INESSS
LE SAVOIR PREND FORME

Avis

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

Transmission au ministre : 31 octobre 2013

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

Institut national
d'excellence en santé
et en services sociaux
Québec

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

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

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

Équipe de projet

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

Scientifique principal au soutien à la pratique clinique
Jean-Marie Moutquin, M.D., M. Sc., FRCSC

Professionnels scientifiques
Faïza Boughrassa, M.D., M. Sc.
Phuong Hua, M. Sc.
Geneviève Martin, Ph. D.
Éric Potvin, Ph. D.
Éric Tremblay, M. Sc.
Éva Tsakonas, M. Sc.

Recherche d'information scientifique
Caroline Dion, M.B.S.I.
Mathieu Plamondon

Soutien documentaire
Micheline Paquin

Édition

Responsable
Diane Guilbault

Coordination
Véronique Baril

Révision linguistique
Littera Plus

Mise en page
Marie-Andrée Houde

Vérification bibliographique
Micheline Paquin

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2014

Bibliothèque et Archives Canada, 2013
ISSN 1915-3104 INESSS (PDF) ISBN 978-2-550-69658-2 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2013

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 onze analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale.* Québec, Qc : INESSS; 2013. 157 p.

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

Contributions

En ce qui a trait à l'analyse *Dosage semi-quantitatif de la buprénorphine par une méthode immunoenzymatique homogène,* nous tenons à remercier madame Léa-Frédérique Rainville, conseillère clinique à la qualité des services et à l'avancement des TDO[1], et monsieur Stéphane Roy, infirmier clinicien, tous les deux du Centre de recherche et d'aide pour narcomanes (CRAN), qui nous ont permis d'obtenir de précieux renseignements relatifs au programme de maintien de la buprénorphine et de la problématique de la dépendance aux drogues dans le contexte québécois.

Nous remercions également tous les nombreux collaborateurs qui nous ont permis de compléter ces évaluations en nous founissant des précieuses informations.

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. Aucun conflit à signaler.

1. Traitement de la dépendance aux opiacés.

COMITÉ SCIENTIFIQUE – ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Président

M. Jean-Marie Moutquin, M.D., FRCSC
- Scientifique principal – soutien à la pratique clinique, Institut national d'excellence en santé et en services sociaux

Membres

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

Guy Fink, Ph. D.
- Biochimiste clinique, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

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

Annie-Claude Labbé, M.D., FRCPC
- Microbiologiste infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

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

François Rousseau, M.D., FRCPC
- Médecin biochimiste, CHU de Québec

LISTE DES ANALYSES

DOSAGE SEMI-QUANTITATIF DE LA BUPRÉNORPHINE PAR UNE MÉTHODE IMMUNOENZYMATIQUE HOMOGÈNE (RÉFÉRENCE – 2013.02.001) 2

DÉCOMPTE DES CORPS LAMELLAIRES (RÉFÉRENCE – 2013.02.002) 18

ANALYSE DU TEST RESPIRATOIRE À L'URÉE MARQUÉE AU CARBONE 13 PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE À RATIOS ISOTOPIQUES POUR LA DÉTECTION DE *H. PYLORI* (RÉFÉRENCE – 2013.02.003.1) 32

ANALYSE DU TEST RESPIRATOIRE À L'URÉE MARQUÉE AU CARBONE 13 PAR SPECTROSCOPIE INFRAROUGE POUR LA DÉTECTION DE *H. PYLORI* (RÉFÉRENCE – 2013.02.003.2) 46

DOSAGE DU LÉVÉTIRACÉTAM SÉRIQUE PAR LC-MS/MS (RÉFÉRENCE – 2013.02.004) 63

DOSAGE DE LA RIBAVIRINE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE COUPLÉE À UNE DÉTECTION AUX ULTRAVIOLETS (HPLC-UV) (RÉFÉRENCE 2013.02.005) 80

CANCER DU SEIN ET DU PANCRÉAS – RECHERCHE DE L'ALLÈLE Q775X DU GÈNE *PALB2* PAR RFLP ET RECHERCHE DE MUTATIONS DU GÈNE *PALB2* PAR HRM ET SÉQUENÇAGE DIRECT (RÉFÉRENCE – 2013.02.006.1 ET 2013.02.006.2) 94

TYPAGE DES KIRS PAR RÉACTION EN CHAÎNE PAR POLYMÉRASE (PCR) (RÉFÉRENCE - 2013.02.007) 120

DÉTECTION DE *S. PNEUMONIAE*, *N. MENINGITIDIS*, *S. AGALACTIAE, L. MONOCYTOGENES* ET *H. INFLUENZAE* DU TYPE B PAR TAAN DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN (RÉFÉRENCE - 2013.02.008) 129

DÉTECTION DU PENTOBARBITAL PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (RÉFÉRENCE - 2013.02.009) 137

DOSAGE DE L'ACTIVITE ANTI-IIA DIRECT DU DABIGATRAN (RÉFÉRENCE - 2013.02.010) 146

DOSAGE SEMI-QUANTITATIF DE LA BUPRÉNORPHINE PAR UNE MÉTHODE IMMUNOENZYMATIQUE HOMOGÈNE (RÉFÉRENCE – 2013.02.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital Saint-Luc du CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 28 août 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Méthode immunoenzymatique homogène, semi-quantitative

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

La buprénorphine est un analgésique opioïde[2] semi-synthétique dérivé de la thébaïne, un composant de l'opium. Elle peut être utilisée dans la gestion de la douleur chronique et comme traitement de substitution pour la dépendance aux opiacés.

