 53,28 µg/L; [Mesurée] : 55,09 µg/L;  
Variance : +14

#### Contrôles du 08 décembre 2015

- 1) échantillon sérique normal S156-1A : [Cible] : 26,55 µg/L; [Mesurée] : 28,55 µg/L;  
Variance : + 30
- 2) échantillon sérique normal S156-1B : [Cible] : 51,50 µg/L; [Mesurée] : 53,87 µg/L;  
Variance : +18

#### Contrôles du 01 mars 2016

- 1) échantillon sérique normal S161-1A : [Cible] : 28,99 µg/L; [Mesurée] : 34,23 µg/L;  
Variance : + 72
- 2) échantillon sérique normal S161-1B : [Cible] : 35,49 µg/L; [Mesurée] : 40,98 µg/L;  
Variance : +62

## ANNEXE C

Nombre annuel de patients sous traitement à la téraparatide selon les données de la Régie de l'assurance maladie du Québec

| <b>Années</b> | <b>*Patients d'exception</b> | <b>**Médicaments d'exception</b> | <b>Total</b> |
|---------------|------------------------------|----------------------------------|--------------|
| 2010          | 479                          | 234                              | 713          |
| 2011          | 416                          | 442                              | 858          |
| 2012          | 516                          | 509                              | 1 025        |
| 2013          | 604                          | 464                              | 1 068        |
| 2014          | 590                          | 373                              | 963          |
| 2015          | 608                          | 331                              | 939          |

\*Patients d'exception : femmes pré ménopausées avec ostéoporose ou homme avec ostéoporose recevant de la téraparatide;

\*\*téraparatide, médicament d'exception : il est indiqué seulement pour les femmes ménopausées avec ostéoporose fracturaire et qui présentent une réponse inadéquate à la prise continue d'un bisphosphonate (ou de raloxifène, si le bisphosphonate est contre-indiqué), c'est-à-dire qui présentent les caractéristiques suivantes : nouvelle fracture de fragilisation, malgré la thérapie antirésorptive pendant au moins 12 mois ou une diminution significative de la densité minérale osseuse par rapport au début de la thérapie, malgré la prise continue antirésorptive pendant au moins 24 mois.

## RÉFÉRENCES

- Al Nofal AA, Altayar O, BenKhadra K, Qasim Agha OQ, Asi N, Nabhan M, et al. Bone turnover markers in Paget's disease of the bone: A systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 2015;26(7):1875-91.
- Aonuma H, Miyakoshi N, Hongo M, Kasukawa Y, Shimada Y. Low serum levels of undercarboxylated osteocalcin in postmenopausal osteoporotic women receiving an inhibitor of bone resorption. *Tohoku J Exp Med* 2009;218(3):201-5.
- Atalay S, Elci A, Kayadibi H, Onder CB, Aka N. Diagnostic utility of osteocalcin, undercarboxylated osteocalcin, and alkaline phosphatase for osteoporosis in premenopausal and postmenopausal women. *Ann Lab Med* 2012;32(1):23-30.
- Bauer DC, Garnero P, Hochberg MC, Santora A, Delmas P, Ewing SK, Black DM. Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: The fracture intervention trial. *J Bone Miner Res* 2006;21(2):292-9.
- Berger C, Goltzman D, Langsetmo L, Joseph L, Jackson S, Kreiger N, et al. Peak bone mass from longitudinal data: Implications for the prevalence, pathophysiology, and diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2010;25(9):1948-57.
- Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;356(18):1809-22.
- Blumsohn A, Marin F, Nickelsen T, Brixen K, Sigurdsson G, Gonzalez de la Vera J, et al. Early changes in biochemical markers of bone turnover and their relationship with bone mineral density changes after 24 months of treatment with teriparatide. *Osteoporos Int* 2011;22(6):1935-46.
- Brown JP, Albert C, Nassar BA, Adachi JD, Cole D, Davison KS, et al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem* 2009;42(10-11):929-42.
- Burch J, Rice S, Yang H, Neilson A, Stirk L, Francis R, et al. Systematic review of the use of bone turnover markers for monitoring the response to osteoporosis treatment: The secondary prevention of fractures, and primary prevention of fractures in high-risk groups. *Health Technol Assess* 2014;18(11):1-180.
- Burshell AL, Moricke R, Correa-Rotter R, Chen P, Warner MR, Dalsky GP, et al. Correlations between biochemical markers of bone turnover and bone density responses in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis treated with teriparatide or alendronate. *Bone* 2010;46(4):935-9.
- Chen P, Satterwhite JH, Licata AA, Lewiecki EM, Sipos AA, Misurski DM, Wagman RB. Early changes in biochemical markers of bone formation predict BMD response to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2005;20(6):962-70.
- Compston J, Bowring C, Cooper A, Cooper C, Davies C, Francis R, et al. Diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and older men in the UK: National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) update 2013. *Maturitas* 2013;75(4):392-6.

- Delmas PD, Munoz F, Black DM, Cosman F, Boonen S, Watts NB, et al. Effects of yearly zoledronic acid 5 mg on bone turnover markers and relation of PINP with fracture reduction in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2009;24(9):1544-51.
- Ebina K, Hashimoto J, Shi K, Kashii M, Hirao M, Yoshikawa H. Undercarboxylated osteocalcin may be an attractive marker of teriparatide treatment in RA patients: Response to Mokuda. *Osteoporos Int* 2015;26(4):1445.
- Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: The OFELY study. *J Bone Miner Res* 2000;15(8):1526-36.
- Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 2008;54(1):188-96.
- Kanis JA et Reginster JY. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women – What is the current message for clinical practice? *Pol Arch Med Wewn* 2008;118(10):538-40.
- Miller PD, Delmas PD, Lindsay R, Watts NB, Luckey M, Adachi J, et al. Early responsiveness of women with osteoporosis to teriparatide after therapy with alendronate or risedronate. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(10):3785-93.
- Morissette J, Laurin N, Brown JP. Sequestosome 1: Mutation frequencies, haplotypes, and phenotypes in familial Paget's disease of bone. *J Bone Miner Res* 2006;21(Suppl 2):P38-44.
- Niimi R, Kono T, Nishihara A, Hasegawa M, Matsumine A, Sudo A. Analysis of daily teriparatide treatment for osteoporosis in men. *Osteoporos Int* 2015;26(4):1303-9.
- Niimi R, Kono T, Nishihara A, Hasegawa M, Matsumine A, Nakamura T, Sudo A. An algorithm using the early changes in PINP to predict the future BMD response for patients treated with daily teriparatide. *Osteoporos Int* 2014;25(1):377-84.
- Orimo H, Nakamura T, Hosoi T, Iki M, Uenishi K, Endo N, et al. Japanese 2011 guidelines for prevention and treatment of osteoporosis—Executive summary. *Arch Osteoporos* 2012;7:3-20.
- Papaioannou A, Morin S, Cheung A, Atkinson S, Brown JP, Feldman SD, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: Background and technical report. Toronto, ON : Osteoporosis Canada; 2010. Disponible à : [http://www.osteoporosis.ca/multimedia/pdf/Osteoporosis\\_Guidelines\\_2010\\_Background\\_And\\_Technical\\_Report.pdf](http://www.osteoporosis.ca/multimedia/pdf/Osteoporosis_Guidelines_2010_Background_And_Technical_Report.pdf).
- Ralston SH, Binkley N, Boonen S, Kiel DP, Reginster JY, Roux C, et al. Randomized trial of alendronate plus vitamin D3 versus standard care in osteoporotic postmenopausal women with vitamin D insufficiency. *Calcif Tissue Int* 2011;88(6):485-94.
- Tarride JE, Hopkins RB, Leslie WD, Morin S, Adachi JD, Papaioannou A, et al. The burden of illness of osteoporosis in Canada. *Osteoporos Int* 2012;23(11):2591-600.
- Tsujimoto M, Chen P, Miyauchi A, Sowa H, Krege JH. PINP as an aid for monitoring patients treated with teriparatide. *Bone* 2011;48(4):798-803.

Vallet M et Ralston SH. Biology and treatment of Paget's disease of bone. *J Cell Biochem* 2016;117(2):289-99

Vasikaran S, Eastell R, Bruyere O, Foldes AJ, Garnero P, Griesmacher A, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: A need for international reference standards. *Osteoporos Int* 2011;22(2):391-420.

Yamamoto T, Taketsuna M, Guo X, Sato M, Sowa H. The safety and effectiveness profile of daily teriparatide in a prospective observational study in Japanese patients with osteoporosis at high risk for fracture: Interim report. *J Bone Miner Metab* 2014;32(6):699-708.

# ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE DU RÉCEPTEUR DE LA THYRÉOSTIMULINE (*TSHR*) PAR SÉQUENÇAGE (RÉFÉRENCE – 2014.01.008R)

Avis de réévaluation

## 1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 12 septembre 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 10 novembre 2016

### Mise en garde

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

### 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 propre.

Pour le présent avis, l'experte consultée est la D<sup>re</sup> Judith Simoneau-Roy, chef du service d'endocrinologie pédiatrique du CHUS, Hôpital Fleurimont.