La trousse[3] *CEDIA® Buprenorphine assay* (Microgenics Corporation) utilise un dosage immunoenzymatique homogène pour la détermination qualitative ou semi-quantitative de la présence de buprénorphine dans l'urine humaine. L'essai est basé sur l'enzyme bactérienne β-galactosidase qui a été génétiquement modifiée en deux fragments inactifs. Ces derniers se réassocient spontanément pour former des enzymes actives qui clivent un substrat, générant un changement de couleur qui peut être mesuré par spectrophotométrie.

La buprénorphine (l'analyte) présente dans l'échantillon entre en compétition avec l'analyte conjugué à un fragment inactif de β-galactosidase pour un nombre limité de sites liants d'anticorps. Si la buprénorphine est présente dans l'échantillon, elle se lie aux anticorps, ce qui permet aux fragments d'enzymes inactives libres de se réassocier spontanément pour former des enzymes actives. En l'absence de buprénorphine dans l'échantillon, les anticorps

2. Les opioïdes sont des opiacés de synthèse ayant des effets semblables à ceux de l'opium, mais sans nécessairement en avoir les mêmes structures chimiques [Demalare et Garnier, 2002; Quevauvilliers, 2007].
3. CEDIA : *cloned enzyme donor immunoassay*.

se lient à l'analyte conjugué à un fragment inactif, ce qui empêche la réassociation des fragments inactifs de β-galactosidase. Par conséquent, il n'y a pas formation d'enzymes actives. La quantité d'enzymes actives formées et le changement d'absorbance qui en résulte augmentent de façon directement proportionnelle à la quantité de buprénorphine présente dans l'échantillon [Microgenics Corporation, 2012].

Quant à la trousse *Buprenorphine Enzyme Immunoassay*, vendue par Lin-Zhi International, elle détecte la présence de norbuprénorphine (le métabolite de la buprénorphine) dans l'urine. L'essai est basé sur la compétition entre la buprénorphine (l'analyte) de l'échantillon et l'analyte étiqueté conjugué à l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) pour un nombre fixe de sites de fixation des anticorps. Si la buprénorphine est présente dans l'échantillon, l'anticorps se lie à celle-ci et l'analyte conjugué au G6PDH manifeste une activité enzymatique maximale. En l'absence de buprénorphine, l'analyte conjugué se lie à l'anticorps et l'activité enzymatique est inhibée. Le changement d'absorbance augmente de façon directement proportionnelle à la quantité de buprénorphine présente dans l'échantillon [Lin-Zhi International, 2013].

2.3 Société ou développeur : ne s'applique pas.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse *CEDIA® Buprenorphine assay* (Microgenics Corporation) est homologuée par Santé Canada (n° 68551) et par la FDA (n° K040316) tout comme la trousse *Buprenorphine Enzyme Immunoassay* (Lin-Zhi International) (Santé Canada n° 91762 et FDA n° K081008). Par ailleurs, il y a huit autres trousses homologuées par Santé Canada[4], fabriquées par d'autres compagnies et servant aux mêmes fins mais dont le format diffère (bandelettes, cassettes, cartouches).

2.7 Valeur pondérée : 13,51

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

3.1 Patients ciblés

Selon l'information fournie par le requérant, l'analyse cible les personnes en situation de désintoxication d'opiacés et qui sont traitées à la buprénorphine, dans le but d'assurer le monitorage de la prise de ce médicament [CMQ-OPQ, 2009; Simpson *et al.*, 1997].

3.2 Description de la maladie visée

Dépendance aux opioïdes

La toxicomanie est un problème en croissance, dévastateur et coûteux à travers le monde [Yokell *et al*., 2011]. Elle entraîne des taux élevés de morbidité et de mortalité ainsi que des coûts sociétaux importants. En effet, les personnes dépendantes aux opiacés et qui ne sont pas traitées peuvent s'exposer à divers problèmes de santé (infections transmises par le

4. Mise à jour le 23 octobre 2013.

sang, problèmes de santé mentale ou de comportement) ou sociaux (marginalisation, pauvreté, itinérance, incarcération) [CRAN, 2011]. Un toxicomane non traité coûte au moins dix fois plus à la société annuellement qu'un toxicomane traité[5].

En 2007, l'Office des Nations Unies contre la drogue et le crime (UNODC[6]) a estimé que 15,6 millions de personnes étaient dépendantes aux opioïdes [Yokell *et al*., 2011]. Au Québec, environ 12 000 personnes (estimation très conservatrice) consomment ou ont déjà consommé de l'héroïne ou d'autres opiacés non prescrits [MSSS, 2006]. On considère qu'environ 20 % de ces personnes ont développé une dépendance. L'incidence du risque de dépendance aux drogues illicites au Québec est estimée à 8 % [MSSS, 2006]. En 2008, au Québec, 157 personnes sont décédées par intoxication aux opioïdes, de manière intentionnelle, accidentelle ou par suicide [CRAN, 2011].

Traitement contre la dépendance aux opioïdes

L'usage de la buprénorphine pour le traitement de la dépendance aux opioïdes a été introduit en 1980 [Yokell *et al*., 2011; Kleber, 2007]. Aux États-Unis, elle a été adoptée pour cet usage en 2002 [Wu *et al*., 2009]. En 2005, sur 1,2 million de personnes dépendantes aux opioïdes, seulement environ 100 000 ont été traitées à la buprénorphine aux États-Unis. Le nombre de personnes traitées à la buprénorphine a été estimé à 400 000 à travers le monde en 2008 [Bryson *et al*., 2010].

Au Québec, environ 20 % des personnes dépendantes aux opioïdes bénéficient d'un programme de prise en charge médicale, sociale et psychologique comprenant le maintien à la méthadone [CRAN, 2011; INESSS, 2012b]. Ce programme vise un maintien du patient au médicament et, à plus long terme, une désintoxication totale ou l'abstinence d'opioïdes. Par ailleurs, la majorité des personnes dépendantes aux opioïdes ne sont pas traitées en raison du manque de ressources médicales et psychosociales [INESSS, 2012b].

Au Québec, la buprénorphine en association avec la naloxone[7] (Suboxone[MC]) est inscrite à la liste des médicaments et couverte par le Régime public d'assurance médicaments depuis juin 2008[8] en tant que médicament d'exception « pour le traitement substitutif de la dépendance aux opioïdes : lors d'un échec, d'une intolérance, d'une contre-indication à la méthadone; ou lorsqu'un programme de maintien à la méthadone n'est pas disponible ou accessible » [CMQ-OPQ, 2009 ; INESSS, 2012b]. Les modalités de son administration sont relativement contraignantes durant la phase de stabilisation[9].

Pharmacologie et effets indésirables

Le Suboxone[MC] est administré par voie sublinguale[10]. La buprénorphine est un agoniste partiel des récepteurs μ des opioïdes et un antagoniste des récepteurs κ des opioïdes [APhC, 2013].

---

5. Une personne toxicomane non traitée coûte 44 600 $ annuellement à la société comparativement à moins de 4 000 $ par année si elle est traitée à la méthadone [CRAN, 2011].
6. United Nations Office on Drugs and Crime.
7. La naloxone est un antagoniste des récepteurs μ des opioïdes. Lorsqu'elle est administrée par voie intraveineuse, elle provoque des symptômes de sevrage alors que, si elle est administrée par voie sublinguale ou orale, elle n'entraîne pas d'effet pharmacologique détectable en raison de sa faible biodisponibilité [APhC, 2013]. Son ajout dans Suboxone[MC] vise à dissuader l'administration de ce dernier par voie intraveineuse.
8. En février et en octobre 2012, l'INESSS a publié un avis de refus de transférer Suboxone[MC] à la section régulière des listes de médicaments. Ce produit est donc maintenu sur la liste des médicaments d'exception [INESSS, 2012ab].
9. La prise du médicament doit se faire sous la supervision quotidienne (jours ouvrables) d'un professionnel de la santé pour une période minimale de deux mois et jusqu'à ce que le patient soit cliniquement stable et en mesure de conserver ses doses en lieu sûr [APhC, 2013].
10. La biodisponibilité de la buprénorphine par voie orale est faible et elle n'agit donc pas bien lorsqu'elle est administrée de cette façon.

À cause de sa haute affinité avec les récepteurs μ, cet agent empêche les molécules des autres opioïdes de se lier aux récepteurs et d'agir sur le système nerveux central [CSAT, 2004]. Les effets de la buprénorphine sont qualitativement similaires à ceux de la morphine, mais ils sont de 25 à 30 fois plus puissants que ces derniers et ont une durée d'action plus longue [Simpson *et al*., 1997]. En raison de sa faible toxicité relative et de ses propriétés pharmacologiques, et principalement à cause de l'effet plateau, les véritables intoxications à la buprénorphine sont rares [CMQ-OPQ, 2009].

La buprénorphine est éliminée à environ 70 % dans les fèces et à 30 % dans l'urine [APC, 2013]. La demi-vie d'élimination globale de la buprénorphine plasmatique est de 37 heures en moyenne, bien que sa demi-vie réelle pourrait être plus courte [APC, 2013].

Les effets indésirables les plus fréquemment observés liés à l'utilisation de Suboxone[MC] sont conformes aux effets du sevrage des opioïdes ou aux effets des agonistes opioïdes. Ce sont, notamment : des céphalées, de la douleur, la transpiration, l'insomnie et des symptômes digestifs (constipation, nausées, vomissements, diarrhée) [APC, 2013]. Par ailleurs, l'administration prolongée de la buprénorphine peut entraîner un état de dépendance semblable à celui qu'engendrent les opiacés [APC, 2013].

Succès du traitement et pertinence de l'analyse

Le taux de succès d'un programme de désintoxication ou de maintien à la buprénorphine n'est pas documenté. Un des objectifs d'un tel programme est de maintenir l'observance du traitement à la buprénorphine. La durée optimale du programme de maintien à la buprénorphine n'est pas bien définie [Kleber, 2007].

La détection de la buprénorphine est souvent faite en concomitance avec d'autres substances illicites[11] [CMQ-OPQ, 2009 ; CSAT, 2004]. Cette analyse informe sur la consommation et peut s'avérer utile pour, notamment, accorder l'autorisation de doses non supervisées et confirmer l'abstinence ou la consommation d'autres substances pouvant interagir avec la buprénorphine [CMQ-OPQ, 2009].

3.3 Nombre de patients visés

Le requérant estime que le volume provincial attendu est d'environ 1300 analyses par année.