### Avis de réévaluation

Le présent document est une réévaluation de l'avis transmis au ministre le 30 juin 2014. L'avis initial suggérait une réévaluation lorsque les données supplémentaires de validité clinique et technique seraient disponibles. La version originale de la demande incluait l'amplification multiplexe de sondes nucléiques dépendant des ligatures (MLPA – *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Cette technique a toutefois été retirée de la présente demande.

## 2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

### 2.1 Nom de l'analyse

Analyse mutationnelle du gène du récepteur de la thyroïde (*TSHR*) par séquençage.

### 2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Le test consiste en une analyse mutationnelle des régions codantes du gène *TSHR* par PCR et

séquençage bidirectionnel Sanger. L'analyse se déroulera en deux étapes, soit l'amplification et le séquençage de l'exon 10 du gène *TSHR* qui présente 95 % des mutations décrites et, si négatif, il y aura amplification des exons 1 à 9 suivi d'un séquençage.

L'algorithme d'analyse est présenté à l'annexe A.

La version originale de la demande incluait l'amplification multiplexe de sondes nucléiques dépendant des ligatures (MLPA - *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Le demandeur a retiré cette technique de l'algorithme d'analyse car les délétions de ce gène ne sont au final ni dispersées, ni fréquentes<sup>13</sup>.

### **2.3 Modalités d'administration du test**

Selon les informations transmises dans la demande, la trajectoire des échantillons sera différente en fonction de l'établissement demandeur. En général, 5 ml de sang seront prélevés dans un tube EDTA au centre de prélèvement de l'établissement demandeur. Cet échantillon sera envoyé au laboratoire central du CHU Sainte-Justine où l'ADN sera extrait et les analyses diagnostiques réalisées. Le rapport sera ensuite émis et envoyé au requérant. Le temps de réponse (phase analytique) attendu est de 2 à 4 semaines.

### **2.4 Société ou concepteur**

Analyse maison.

### **2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)**

Sans objet

### **2.6 Valeur pondérée :**

Exon 10 seulement : 199

Exons 1 à 9 : 265

Séquençage complet exons 1 à 10 : 315

## **3 CONTEXTE**

### **3.1 Patients ciblés**

L'analyse cible tous les nouveau-nés du Québec qui ont obtenu un résultat positif au dépistage néonatal sanguin de l'hypothyroïdie congénitale et qui présentent une anatomie thyroïdienne normale et une absence d'auto-immunité. Les critères d'inclusion et d'exclusion plus détaillés fournis par le centre demandeur sont présentés à l'annexe B.

### **3.2 Description de la maladie visée**

L'incidence de l'hypothyroïdie congénitale est approximativement de 1 : 3 000 à 4 000 naissances [Toublanc, 1992]. En l'absence d'un traitement précoce, des retards de croissance et des retards cognitifs irréversibles de même que des dommages neuromoteurs apparaîtront graduellement chez la majorité des nouveau-nés atteints d'hypothyroïdie congénitale [INSPQ, 2005]. La dysgénésie de la thyroïde, définie comme un problème de développement ou de la migration glandulaire, est responsable de 85 % des cas d'hypothyroïdie congénitale. Les 15 % restants sont reliés à un problème de synthèse des hormones thyroïdiennes (dys-hormonogénèse).

---

<sup>13</sup> Communication électronique personnelle avec Dr Jean-François Soucy, généticien médical au CHU Sainte-Justine (23 mars 2016).

Les cas d'hypothyroïdie congénitale visés par la présente demande sont dits sous-cliniques, c'est-à-dire que le tableau clinique correspond à une résistance à la thyroïdostimuline (TSH), une maladie génétique (OMIM #275200) caractérisée par [Beck-Peccoz *et al.*, 2006; Refetoff, 2003]:

- un niveau sérique de TSH plus élevé que la normale;
- un niveau sérique de thyroxine (T4) et de triiodothyronine (T3) normal ou réduit;
- une glande thyroïde de taille normale ou légèrement hypoplasique;
- l'absence d'auto-anticorps thyroïdiens (exemples : anti-T3, anti-T4, anti-TSH).

Les mutations du gène *TSHR* mènent à une perte variable de sa fonction et sont responsables de la résistance à la TSH. En effet, lorsque la sensibilité de la thyroïde à l'action de la TSH (par le TSHR) est partiellement conservée, l'élévation du taux sérique de la TSH compense le défaut attribuable au récepteur (résistance partielle à la TSH). Un défaut majeur dans la fonction du TSHR résultant en une perte complète de sensibilité à la TSH entraîne un déficit de la croissance glandulaire (hypoplasie) et de la production d'hormones thyroïdiennes (résistance complète à la TSH) [Persani *et al.*, 2010].

### **3.3 Nombre prévu d'analyses et de personnes visées**

En extrapolant à l'ensemble du Québec le nombre d'analyses demandées annuellement par les médecins du CHU Sainte-Justine, le volume annuel est estimé par les demandeurs à environ 20 à 30 analyses.

### **3.4 Spécialités médicales concernées**

Génétique médicale, pédiatrie, endocrinologie, biochimie.

### **3.5 Brève description de la situation actuelle**

La prise en charge clinique d'un cas de résistance à la TSH s'effectue en instaurant un traitement précoce de substitution avec la lévothyroxine chez les patients avec le diagnostic d'hypothyroïdie congénitale sévère au dépistage (résistance à la TSH non compensée) afin de prévenir les conséquences neurologiques d'une hypothyroïdie congénitale non traitée [Cassio *et al.*, 2013].

### **3.6 Données médico-administratives**

Au cours des dernières années, des analyses ont été envoyées entre autres chez Baylor Genetics Laboratories (1 726 \$ pour séquençage complet), Exeter Clinical Laboratory (exon 10 : 271 \$ et exons 1-9 : 931 \$). Toutefois, aucune donnée n'a été répertoriée auprès du MSSS pour ces envois hors Québec. Selon le demandeur, le CHU Sainte-Justine aurait vu au moins 466 cas d'hyperthyrotropinémie non expliquée.

### **3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée**

L'objectif principal de l'analyse proposée est de diminuer le nombre de dosages hormonaux et d'échographies de la thyroïde chez les cas confirmés de résistance à la TSH compensée.

L'analyse moléculaire permettra d'établir le génotype du patient et d'évaluer la pertinence de cesser le traitement. Précisément, l'analyse mutationnelle du *TSHR* vise trois points :

- (1) Corroborer les analyses moléculaires avec le niveau sanguin de TSH légèrement augmenté chez les patients.

- (2) Repérer les cas qui ont une résistance compensée (en partie ou en totalité) afin de cesser le traitement de l'hypothyroïdie et le suivi du taux de TSH.
- (3) Déterminer, parmi les apparentés, les porteurs d'une mutation hétérozygote associée à une perte de fonction du *TSHR*.

### 3.8 Assurance qualité

Le séquençage sera effectué de façon bidirectionnelle. Des contrôles internes positifs et négatifs de l'analyse seront utilisés. Les mesures de sécurité des matériaux et la validation des résultats du séquençage seront conformes aux normes du Collège canadien des généticiens médicaux et d'Agrément Canada (ISO 15189). Selon le demandeur, il n'existe pas de contrôle de qualité en particulier pour ce test, mais ils participeront à des contrôles externes pour la technique de séquençage du Collège américain des pathologistes (CAP).

### 3.9 Remplacement d'un autre test

La recherche de mutations dans le gène *TSHR* est une nouvelle analyse; elle ne remplace donc aucune procédure déjà inscrite au *Répertoire*.

## 4 DONNÉES PROBANTES

### 4.1 Valeur diagnostique

Le gène du récepteur de la thyroïdostimuline contient 10 exons. Il code pour une protéine de 764 acides aminés qui comporte un domaine extracellulaire de liaison à la TSH en N-terminal, une portion C-terminale transmembranaire constituée de 7 hélices alpha [Cangul *et al.*, 2012].

Actuellement, plus de 60 mutations différentes du gène *TSHR* ont été décrites en association avec différents niveaux de résistance à la TSH [Cassio *et al.*, 2013]. Les mutations rapportées sont surtout ponctuelles ou constituent de petites insertions/délétions (indels) qui conduisent fréquemment à des mutations faux-sens, mais également à des mutations non-sens ou à un changement du cadre de lecture [Cassio *et al.*, 2013]. Les mutations sont distribuées sur toute la longueur de la séquence du gène. Aucune délétion complète du gène n'a été rapportée, mais la délétion d'un exon complet a été décrite [Cangul *et al.*, 2010].