Depuis que Suboxone[MC] a été inscrit en 2008 à la liste des médicaments d'exception de la RAMQ[12], le nombre de patients traités est passé de 148 en 2009 à 376 en 2012 [données de la RAMQ]. Ce nombre continue de croître : durant les 5 premiers mois de 2013, 326 patients ont bénéficié de ce traitement.

Étant donné que 60 % des personnes dépendantes aux opioïdes sont traitées à Montréal [CRAN, 2011], le volume provincial annuel attendu est réaliste si la tendance se maintient. Il est également possible que le recours à ce test de suivi (observance du médicament) augmente avec le nombre croissant de patients traités à la buprénorphine. Toutefois, il n'y a pas de lignes directrices qui indiquent la fréquence à laquelle l'analyse devrait être prescrite. La fréquence des analyses demandées est donc à la discrétion et tributaire du

11. Un guide de pratique clinique américain recommande d'effectuer les tests toxicologiques portant sur les drogues illicites pertinentes à une fréquence d'une fois par mois [CSAT, 2004].
12. Régie de l'assurance maladie du Québec.

jugement clinique du médecin traitant [CMQ-OPQ, 2009; Handford *et al*., 2011; CSAT, 2004; Kleber, 2007].

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Biochimie médicale, toxicologie.

En toxicomanie, les intervenants impliqués dans le programme de maintien à la buprénorphine (médecins formés, pharmaciens, infirmiers).

3.5 Modalités d'administration du test

L'analyse nécessite un échantillon d'urine du patient, conformément aux modalités habituelles de collecte de ce type de spécimen.

Les lignes directrices publiées par le Collège des médecins du Québec et l'Ordre des pharmaciens du Québec mentionnent que « les urines doivent être recueillies sous surveillance directe ou vérifiées par détection thermique, de façon aléatoire, pendant les deux premiers mois du traitement » [CMQ-OPQ, 2009]. Cependant, de telles mesures ne sont pas appliquées en raison des coûts engendrés et de leur pertinence dans une approche de réduction des méfaits. L'application d'une telle surveillance est très rare, voire exceptionnelle[13].

Aucune recommandation particulière n'a été faite dans les autres guides de pratique clinique quant aux lieux de prélèvement ni aux conditions de collecte de l'échantillon (ex : surveillance étroite des patients afin d'éviter la falsification de l'échantillon par adultération ou par substitution).

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : analyse unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

La buprénorphine ou ses métabolites peuvent être détectés en utilisant des méthodes chromatographiques ou immunologiques (hétérogène[14] ou homogène). Parmi les méthodes immunologiques hétérogènes, il y a le RIA (*radioimmunoassay*) et l'ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) [Cirimele *et al*., 2003; Cirimele *et al*., 2004; De Giovanni *et al*., 2005, Miller *et al*., 2006]. Quant aux méthodes immunologiques homogènes, ce sont notamment le CEDIA (*cloned enzyme donor immunoassay*), l'EMIT (*enzyme multiplied assay technique*) et le dosage fluoroimmunologique (*fluoroimmunoassay*) [Wang *et al*., 2007] et le LUCIO [Alves *et al*., 2003].

Il existe des trousses homologuées utilisant la méthode immunoenzymatique en divers formats (bandelettes, cassettes ou cartouches de réactifs) pour la détection de la buprénorphine ou de ses métabolites. De plus, d'autres substances (drogues d'usage illicite)

13. Entretien avec des intervenants du CRAN.
14. Dans la méthode immunoenzymatique homogène compétitive, les analytes de l'échantillon entrent en compétition avec les analytes étiquetés pour se lier à un anticorps. La quantité d'analytes étiquetés non liés est alors mesurée. Comme la méthode précédente, la méthode immunoenzymatique hétérogène compétitive implique une compétition entre les analytes de l'échantillon et les analytes étiquetés pour se lier à un anticorps. Toutefois, les analytes étiquetés non liés sont séparés ou enlevés par lavage. Il reste alors des analytes étiquetés liés, qui sont mesurés [Wild, 2005].

peuvent également être détectées en même temps, avec la même trousse [Santé Canada, 2013].

Dans la littérature, la chromatographie en phase liquide ou gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS ou GC-MS) est la méthode de référence [Bottcher *et* Beck, 2005; Hull *et al*., 2008; Kronstrand *et al*., 2008; Leino *et* Loo, 2007; Wu *et al*., 2009]. Ces méthodes sont mentionnées dans la monographie de *Buprenorphine Enzyme Immunoassay* [Lin-Zhi International, 2013] alors que celle de la trousse *CEDIA® Buprenorphine assay* recommande la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) comme méthode de confirmation [Microgenics Corporation, 2012].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La méthode immunoenzymatique homogène, comparativement à la méthode chromatographique, permet d'obtenir des résultats plus rapidement, elle est simple, peu coûteuse et nécessite un faible volume d'échantillon. De plus, elle est plus rapide et sensible que la méthode hétérogène car elle ne nécessite pas l'étape du lavage et celle de la séparation [Wang *et al*., 2007; Wild, 2005].

Les limites des tests immunologiques sont notamment la détermination des valeurs seuils (*cut-off*) et la réaction croisée possible avec des substances présentes dans l'échantillon, autres que l'analyte recherché [George, 2004].

Par ailleurs, les limites inhérentes à la détection de la buprénorphine, dans le cadre d'un monitorage en désintoxication, sont l'adultération et la substitution des échantillons d'urine [George, 2004]. Toutefois, le dosage régulier de la buprénorphine et de l'un de ses métabolites (par exemple la norbuprénorphine) pourrait aider à déceler ces problèmes grâce aux paramètres physiologiques obtenus (ex. : valeurs attendues du plateau d'un dosage pharmacologique). Les experts consultés ne considèrent pas ce problème comme majeur et ils indiquent que la prise surveillée de l'échantillon se limite à des cas bien ciblés.

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement par un autre test : ne s'applique pas.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Disponibilité d'un traitement

L'analyse de la buprénorphine sert à monitorer l'administration du médicament substitutif de la dépendance aux opioïdes.

Modifications du traitement en raison des résultats du test

Les résultats du test permettraient de vérifier l'observance du traitement, d'ajuster des dosages ou de modifier le plan de traitement pharmacologique afin de mieux l'adapter aux besoins du patient.

Des cas d'abus ou de détournement de la buprénorphine ont été signalés. C'est pourquoi une certaine vigilance est recommandée aux intervenants [APC, 2013 ; Yokell *et al*., 2011].

5.1.3 Valeur thérapeutique

L'analyse de la buprénorphine sert principalement à vérifier l'observance du traitement pharmacologique qui est inclus dans une prise en charge globale du patient. Lorsqu'elle est jumelée à la détection d'autres substances illicites, cette analyse peut servir à documenter la consommation de drogues par le patient.

5.2 Validité diagnostique

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

La présente analyse cible deux trousses commerciales disponibles pour le dosage de la burpénorphine, en raison d'un changement qui a eu lieu dans le laboratoire du requérant après le dépôt de la demande. Ces trousses font appel à la méthode immunoenzymatique homogène. Les données relatives à la sensibilité et à la spécificité diagnostiques ainsi que l'exactitude sont présentées au tableau 1. Dans l'ensemble, pour les deux trousses, les valeurs des paramètres évalués sont supérieures à 80 %, sauf dans l'étude de Melanson et ses collaborateurs [2012] qui présente des valeurs un peu plus faibles.

Par ailleurs, le seuil de positivité des résultats proposé par le fabricant est de 5 ng/ml pour la troussse CEDIA et de 10 ng/ml pour la trousse EIA [Microgenics Corporation, 2012; Lin-Zhi International, 2013].

L'étude de Hull et ses collaborateurs [2008] est la seule à présenter des valeurs prédictives positive et négative en comparant la trousse CEDIA avec la CL-MS/MS et en faisant appel à l'interprétation d'un clinicien pour la trousse CEDIA comparativement à la méthode de référence (tableau 2).

Tableau 1 Sensibilité diagnostique, spécificité diagnostique et exactitude

ÉTUDE (NOMBRE DE SPÉCIMENS)	MÉTHODE DE RÉFÉRENCE	SEUIL DE POSITIVITÉ (ng/ml)	SENSIBILITÉ (%)	SPÉCIFICITÉ (%)	EXACTITUDE (%)
TROUSSE CEDIA[15]					
Hull *et al.*, 2008 (n = 96)	CL-MS/MS	5 20	100 100	87,5 96,3	97,9 99
	CL-MS/MS (interprétation	5 20	100 87,5	87,5 100	97,9 89,6

15. La trousse CEDIA désigne *CEDIA® Buprenorphine Assay* qui est vendue par Microgenics Corporation.

ÉTUDE (NOMBRE DE SPÉCIMENS)	MÉTHODE DE RÉFÉRENCE	SEUIL DE POSITIVITÉ (ng/ml)	SENSIBILITÉ (%)	SPÉCIFICITÉ (%)	EXACTITUDE (%)
	clinique)				
Leino *et* Loo, 2007 (n = 49)	CL-MS/MS	5	100	95	n.d.
Melanson *et al.*, 2012 (n = 149)	CL-MS/MS	5	88	75	79
TROUSSE EIA[16]					
Melanson *et al.*, 2012 (n = 149)	CL-MS/MS	5 10	81 67	100 100	95 91

Abréviations : CG-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse; CL-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem; n.d. : non disponible; ng/ml : nanogramme par millilitre

Tableau 2 Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de la trousse CEDIA

MÉTHODE DE RÉFÉRENCE	SEUIL DE POSITIVITÉ (ng/ml)	VALEUR PRÉDICTIVE POSITIVE (VPP)	VALEUR PRÉDICTIVE NÉGATIVE (VPN)
CL-MS/MS	5	97,6	100
	20	98,6	100
CL-MS/MS (interprétation clinique)	5	97,6	100
	20	100	61,5

Abréviation : ng/mL : nanogramme par millilitre

Les valeurs de VPP et de VPN sont supérieures à 97 %, sauf pour la VPN au seuil de positivité de 20 ng/ml lorsque la comparaison fait appel à l'interprétation d'un clinicien.

5.3 Validité analytique (ou technique)

Les données sur la validité analytique sont tirées des résultats de la monographie des produits et des études ayant comparé différents paramètres analytiques des trousses CEDIA ou EIA avec d'autres trousses, des méthodes immunologiques ou des méthodes chromatographiques.