Le niveau de résistance du *TSHR* à l'action de son ligand, la TSH, varie selon le type et la position de la mutation. Les mutations causant une perte de fonction (loss-of-function, LOF) du récepteur sont acquises de manière monoallélique (hétérozygote) ou biallélique (homozygote ou hétérozygote composé). Elles sont associées à un large spectre de phénotypes allant d'une hyperthyrotropinémie à une hypothyroïdie congénitale grave sans anomalies structurales de la thyroïde (euthyroïdie) et sans auto-immunité [Park *et al.*, 2004]. Les critères diagnostiques relatifs au syndrome de résistance à la TSH sont décrits au tableau 1.

**Tableau 1 : Critères diagnostiques en lien avec le syndrome de résistance à la TSH (adapté de Cassio et ses collaborateurs [2013])**

| RÉSISTANCE À LA TSH     | ÂGE AU DIAGNOSTIC   | DNS HC | TSH | T4L | TAILLE DE LA THYROÏDE        | DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL                                                       |
|-------------------------|---------------------|--------|-----|-----|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Non compensée           | Néonatal            | +      | ↑↑  | ↓   | Hypoplasie grave             | Mut LoF biallélique <i>TSHR</i> ;<br>Mut FT thyroïdien;<br>TSH inactive       |
| Partiellement compensée | Néonatal<br>Enfance | +/-    | ↑↑  | ↓/= | Hypoplasie ou normale        | Mut LoF mono/biallélique <i>TSHR</i>                                          |
| Totalement compensée    | Enfance             | -      | =   | =   | Normale ou hypoplasie légère | Mut FT thyroïdien;<br>TSH inactive; PHP1a;<br>dys hormonogénèse auto-immunité |

Abréviations : DNS : dépistage néonatal sanguin, FT : facteur de transcription, HC : hypothyroïdie congénitale, LoF : perte de fonction (*loss-of-function*), Mut : mutation, PHP1a : pseudo-hypoparathyroïdie 1a, T4L : thyroxine libre, TSH : thyroïdostimuline, *TSHR* : gène du récepteur de la TSH.

Deux études cliniques permettant d'apprécier les preuves qui appuient l'utilisation et la validité de l'analyse proposée ont été retenues. Ces études, présentées au tableau 2, permettent de corroborer le phénotype clinique de résistance compensée à la TSH à l'altération moléculaire du gène *TSHR* et font le lien entre les mutations et la perte de fonction du récepteur.

Calebiro et ses collaborateurs [2012] ont réalisé une étude de cohorte multicentrique auprès de 153 patients âgés de moins de 18 ans avec hyperthyrotropinémie non auto-immune et des concentrations normales de lévothyroxine libre. Les cas de dysgénésie thyroïdienne et d'anomalie congénitale ou chromosomique connue ont été exclus. Parmi les cas inclus, 62 ont été identifiés via le dépistage néonatal sanguin. Les membres de la famille des porteurs confirmés d'une mutation ont également été testés [Calebiro *et al.*, 2012].

Les analyses génétiques ont permis la détection de 18 porteurs hétérozygotes d'une variation non polymorphique du *TSHR* (11,8 %), dont 5 positifs au DNS et les 13 autres, suite à une investigation clinique de symptômes (surpoids, fatigue, perte d'appétit, retard de croissance, etc.). Un total de 12 mutations différentes ont été identifiées dont 9 faux-sens, deux modifications du cadre de lecture résultant à la troncation du *TSHR* et une substitution nucléotidique dans l'intron 4 affectant l'épissage du transcrit. Cinq (5) de ces mutations avaient déjà été rapportées dans la littérature, alors que les 7 autres constituaient de nouvelles variations non présentes sur 300 allèles contrôles de la population générale. Quatorze (14) patients ont reçu un traitement à la L-T4. L'analyse moléculaire des apparentés a montré que plusieurs de ces variations sont co-ségrégées avec le phénotype de TSH élevée.

Dans l'étude de Nicoletti et ses collaborateurs [2009], l'analyse génétique du *TSHR* a été réalisée chez 38 enfants âgés en moyenne de 7 ans (0,5-18), tous négatifs au dépistage néonatal, afin de déterminer la prévalence de mutations parmi les cas d'hypothyroïdie sous-clinique non auto-immune. Tous les cas ont été suivis entre 1 et 11,5 ans [Nicoletti *et al.*, 2009].

L'analyse moléculaire du *TSHR* a permis la détection de 11 porteurs hétérozygotes d'une mutation (29 %). Toutes les mutations identifiées étaient différentes, soit 9 connues et 2 nouvelles (tableau 2). Dans tous les cas, il a été possible de mettre en évidence cette

même mutation chez un des deux parents. Concernant le type de mutations, il y avait 9 faux-sens, dont une nouvelle, une mutation non-sens jamais décrite et une délétion de 7 nucléotides provoquant un changement de cadre de lecture et l'insertion prématurée d'un codon stop.

**Tableau 2 : Séries de cas visant à corroborer la résistance compensée à la TSH et une mutation du gène *TSHR* identifiée par séquençage Sanger**

| AUTEUR, ANNÉE                  | CAS (N)             | CAS MUTÉS                                           | TYPE DE MUTATION                   | FORME FAMILIALE                                                         | ÉTUDES FONCTIONNELLES (CAUSES DE LA RÉSISTANCE)                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Calebiro <i>et al.</i> , 2012  | 153<br>DNS+<br>(62) | N = 18<br>11,8 %<br><br>Tous porteurs hétérozygotes | 9 faux-sens<br>2 CDL<br>1 intron   | N = 10 cas<br><br>co-ségrégation et TSH ↑ ou porteurs non affectés      | R609Q, T607I, P162L, I583T, Y466C montrent une réduction de liaison à la TSH. P162L et Y466C ↓ d'expression surface et d'activité biologique.<br>Q33PfsX46 : protéine tronquée<br>IVS4 + 2A > G : défaut épissage |
| Nicoletti <i>et al.</i> , 2009 | 38<br>DNS-          | N = 11<br>29 %<br><br>Tous porteurs hétérozygotes   | 9 faux-sens<br>1 CDL<br>1 non-sens | N = 11 cas<br><br>porteurs sans HC (6), HC seule (3) et HC avec Ac+ (2) | P68S montre une réduction de liaison à la TSH sans perte d'activité biologique                                                                                                                                    |

Abréviations : Ac : anticorps contre la thyroïde; CDL : changement du cadre de lecture; DNS : dépistage néonatal sanguin; HC : hypothyroïdie congénitale; HTZ : hétérozygote; L-T4 : traitement à la lévothyroxine; N : nombre; TSH : thyroïdostimuline.

#### 4.2 Valeur thérapeutique

L'hyperthyrotropinémie (TSH légèrement élevée avec T4 normale) nécessite une pleine prise en charge clinique, incluant l'examen clinique, l'imagerie thyroïdienne et lorsque pertinent, l'investigation moléculaire. L'analyse moléculaire du *TSHR*, en combinaison à une évaluation clinique complète, peut démontrer que la condition est stable et que le traitement à la lévothyroxine, dans le but de normaliser les concentrations sériques de TSH, est inutile. Plusieurs séries de cas d'hypothyroïdie congénitale détectés à la naissance et ayant fait l'objet d'analyses complémentaires ont été recensées (tableau 3). Dans la quasi-totalité des cas, les patients ont été mis sous traitement à la lévothyroxine en bas âge. Les données présentées illustrent le cours clinique, le génotype ainsi que les caractéristiques phénotypiques des cas probants et de leurs apparentés également porteurs.

Il est possible de constater que le type de mutation et son mode de transmission influence la sévérité de l'hypothyroïdie congénitale et le besoin de traitement. Par exemple, dans l'étude de Lucas-Herald [2013], l'analyse moléculaire confirme une mutation hétérozygote du gène *TSHR* chez l'enfant, héritée de sa mère, qui explique la résistance à la TSH compensée. Le suivi clinique montre que la condition est stable et que le traitement à la lévothyroxine (L-T4) dans le but de normaliser les concentrations sériques de TSH est inutile [Lucas-Herald *et al.*, 2013].

Ainsi, dans l'hypothyroïdie congénitale compensée, l'évaluation du statut mutationnel du gène *TSHR* au moyen du séquençage classique permettrait de mettre en évidence plusieurs cas de résistance à la TSH compensée.