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	X		
Reproductibilité		X	
Sensibilité analytique	X		
Spécificité analytique	X		
Effet de matrice			X

16. La trousse EIA désigne *Buprenorphine Enzyme Immunoassay* qui est vendue par Lin-Zhi International.

Concordance	X		
Corrélation entre test et comparateur	X		

Répétabilité et précision

Les données de répétabilité et de précision sont tirées de la monographie des trousses évaluées [Microgenics Corporation, 2012; Lin-Zhi International, 2013] et sont présentées au tableau 3. Pour la trousse EIA, les données extraites se rapportent à l'analyseur DxC600, l'équipement qui se rapproche le plus de celui utilisé par le requérant[17].

Pour les deux trousses, la précision intraessai et interessai augmente à mesure que la concentration dans l'échantillon augmente.

Tableau 3 Coefficients de variation intra et interessai observés à différentes concentrations de buprénorphine (trousses CEDIA et EIA)

CONCENTRATION (ng/ml)	NOMBRE DE SPÉCIMENS	INTRAESSAI	INTERESSAI*
		% CV	% CV
TROUSSE CEDIA			
4,4	120	5,7	5,0
6,8	120	3,9	3,8
36,5	120	2,6	4,0
TROUSSE EIA			
0	21 / 20**	0,0	200,0
2,5	21 / 20**	15,6	9,4
5,0	21 / 20**	4,9	5,0
7,5	21 / 20**	2,5	3,9
10,0	21 / 20**	3,8	3,0
12,5	21 / 20**	3,2	2,5
15,0	21 / 20**	2,7	2,7
17,5	21 / 20**	2,8	2,9
20,0	21 / 20**	2,5	2,0

Abréviations : CV : coefficient de variation; ng/mL : nanogramme par millilitre

*2 semaines d'intervalle; ** dosage de 21 échantillons pour l'intraessai et de 20 échantillons pour l'interessai

Sensibilité analytique

La limite de détection de la buprénorphine est de 1,25 ng/ml pour la trousse CEDIA et de 3 ng/ml pour la trousse EIA.

17. D'après le *Manuel de procédures opérationnelles normalisées* de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM.

Spécificité analytique

Selon la monographie du fabricant, la trousse CEDIA peut détecter le métabolite buprénorphine-3-β-D-G-glucuronide (réactivité croisée de 98 %). Une faible réactivité croisée (< 0,015 %) a également été observée avec la présence des métabolites norbuprénorphine et norbuprénorphine-3-β-D-G-glucuronide [Microgenics Corporation, 2012].

Une étude confirme les observations, mais avec des valeurs de réactivité plus élevées [Wu *et al*., 2009].

Pour la trousse EIA qui détecte la norbuprénorphine, la buprénorphine présente une réaction croisée de 94,3 % alors que les autres métabolites, soit la buprénorphine-glucuronide et la norbuprénorphine-glucuronide, ont une faible réactivité croisée (< 1 %) [Lin-Zhi International, 2013].

Des études indiquent des réactions croisées avec différentes substances (opioïdes) pouvant être présentes dans l'échantillon, à divers seuils de concentration. Ce sont notamment : la codéine, la dihydrocodéine, la morphine, la morphine-3-glucuronide, la méthadone, l'hydrocodone, la nalorphine, la naltrexone et la norpropoxyphène [Melanson *et al*., 2012; Microgenics Corporation, 2012; Bottcher *et* Beck, 2005; Pavlic *et al.*, 2005]. Une liste plus exhaustive est disponible auprès des fabricants.

Interférences

Le potentiel d'interférence des substances physiologiques endogènes a été vérifié avec un test de dosage de la récupération de la buprénorphine. Ces substances peuvent interférer sur ± 10 % de la valeur de la buprénorphine [Microgenics Corporation, 2012] ou sur ± 12 % de la valeur de la norbuprénorphine [Lin-Zhi International, 2013].

Concordance

La concordance (qualitative) entre les résultats obtenus par les trousses CEDIA et EIA comparativement aux méthodes ELISA et CG-MS est présentée au tableau 4.

Tableau 4 Concordance entre les trousses et les autres méthodes

ÉTUDE	MÉTHODE COMPARATIVE	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS	CONCORDANCE (%)	SEUIL DE POSITIVITÉ (ng/ml)
TROUSSE CEDIA				
Bottcher et Beck, 2005	ELISA	221	96,8	5
Microgenics Corporation, 2012	CG-MS	96	99,0	5
TROUSSE EIA				
Lin-Zhi International, 2013	CG-MS	82	97,4*	10

* Concordance positive. La concordance négative est de 95,3 %.

Corrélation entre le test et le comparateur

L'accord entre la trousse CEDIA et la CG-MS a été vérifié avec la régression linéaire. Le coefficient de corrélation est $r^2 = 0,968$ [Bottcher et Beck, 2005]. Les deux méthodes donnent donc des résultats très similaires puisque r^2 est proche de la valeur 1.

La corrélation entre la trousse CEDIA et la CG-MS a été vérifiée avec la régression des moindres carrés. Le coefficient de corrélation obtenu est r = 0,988 [Microgenics Corporation, 2012]. Cela signifie que les deux méthodes donnent des résultats très similaires puisque r est proche de la valeur 1.