**Tableau 3. Caractéristiques cliniques des cas d'hypothyroïdie congénitale compensée, avec glande thyroïde de taille normale (ou légère hypoplasie) et bien positionnée, hyperthyroïdisme et hormone T4 sérique normale**

| Auteur<br>Année                      | Cas<br>(Âge, sexe) | DNS<br>HC | Lévothyroxine<br>(L-T4) |          | Analyse moléculaire |             | Caractéristiques du probant                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Caractéristiques des apparentés                                                                                                                     |
|--------------------------------------|--------------------|-----------|-------------------------|----------|---------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                      |                    |           | Début                   | Arrêt    | Méthode             | Résultat    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                     |
| Lucas-Herald<br><i>et al.</i> , 2013 | M, 11 j            | +         | 94 j                    | 3,1 ans  | ?                   | C390F/wt    | À 3 ans : la croissance de l'enfant est normale (taille et poids). Le traitement L-T4 est arrêté. Après 6 semaines, l'enfant se porte bien et est actif : TSH↑ et T4 normale                                                                                                                                            | Mère, C390F/wt, L-T4 pendant 6 ans. Arrêt L-T4 : TSH↑, T4 normale. Reprise après 6 semaines pour cause de fatigue.                                  |
| Moia <i>et al.</i> , 2013            | F, 6 ans           | +         | ?                       | ?        | dHPLC + Sanger      | W520X/wt    | À 6 ans : croissance et développement neuro-moteur normaux                                                                                                                                                                                                                                                              | Mère, W520X/wt, TSH ?, T4?                                                                                                                          |
| Bas <i>et al.</i> , 2012             | M, 3 j             | +         | 30 j                    | Non      | ?                   | P162A/P162A | À 3 ans, retard de croissance (âge anatomique ou osseux de 2 ans). Réponds à tous les paramètres de développement du Test de Denver.                                                                                                                                                                                    | Parents consanguins P162A/wt, 1 cas de goitre dans la famille.                                                                                      |
| Narumi <i>et al.</i> , 2009          | M, 5 j             | +         | 54 j                    | 2 ans    | PCR + Sanger        | R450H/R450H | À 17 ans, TSH ↑↑ et T4 normale                                                                                                                                                                                                                                                                                          | NA                                                                                                                                                  |
|                                      | F, 6 j             | +         | 14 j                    | 12 ans   |                     | G132R/R450H | À 17 ans, TSH ↑↑ et T4 normale                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Mère, R450H/wt, TSH normale                                                                                                                         |
|                                      | M, 5 j             | +         | 23 j                    | 3 ans    |                     | D403N/R450H | À 12 ans, TSH ↑ et T4 normale                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Mère, R450H/wt, TSH normale                                                                                                                         |
|                                      | M, 4 j             | +         | 5 j                     | 5 ans    |                     | R450H/wt    | À 5 ans, TSH ↑ et T4 normale                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 2 frères et mère, R450H/wt, TSH normale                                                                                                             |
|                                      | M, 5 j             | +         | 1 j                     | 1 an     |                     | R450H/wt    | À 13 ans, TSH ↑ et T4 normale                                                                                                                                                                                                                                                                                           | NA                                                                                                                                                  |
|                                      | F, 5 j             | +         | Non traitée             |          |                     | A204V/wt    | À 12 ans, TSH ↑ et T4 normale                                                                                                                                                                                                                                                                                           | NA                                                                                                                                                  |
| Mizuno <i>et al.</i> , 2009          | M, 33 j            | +         | 20 mo                   | 15 ans   | PCR + Sanger        | R450H/R450H | Aucun signe d'HC à la naissance. Après 1 mois d'arrêt de traitement pour les cas 1, 2 et 5 : TSH↑. T4 normale pour les cas 2 et 5, mais T4↓ pour le cas 1. Cas 3 et 4 testés avant le début du traitement. 4 des 5 cas ont subi un test de QI à 6 ans, les résultats étaient dans la moyenne ou supérieurs (101 à 121). | NA                                                                                                                                                  |
|                                      | M, 27 j            | +         | 4 mo                    | 13 ans   |                     |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                     |
|                                      | M, 35 j            | +         | 44 mo                   | Non      |                     |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                     |
|                                      | M, 61 j            | +         | 32 mo                   | Non      |                     |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                     |
|                                      | F, 17 j            | +         | 17 j                    | 8 ans    |                     |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                     |
| Yuan <i>et al.</i> , 2008            | M, 30 j            | +         | 60 j                    | Non      | PCR + Sanger        | G245S/wt    | À 6 ans : croissance et cognitif normaux, maintien du traitement.                                                                                                                                                                                                                                                       | Père, G245S/wt, non traité, TSH/T4 normales                                                                                                         |
| Tonacchera <i>et al.</i> , 2007      | M, 13 ans          | -         | 13 ans                  | 14 ans   | PCR + Sanger        | Q8fsX62/wt  | Patient référé pour TSH↑/T4 normale à 13 ans sans aucun signe d'hypothyroïdie. Après l'arrêt du traitement, TSH↑, T4 normale. Croissance, évolution psychologique et scolaire normales.                                                                                                                                 | Père, Q8fsX62/wt, non traité, TSH limite, T4 normale. Sœur, 9 ans, Q8fsX62/wt, DNS HC?, non traitée, TSH↑, T4 normale. Aucun signe d'hypothyroïdie. |
|                                      | F, 31 ans          | ?         | 21 ans                  | 31,3 ans |                     | D410N/wt    | Patiente référée pour TSH↑ à 31 ans, hypothyroïdie traitée depuis 10 ans. Après l'arrêt du traitement, TSH↑, T4 normale.                                                                                                                                                                                                | Sœur, D410N/wt, non traitée TSH↑, T4 normale.                                                                                                       |
|                                      | M, 38 ans          | ?         | Non traité              |          |                     | P162A/wt    | Patient référé pour TSH↑, T4 normale, aucun signe d'hypothyroïdie.                                                                                                                                                                                                                                                      | Père, P162A/wt, Données médicales manquantes (Ac+?), TSH↑, T4 normale                                                                               |

Abréviations : Ac : anticorps contre la thyroïde; DNS : dépistage néonatal sanguin; F : sexe féminin; HC : hypothyroïdie congénitale; j : jours; L-T4 : traitement à la lévothyroxine; Mo : mois; n : nombre; NS : non-sens; M : sexe masculin; PCR : réaction en chaîne par polymérase; TSH : thyroïdostimuline; wt : wild-type (sans mutation).

La mise à jour de la recherche littéraire a permis de repérer une étude sur l'effet à long terme d'une perte de fonction du récepteur de la TSH causée par une mutation du gène *TSHR* [Tenenbaum-Rakover *et al.*, 2015].

L'analyse de la séquence du gène *TSHR* a été effectuée chez 94 patients présentant des caractéristiques de résistance à la TSH. L'âge moyen au diagnostic était de 52 mois (3 jours à 21 ans) et les patients ont été suivis sur une période allant jusqu'à 11 ans [Tenenbaum-Rakover *et al.*, 2015]. Des 94 patients testés :

- 79 ont reçu un diagnostic d'hypothyroïdie sous-clinique et 15 d'hypothyroïdie congénitale en raison d'un dépistage néonatal positif;
- 27 (29 %) ont été trouvés porteurs d'une mutation dans le gène *TSHR*, dont 12 étaient homozygotes, 3 hétérozygotes composés et 12 hétérozygotes;
- Parmi les 6 mutations identifiées, 5 étaient connues (P68S; P162A; P264S; L653V; Q90P) et 1 nouvelle (R450C);
- Les niveaux sériques moyens de TSH chez les porteurs de mutations étaient significativement plus élevés que chez les patients sans mutation et ce, autant au diagnostic (29,04 mIU/L contre 14,15 mIU/L ;  $p = 0,002$ ) qu'à la dernière visite (31,73 mIU/L contre 6,19 mIU/L;  $p < 0,0001$ );
- Un phénotype plus sévère a été rapporté chez les sujets porteurs de mutation homozygote, avec des niveaux de TSH plus élevés au diagnostic (53,6 mIU/L contre 9,24 mIU/L;  $p < 0,0001$ ) et à la dernière visite (62,07 mIU/L contre 9,79 mIU/L;  $p = 0,0005$ );
- Chez les porteurs de mutation homozygote, les concentrations moyennes de thyroxine libre à la dernière visite étaient significativement inférieures à celles observées lors du diagnostic ( $p = 0,05$ );
- Les porteurs de mutation hétérozygote ont démontré une légère augmentation de la TSH dont les valeurs demeurent stable dans le temps.

**Tableau 4. Comparaison des paramètres cliniques des patients résistants à la TSH (hétérozygotes versus homozygotes)**

| Paramètres                     | TSHR mutés    |             | TSHR non mutés | Valeur p | Valeurs normales |
|--------------------------------|---------------|-------------|----------------|----------|------------------|
|                                | hétérozygotes | homozygotes |                |          |                  |
| [TSH (mIU/L) au diagnostic]    | 9,24          | 53,6        | 14,15          | < 0,0001 | 0,27 à 4,2       |
| [TSH (mIU/L) dernière visite]  | 9,79          | 62,07       | 6,19           | 0,0005   |                  |
| [fT4 (pmol/L) au diagnostic]   | 16,27         | 13,96       | 15,29          | 0,175    | 12,0 à 22,0      |
| [fT4 (pmol/L) dernière visite] | 14,35         | 12,53       | 14,96          | 0,1006   |                  |

Adapté de Tenenbaum-Rakover *et al.*, 2005.