L'étude de linéarité de la trousse EIA donne un coefficient de corrélation de $r^2 = 0,9941$ [Lin-Zhi International, 2013], ce qui indique que les résultats obtenus avec cette trousse sont proches des valeurs cibles attendues.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Le monitorage des médicaments substitutifs de la dépendance aux opioïdes est une réalité dans différents pays [Pergolizzi *et al*., 2010; AWMSG, 2008; CSAT, 2004] dont les États-Unis. Un guide de pratique clinique américain et des lignes directrices québécoises mentionnent que l'analyse de la buprénorphine peut servir à documenter l'observance du traitement par le patient [CMQ-OPQ, 2009; CSAT, 2004]. Toutefois, aucun guide ne précise si le fait de documenter l'observance du traitement permet de l'améliorer.

Bien que le suivi du maintien à la buprénorphine soit indiqué, la plupart des laboratoires ontariens ne testent pas de façon routinière la présence de buprénorphine dans l'urine [Handford *et al*., 2011].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

Les répercussions seraient minimes sur le personnel, car il s'agit d'un test à ajouter à l'ensemble des analyses à faire traiter par un analyseur automatisé. Quant aux ressources matérielles, cette analyse nécessite l'achat et la gestion des réactifs et des solutions d'étalonnage [Lin-Zhi International, 2013; Microgenics Corporation, 2012] et elle peut être faite sur un analyseur déjà existant (pour d'autres substances à analyser).

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

À défaut d'un protocole clair sur la fréquence des analyses (à la discrétion du médecin traitant), il est impossible de déterminer le volume annuel d'analyses nécessaires dans le futur étant donné le nombre croissant de patients traités et la durée optimale indéterminée du programme de maintien à la buprénorphine [Kleber, 2007].

Il semble être de pratique courante que l'analyse de la buprénorphine s'effectue en concomitance avec la détection d'autres substances illicites ou pouvant présenter des réactions croisées [entretien avec les intervenants du CRAN]. Par ailleurs, il existe des trousses de détection de la buprénorphine avec d'autres substances (en bandelettes ou en cassettes).

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

Les personnes traitées par buprénorphine doivent être suivies de près dans le cadre d'un programme global de désintoxication reposant sur une prise en charge médicale, sociale et psychologique de leur dépendance aux opioïdes [APC, 2013]. Or, l'analyse de la buprénorphine sert principalement à vérifier l'observance du traitement substitutif de la

dépendance aux opioïdes. Ainsi, cette analyse peut permettre un usage plus judicieux de ce médicament.

Cependant, les résultats de cette analyse peuvent aussi avoir des répercussions judiciaires et sociales négatives sur la vie des personnes. Par exemple, la non-observance pourrait conduire au refus d'accorder l'autorisation de doses de buprénorphine non supervisées, ou pire, dans des cas exceptionnels, à l'exclusion du programme de désintoxication, lequel pourrait alors constituer la rupture d'une condition imposée par un tribunal dans le cas de la garde d'enfants [Clément et Tourigny, 1999; Simpson *et al*., 1997].

La spécificité diagnostique du test est importante compte tenu des enjeux et des répercussions possibles sur le maintien au programme d'une personne dont l'analyse aurait eu un résultat faussement négatif ou sur l'efficacité du suivi (et des répercussions financières) à la suite d'un résultat faussement positif (réaction croisée avec d'autres drogues illicites). Par ailleurs, la prévention contre la falsification des échantillons par l'adultération ou par la substitution n'a pas été abordée dans les études répertoriées, malgré les recommandations relatives à la collecte d'échantillons d'urine [CMQ-OPQ 2009].

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

L'analyse de la buprénorphine sert principalement à vérifier l'observance du traitement substitutif de la dépendance aux opioïdes.

7.2 Validité diagnostique

La trousse CEDIA présente une bonne validité diagnostique avec des paramètres (sensibilité, spécificité, VPP, VPN, exactitude) supérieurs à 75 %. Quant à la trousse EIA, une seule étude est disponible pour documenter sa validité diagnostique qui est relativement bonne (au moins 67 %).

7.3 Validité analytique

Les deux trousses commerciales évaluées présentent une bonne validité analytique malgré les interférences possibles avec des substances physiologiques endogènes ou les réactions croisées avec des substances opioïdes.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Selon un guide de pratique clinique américain et les lignes directrices du CMQ-OPQ, l'analyse de la buprénorphine peut servir à documenter l'observance du traitement.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage semi-quantitatif de la buprénorphine par une méthode immunoenzymatique homogène

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

  L'utilité clinique n'est pas démontrée.
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

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

RÉFÉRENCES

All Wales medicines strategy group (AWMSG). Buprenorphine/naloxone (Suboxone®) as substitution treatment for opioid dependence. Final appraisal report, advice No 1108. Vale of Glamorgan, Royaume-Uni : AWMSG; 2008. Disponible à : http://www.awmsg.org/awmsgonline/app/appraisalinfo/70.

Alves MNR, Piccinotti A, Tameni S, Polettini A. Evaluation of buprenorphine LUCIO immunoassay versus GC-MS using urines from a workplace drug testing program. J Anal Toxicol 2013;37(3):175-78.

Association des pharmaciens du Canada (APC). e-CPS : Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques, 2013. Ottawa, ON : APC; 2013.

Bottcher M et Beck O. Evaluation of buprenorphine CEDIA assay versus GC-MS and ELISA using urine samples from patients in substitution treatment. J Anal Toxicol 2005;29(8):769-76.

Bryson EO, Lipson S, Gevirtz C. Anesthesia for patients on buprenorphine. Anesthesiol Clin 2010;28(4):611-7.