Abréviations : TSH : thyroestimuline; fT4 : thyroxine libre

La conclusion des auteurs est que l'hypothyroïdie congénitale sous clinique chez les porteurs hétérozygotes d'une mutation du *TSHR* est une condition stable, compensée par

une rétro-inhibition hypophysaire ne nécessitant pas de traitement de substitution avec la lévothyroxine. Toutefois, les sujets homozygotes avec hypothyroïdie congénitale sous clinique partiellement compensée ont démontré des niveaux de thyroxine libre réduits dans le temps et pourraient nécessiter un traitement à la lévothyroxine. Le traitement de substitution devrait être considéré sur une base individuelle et un suivi à long terme s'avère de mise.

#### 4.3 Validité analytique

La revue de la littérature actuelle n'a pas permis de repérer d'études traitant de la validité analytique concernant spécifiquement l'analyse moléculaire du *TSHR* par la technique de Sanger dans un contexte clinique tel que décrit dans le présent avis.

Toutefois, le séquençage de type Sanger est virtuellement capable de détecter toutes les substitutions nucléotidiques et petites insertions ou délétions (indels) à l'intérieur d'une séquence amplifiée par PCR. Toutefois, certaines indels plus larges pourraient ne pas être détectées. Comme l'hypothyroïdie congénitale est souvent transmise selon un patron autosomique récessif, cette particularité pourrait s'avérer importante en clinique. En effet, Cangul et ses collaborateurs [2010] ont rapporté une délétion complète de l'exon 2 suite à des analyses en RT-PCR.

#### 4.4 Données fournies par le demandeur

Le laboratoire demandeur a réalisé le séquençage complet des 10 exons du gène *TSHR* sur 12 échantillons (5 contrôles normaux et 7 patients). Dans les contrôles normaux, aucune mutation pathogénique n'a été identifiée. Les mutations pathogéniques et polymorphismes suivants ont été identifiés chez les 7 patients :

**Patient #1** : E727D (polymorphisme non pathogénique)

**Patient #2** : E727D (polymorphisme non pathogénique)

**Patient #3** : A553T (porteur mutation homozygote)

**Patient #4** : A459A (polymorphisme non pathogénique)

**Patient #5** : R528C (porteur mutation hétérozygote)

**Patient #6** : R528C/R609X (porteur mutations hétérozygotes composés). Le polymorphisme non pathogénique suivant a également été identifié : P52T.

**Patient #7** A593V/R609X (porteur mutations hétérozygotes composés). Les polymorphismes non pathogéniques suivants ont également été identifiés : P52T et E727D.

Les données de validation technique fournies par le demandeur sont disponibles à l'annexe C. Ce dernier mentionne que toutes les délétions rapportées, à l'exception de la rare délétion de l'exon 2, sont petites et pourraient être identifiées par séquençage Sanger. De plus, il serait possible de réaliser un test d'analyse de fragments pour identifier la présence de la délétion de l'exon 2 à plus faible coût que par MLPA<sup>14</sup>.

---

<sup>14</sup> Communications électroniques personnelles avec Dr Jean-François Soucy, médecin généticien du CHU de Sainte-Justine (9 mai 2016).

## 5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs et indirects liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle du gène *TSHR* par séquençage.

L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 5 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Selon le demandeur, 20, 25 et 30 analyses sont prévues pour le Québec au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*;
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec;
- La fréquence des mutations hétérozygotes non polymorphiques du gène *TSHR* est de 11,8 % [Calebiro *et al.*, 2012];
- Les mutations identifiées sont présentes à 95 % dans l'exon 10 du gène *TSHR*;
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur pour l'évaluation du statut mutationnel de l'exon 10 du *TSHR* est de 199,02 \$ alors qu'elle est de 265,71 \$ pour l'évaluation du statut des exons 1 à 9.

**Tableau 5. Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse du gène *TSHR* par séquençage.**

|                                    | AN 1     | AN 2      | AN 3      | TOTAL     |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Analyse de l'exon 10</b>        |          |           |           |           |
| Nombre d'analyses                  | 20       | 25        | 30        | 75        |
| Coûts                              | 3 980 \$ | 4 976 \$  | 5 971 \$  | 14 927 \$ |
| <b>Analyse de l'exon 1 à 9</b>     |          |           |           |           |
| Nombre d'analyses                  | 18       | 22        | 27        | 67        |
| Coûts                              | 4 783 \$ | 5 846 \$  | 7 174 \$  | 17 803 \$ |
| Coûts si introduction de l'analyse | 8 763 \$ | 10 822 \$ | 13 145 \$ | 32 730 \$ |

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse du gène *TSHR* par séquençage au *Répertoire* sont estimés à un total de 32 730 \$ pour les trois premières années.

L'évaluation des coûts indirects est basée sur l'algorithme présenté à l'annexe D. Des économies provenant essentiellement des coûts évités en lévothyroxine et en suivis médicaux chez les patients porteurs de mutations *TSHR* de nature hétérozygote sont anticipées. Selon le demandeur, ces économies sont évaluées à 8 000 \$ par patient sur un horizon temporel à vie estimé à 80 ans. En considérant le nombre de patients chez lequel l'analyse serait effectuée, il est estimé que dans 2 à 3 cas par année, les patients cesseront le traitement.

## 6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les résultats de l'analyse peuvent avoir un impact non négligeable sur la prestation de services surspécialisés. Le test devrait permettre au clinicien de confirmer le diagnostic de résistance compensée à la TSH afin d'appuyer sa décision d'arrêter le traitement et de réduire les suivis.

## 7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

L'American Academy of Pediatrics (AAP) en collaboration avec l'American Thyroid Association et le Lawson-Wilkins Pediatric Endocrine Society ont publié en 2006 un guide de pratique clinique qui traite du dépistage néonatal et de la prise en charge de l'hypothyroïdie congénitale. En décembre 2011, l'AAP a de nouveau entériné les modalités de prise en charge présentées dans ce document<sup>15</sup>. Concernant les enfants avec T4 normale et TSH élevée, les auteurs reconnaissent que des mutations du *TSHR* peuvent causer une hypothyroïdie transitoire et qu'ultimement, ces patients n'ont pas besoin de traitement [Rose *et al.*, 2006].

La Société européenne d'endocrinologie pédiatrique a publié en 2014 ses standards de pratique relativement au diagnostic et à la prise en charge de l'hypothyroïdie congénitale [Léger *et al.*, 2014]. Les recommandations sont fondées sur une revue systématique et une évaluation méthodique des évidences scientifiques. Les auteurs reconnaissent que les cas de résistance à la TSH peuvent être associés à des mutations dans le *TSHR*. Ils mentionnent que toute étude de génétique moléculaire devrait être précédée d'une analyse approfondie du phénotype. Toutes les recommandations qui orientent le clinicien vers une recherche de mutations sont en lien avec les cas de dysgénésie thyroïdienne.

## 8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

- 1) **Contexte** : Parmi les cas d'hypothyroïdie congénitale détectée à la naissance, certains démontrent une hyperthyroïdisme persistante, sans anomalie fonctionnelle ou physique de la glande thyroïde. L'objectif principal de l'analyse proposée est de diminuer le nombre de dosages hormonaux et d'échographies de la thyroïde dans les cas de résistance à la TSH compensée. L'analyse moléculaire permettra d'établir le génotype du patient et d'évaluer la pertinence de cesser le traitement.
- 2) **Valeur diagnostique** : Actuellement, plus de 60 mutations différentes du gène *TSHR* ont été décrites en association avec différents niveaux de résistance à la TSH. Le niveau de résistance du *TSHR* à la TSH varie selon le type et la nature des mutations. Les mutations causant une perte de fonction du récepteur sont acquises de manière monoallélique (hétérozygote) ou biallélique (homozygote ou hétérozygote composé). Elles sont associées à un large spectre de phénotypes allant d'une hyperthyrotropinémie à une hypothyroïdie congénitale grave.
- 3) **Valeur thérapeutique** : L'hypothyroïdie congénitale sous clinique chez les porteurs hétérozygotes d'une mutation du *TSHR* est une condition stable, compensée par une rétro-inhibition hypophysaire qui ne nécessite pas de traitement de substitution avec la lévothyroxine.
- 4) **Impacts budgétaires et autres enjeux** : Les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle du gène *TSHR* par séquençage au *Répertoire* sont estimés à 32 730 \$, et ce, pour les trois premières années. Une réduction des coûts de traitement et de suivis médicaux de 8 000 \$ par porteur hétérozygote d'une mutation *TSHR* sur un horizon temporel à vie de 80 ans est anticipée.

---

<sup>15</sup> American Academy of Pediatrics. AAP publications reaffirmed and retired [site Web]. Disponible à : <http://pediatrics.aappublications.org/content/129/4/e1103> (consulté le 11 mai 2016).

- 5) **Position d'autres organisations** : Peu de littérature a été repérée spécifiquement pour les cas d'hypothyroïdie congénitale sous-clinique. L'arrêt du traitement de substitution devrait être considéré sur une base individuelle et un suivi à long terme est recommandé.

## 9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse mutationnelle du gène du récepteur de la thyroestimuline par séquençage.

### La recommandation de l'INESSS

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Le comité reconnaît la pertinence médicale de l'analyse proposée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui.

Toutefois, la faible quantité de données de patients dont le séquençage a été réalisé localement ou à l'extérieur a été soulevée par les experts du CSABM même si les membres reconnaissent la rareté de la condition.

En l'absence d'un programme d'échange d'échantillons, il est suggéré que les analyses envoyées hors Québec soient également validées dans le laboratoire du centre demandeur.

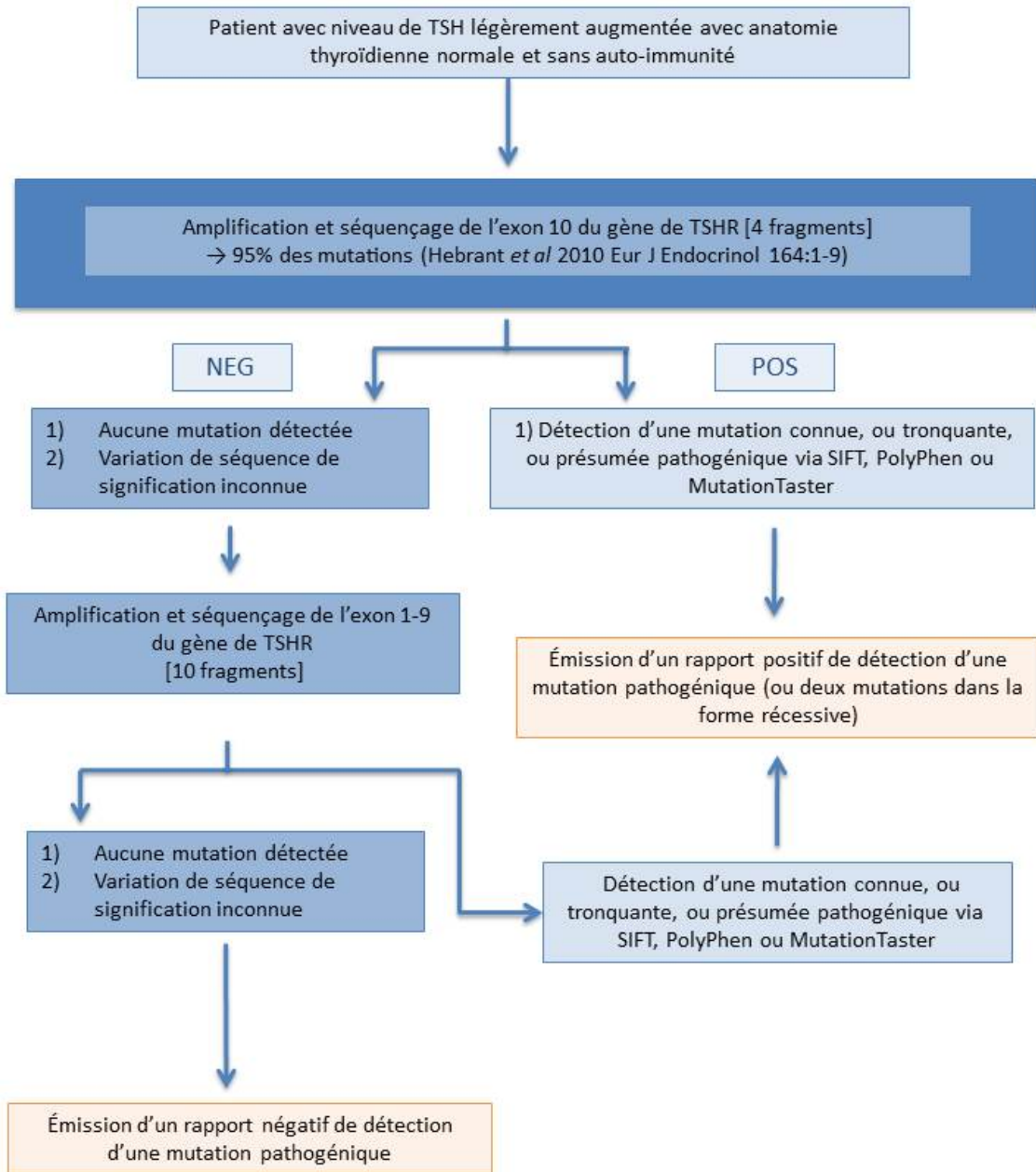
## RÉFÉRENCES

- Bas VN, Cangul H, Agladioglu SY, Kendall M, Cetinkaya S, Maher ER, Aycan Z. Mild and severe congenital primary hypothyroidism in two patients by thyrotropin receptor (TSHR) gene mutation. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012;25(11-12):1153-6.
- Beck-Peccoz P, Persani L, Calebiro D, Bonomi M, Mannavola D, Campi I. Syndromes of hormone resistance in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20(4):529-46.
- Calebiro D, Gelmini G, Cordella D, Bonomi M, Winkler F, Biebermann H, et al. Frequent TSH receptor genetic alterations with variable signaling impairment in a large series of children with nonautoimmune isolated hyperthyrotropinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(1):E156-60.
- Cangul H, Aycan Z, Saglam H, Forman JR, Cetinkaya S, Tarim O, et al. TSHR is the main causative locus in autosomal recessively inherited thyroid dysgenesis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012;25(5-6):419-26.
- Cangul H, Morgan NV, Forman JR, Saglam H, Aycan Z, Yakut T, et al. Novel TSHR mutations in consanguineous families with congenital nongoitrous hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;73(5):671-7.
- Cassio A, Nicoletti A, Rizzello A, Zazzetta E, Bal M, Baldazzi L. Current loss-of-function mutations in the thyrotropin receptor gene: When to investigate, clinical effects, and treatment. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2013;5(Suppl 1):29-39.
- Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Rapport d'évaluation du Programme québécois de dépistage sanguin des maladies génétiques chez le nouveau-né. Montréal, Qc : Direction systèmes de soins et services, INSPQ; 2005. Disponible à : <https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/484-RapportDepistageSanguin.pdf>.
- Léger J, Olivieri A, Donaldson M, Torresani T, Krude H, van Vliet G, et al. European Society for Paediatric Endocrinology consensus guidelines on screening, diagnosis, and management of congenital hypothyroidism. *Horm Res Paediatr* 2014;81(2):80-103.
- Lucas-Herald A, Bradley T, Hermanns P, Jones J, Attaie M, Thompson E, et al. Novel heterozygous thyrotropin receptor mutation presenting with neonatal hyperthyrotropinaemia, mild thyroid hypoplasia and absent uptake on radioisotope scan. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013;26(5-6):583-6.
- Mizuno H, Kanda K, Sugiyama Y, Imamine H, Ito T, Kato I, et al. Longitudinal evaluation of patients with a homozygous R450H mutation of the TSH receptor gene. *Horm Res* 2009;71(6):318-23.
- Moia S, Godi M, Walker GE, Roccio M, Agretti P, Tonacchera M, et al. The W520X mutation in the TSHR gene brings on subclinical hypothyroidism through an haploinsufficiency mechanism. *J Endocrinol Invest* 2013;36(9):716-21.
- Narumi S, Muroya K, Abe Y, Yasui M, Asakura Y, Adachi M, Hasegawa T. TSHR mutations as a cause of congenital hypothyroidism in Japan: A population-based genetic epidemiology study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(4):1317-23.

- Nicoletti A, Bal M, De Marco G, Baldazzi L, Agretti P, Menabo S, et al. Thyrotropin-stimulating hormone receptor gene analysis in pediatric patients with non-autoimmune subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(11):4187-94.
- Park SM, Clifton-Bligh RJ, Betts P, Chatterjee VK. Congenital hypothyroidism and apparent athyreosis with compound heterozygosity or compensated hypothyroidism with probable hemizyosity for inactivating mutations of the TSH receptor. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;60(2):220-7.
- Persani L, Calebiro D, Cordella D, Weber G, Gelmini G, Libri D, et al. Genetics and phenomics of hypothyroidism due to TSH resistance. *Mol Cell Endocrinol* 2010;322(1-2):72-82.
- Refetoff S. The syndrome of resistance to thyroid stimulating hormone. *J Chin Med Assoc* 2003;66(8):441-52.
- Rose SR, Brown RS, Foley T, Kaplowitz PB, Kaye CI, Sundararajan S, Varma SK. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics* 2006;117(6):2290-303.
- Tenenbaum-Rakover Y, Almashanu S, Hess O, Admoni O, Hag-Dahood Mahameed A, Schwartz N, et al. Long-term outcome of loss-of-function mutations in thyrotropin receptor gene. *Thyroid* 2015;25(3):292-9.
- Tonacchera M, Di Cosmo C, De Marco G, Agretti P, Banco M, Perri A, et al. Identification of TSH receptor mutations in three families with resistance to TSH. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67(5):712-8.
- Toublanc JE. Comparison of epidemiological data on congenital hypothyroidism in Europe with those of other parts in the world. *Horm Res* 1992;38(5-6):230-5.
- Yuan ZF, Mao HQ, Luo YF, Wu YD, Shen Z, Zhao ZY. Thyrotropin receptor and thyroid transcription factor-1 genes variant in Chinese children with congenital hypothyroidism. *Endocr J* 2008;55(2):415-23.

# ANNEXE A

Algorithme d'analyse proposé par les endocrinologues du CHU Sainte-Justine



# ANNEXE B

## **Critères pour analyse moléculaire de TSHR**

### Inclusion:

- Patients de 0 à 18 ans
- Absence de goitre
- Sérum:
  - TSH élevée à deux reprises
  - T<sub>4</sub> libre normale sur au moins un des deux prélèvements
  - Anticorps anti-thyropéroxydase négatifs sur un prélèvement

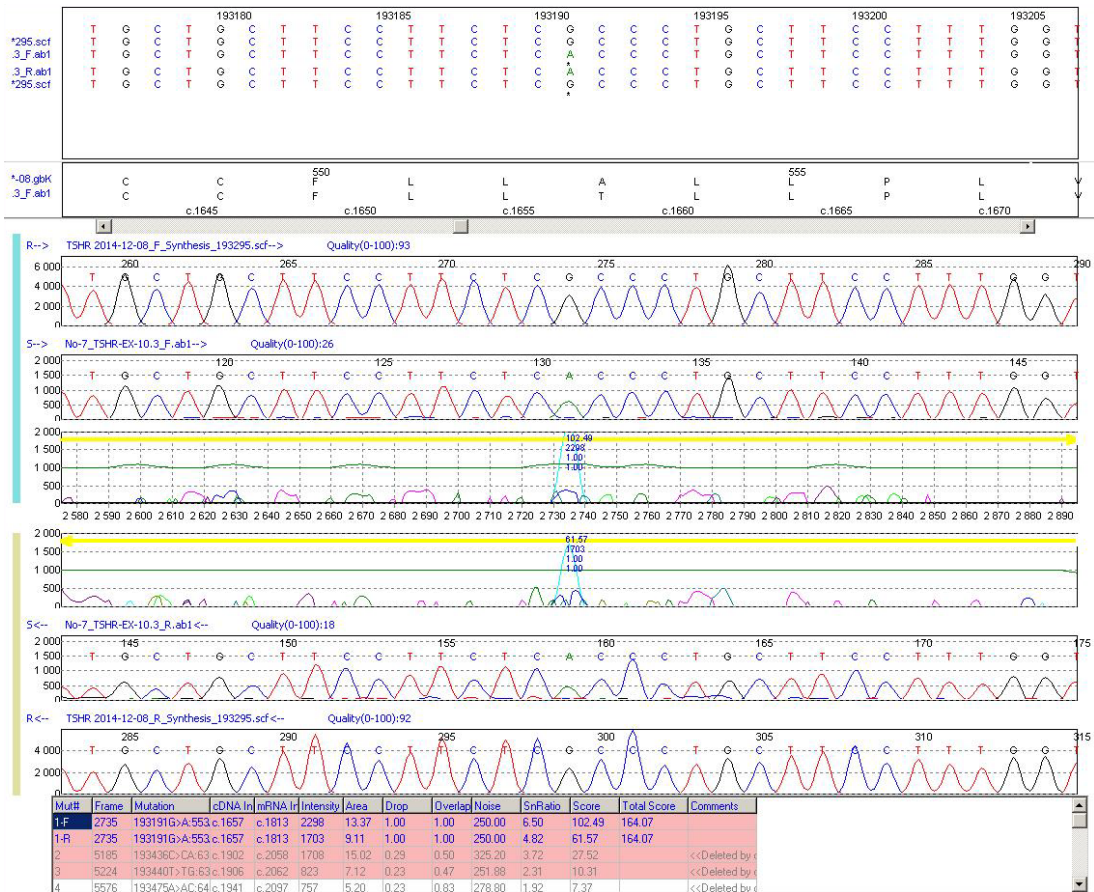
### Exclusion:

- Né avant 37 semaines ou avec un poids < 2,5 kg
- Indice de masse corporelle > 97<sup>ème</sup> percentile

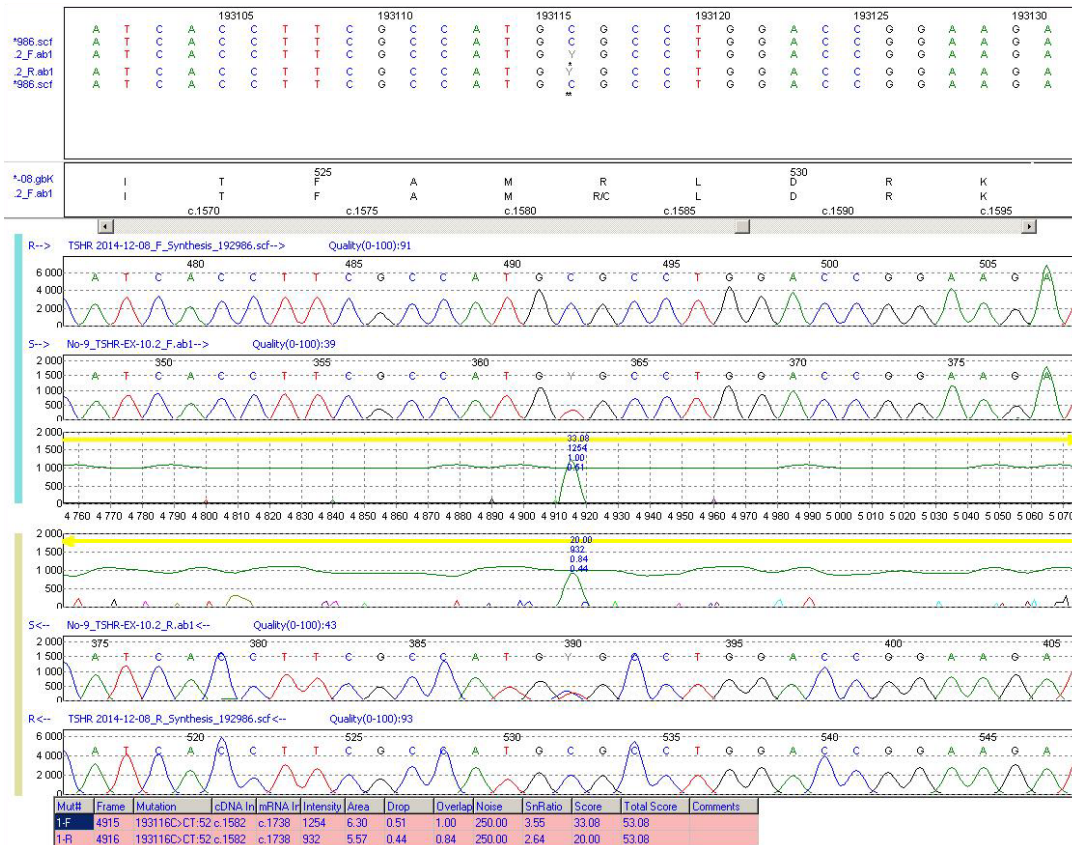
Transmis à l'INESSS par Dr Guy Van Vliet, Service d'Endocrinologie, Hôpital Sainte-Justine  
(13 mai 2016)

# ANNEXE C

Séquences anonymisées des amplicons du Gène *TSHR* comportant des mutations et des polymorphismes identifiés



A553T, mutation retrouvée à l'état homozygote

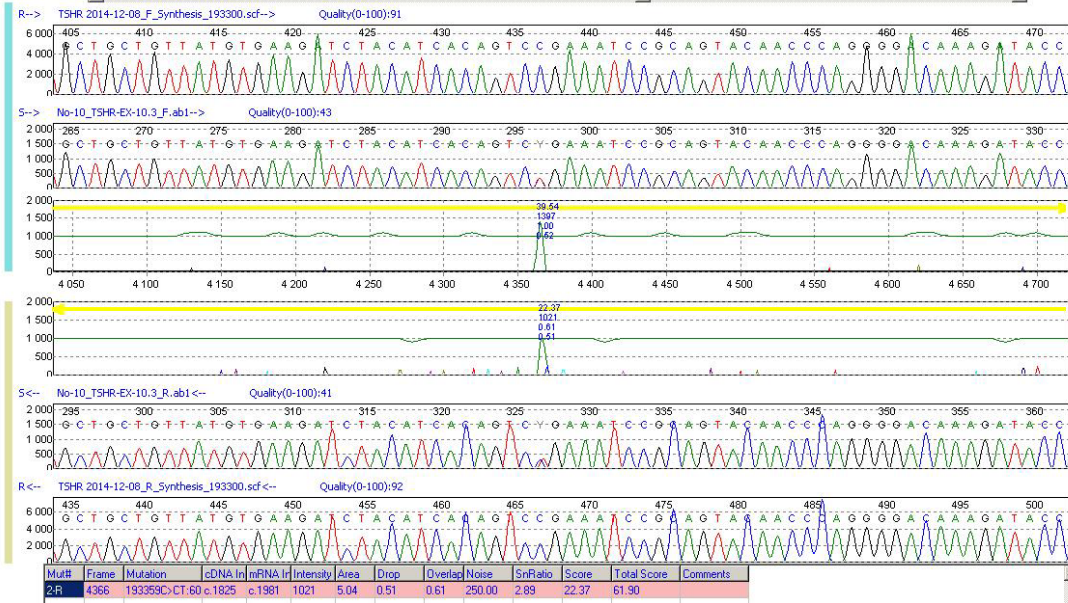


R528C, mutation retrouvée à l'état hétérozygote et hétérozygote composée avec R609X

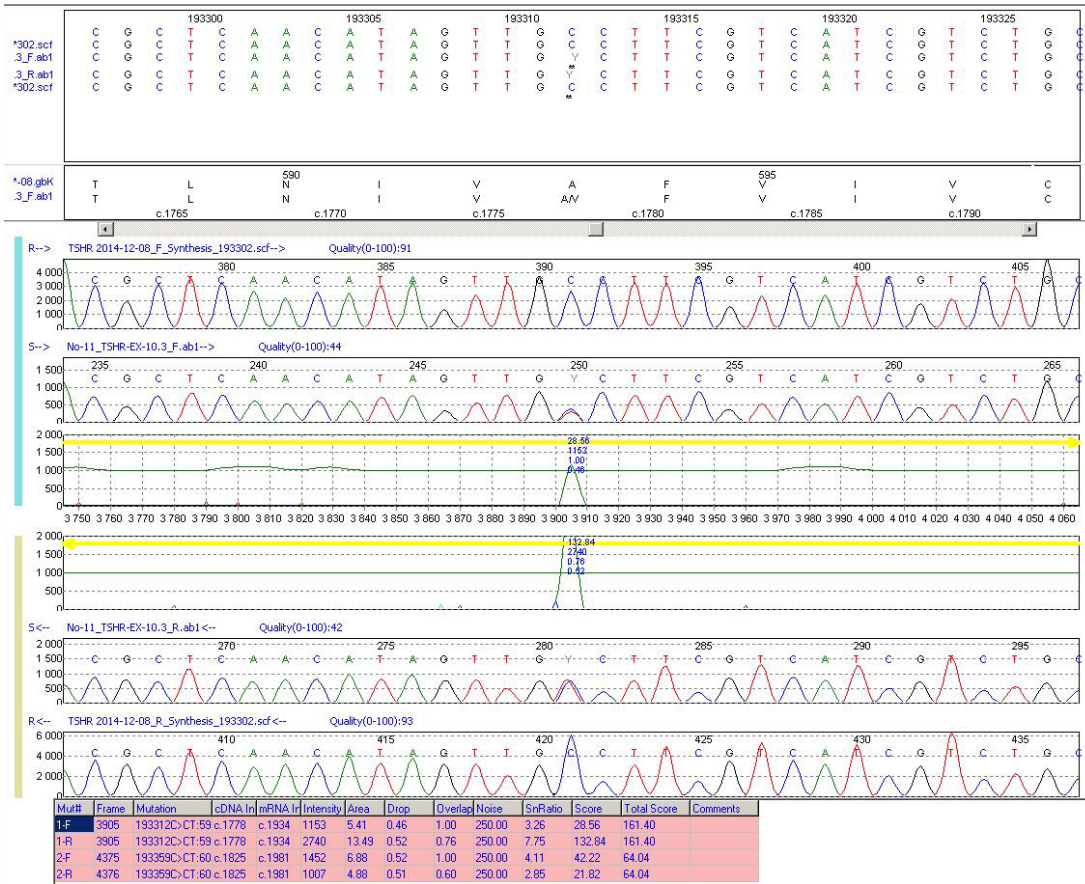
|          |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|          | 193330 | 193335 | 193340 | 193345 | 193350 | 193355 | 193360 | 193365 | 193370 | 193375 | 193380 | 193385 | 193390 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| *300.scf | G      | C      | T      | G      | C      | T      | G      | T      | T      | A      | T      | G      | T      | G | A | A | G | A | T | C | T | A | C | A | T | C | A | C | A | G | T | C | C | G | A | A | A | T | C | C | G | C | A | G | T | A | C | A | A | C | C | A | G | G | G | G | A | C | A | A | A | G | A | T | A | C | C |
| *3_F.ab1 | G      | C      | T      | G      | C      | T      | G      | T      | T      | A      | T      | G      | T      | G | A | A | G | A | T | C | T | A | C | A | T | C | A | C | A | G | T | C | C | G | A | A | A | T | C | C | G | C | A | G | T | A | C | A | A | C | C | A | G | G | G | G | A | C | A | A | A | G | A | T | A | C | C |
| *3_R.ab1 | G      | C      | T      | G      | C      | T      | G      | T      | T      | A      | T      | G      | T      | G | A | A | G | A | T | C | T | A | C | A | T | C | A | C | A | G | T | C | C | G | A | A | A | T | C | C | G | C | A | G | T | A | C | A | A | C | C | A | G | G | G | G | A | C | A | A | A | G | A | T | A | C | C |
| *300.scf | G      | C      | T      | G      | C      | T      | G      | T      | T      | A      | T      | G      | T      | G | A | A | G | A | T | C | T | A | C | A | T | C | A | C | A | G | T | C | C | G | A | A | A | T | C | C | G | C | A | G | T | A | C | A | A | C | C | A | G | G | G | G | A | C | A | A | A | G | A | T | A | C | C |

|          |   |   |   |     |   |   |   |   |   |     |   |   |   |   |   |     |   |   |   |   |   |   |     |   |   |   |   |   |     |   |
|----------|---|---|---|-----|---|---|---|---|---|-----|---|---|---|---|---|-----|---|---|---|---|---|---|-----|---|---|---|---|---|-----|---|
| *08.gbK  | C | C |   | 600 | Y | V | K | I |   | 605 | I | T | V | R |   | 610 | N | P | Q | Y | N |   | 615 | G | D | K | D |   | 620 | T |
| *3_F.ab1 | C | C | C |     | Y | V | K | I | Y | I   | T | V | R | R | X | N   | P | Q | Y | N | N | P | G   | D | K | D | T | T |     |   |



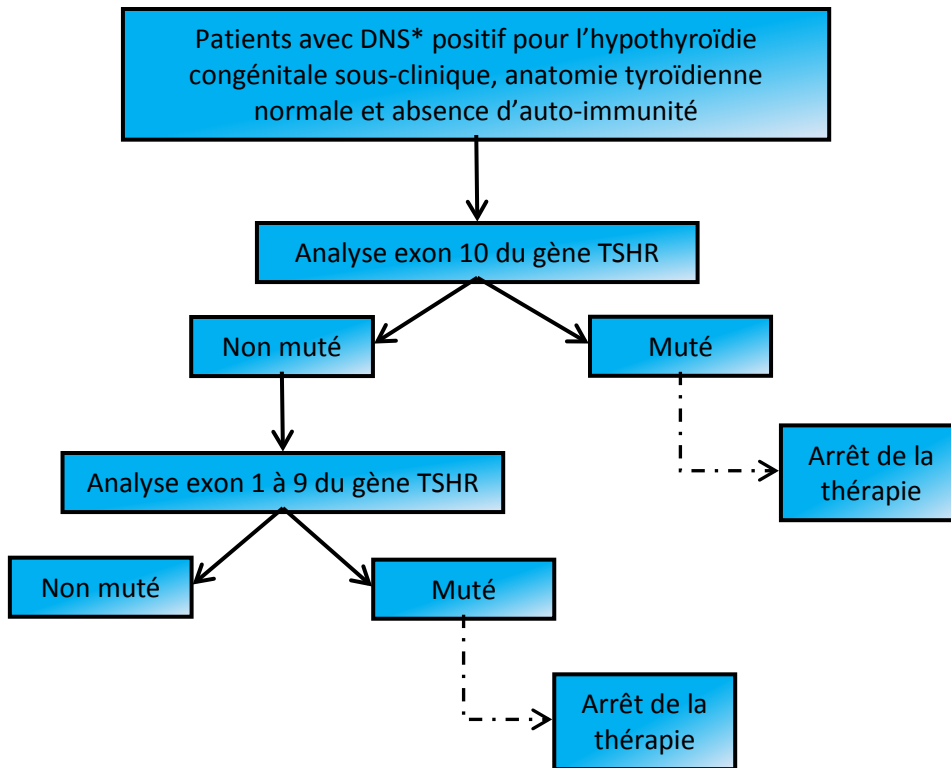
R609X, mutation retrouvée à l'état d'hétérozygote composé avec R528C et avec A593V



A593V, mutation retrouvée à l'état hétérozygote composé avec R609X

## ANNEXE D

Algorithme de prise en charge des patients avec hypothyroïdie congénitale sous-clinique, anatomie thyroïdienne normale et absence d'auto-immunité



\*Dépistage néonatal sanguin