Center for substance abuse treatment (CSAT). Clinical guidelines for the use of buprenorphine in the treatment of opioid addiction. Treatment improvement protocol (TIP) series 40, DHHS Publication No (SMA) 04-3939. Rockville, MD : Substance abuse and mental health services administration; 2004. Disponible à : http://buprenorphine.samhsa.gov/Bup_Guidelines.pdf.

Centre de recherche et d'aide pour narcomanes (CRAN). La dépendance aux opioïdes : portrait des traitements de substitution au Québec. Montréal, Qc : CRAN; 2011.

Cirimele V, Etienne S, Villain M, Ludes B, Kintz P. Evaluation of the One-Step ELISA kit for the detection of buprenorphine in urine, blood, and hair specimens. Forensic Sci Int 2004;143(2-3):153-6.

Cirimele V, Kintz P, Lohner S, Ludes B. Enzyme immunoassay validation for the detection of buprenorphine in urine. J Anal Toxicol 2003;27(2):103-5.

Clément M-E et Tourigny M. Négligence envers les enfants et toxicomanie des parents : portrait d'une double problématique. Montréal, Qc : Comité permanent de lutte à la toxicomanie; 1999.

Collège des médecins du Québec (CMQ) et Ordre des pharmaciens du Québec (OPQ). La buprénorphine dans le traitement de la dépendance aux opioïdes. Lignes directrices. Montréal, Qc : OPQ; 2009.

De Giovanni N, Fucci N, Scarlata S, Donzelli G. Buprenorphine detection in biological samples. Clin Chem Lab Med 2005;43(12):1377-9.

Delamare J et Garnier M. Dictionnaire des termes de médecine. Paris, France : Maloine; 2002.

George S. Position of immunological techniques in screening in clinical toxicology. Clin Chem Lab Med 2004;42(11):1288-309.

Handford C, Kahan M, Srivastava A, Cirone S, Sanghera S, Palda V, et al. Buprenorphine/Naloxone for opioid dependence. Clinical practice guideline. Toronto, ON : Centre for addiction and mental health; 2011. Disponible à : http://knowledgex.camh.net/primary_care/guidelines_materials/Documents/buprenorphine_naloxone_gdlns2012.pdf.

Hull MJ, Bierer MF, Griggs DA, Long WH, Nixon AL, Flood JG. Urinary buprenorphine concentrations in patients treated with suboxone as determined by liquid chromatography-mass spectrometry and CEDIA immunoassay. J Anal Toxicol 2008;32(7):516-21.

Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Avis au Ministre : Suboxone [ressource électronique]. Évaluation publiée le 1 février 2012. Montréal, Qc : INESSS; 2012a. Disponible à : http://www.inesss.qc.ca/index.php?id=72&user_inessscapsules_pi1%5Buid%5D=1437&user_inessscapsules_pi1%5Bonglet%5D=2&cHash=3c084ecb2693fdaec15de37b985f2260.

Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Suboxone[MC]. Dans : Avis au Ministre de l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux pour la mise à jour des listes de médicaments. Montréal, Qc : INESSS; 2012b : 173-80. Disponible à : http://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Inscription_medicaments/Avis_au_ministre/Octobre_2012/AvisMinistre_innovateurs__2012_10_WEB.pdf.

Kleber HD. Pharmacologic treatments for opioid dependence: detoxification and maintenance options. Dialogues Clin Neurosci 2007;9(4):455-70.

Kronstrand R, Nystrom I, Andersson M, Gunnarsson L, Hagg S, Josefsson M, Ahlner J. Urinary detection times and metabolite/parent compound ratios after a single dose of buprenorphine. Journal of Analytical Toxicology 2008;32 (8):586-93.

Leino A et Loo BM. Comparison of three commercial tests for buprenorphine screening in urine. Ann Clin Biochem 2007;44(Pt 6):563-5.

Lin-Zhi international. Buprenorphine enzyme immunoassay. Revision 7. Sunnyvale, CA : Lin-Zhi international; 2013. Disponible à : http://www.lin-zhi.com.

Melanson SE, Snyder ML, Jarolim P, Flood JG. A new highly specific buprenorphine immunoassay for monitoring buprenorphine compliance and abuse. J Anal Toxicol 2012;36(3):201-6.

Microgenics Corporation. CEDIA® buprenorphine assay. Fremont, CA : Thermo Fisher Scientific; 2012. Disponible à : https://fscimage.fishersci.com/images/D13661~.pdf.

Miller EI, Torrance HJ, Oliver JS. Validation of the Immunalysis microplate ELISA for the detection of buprenorphine and its metabolite norbuprenorphine in urine. J Anal Toxicol 2006;30(2):115-9.

Ministère de la santé et des services sociaux (MSSS). Cadre de référence et guide de bonnes pratiques. Pour orienter le traitement de la dépendance aux opioïdes avec une médication de substitution. Québec, Qc : MSSS; 2006. Disponible à : http://publications.msss.gouv.qc.ca/acrobat/f/documentation/2006/06-804-01.pdf.

Office des Nations Unies contre la drogue et le crime (UNODC). [site Web]. 2013. Disponible à : http://www.unodc.org.

Pavlic M, Libiseller K, Grubwieser P, Rabl W. Cross-reactivity of the CEDIA buprenorphine assay with opiates: An Austrian phenomenon? Int J Legal Med 2005;119(6):378-81.

Pergolizzi J, Pappagallo M, Stauffer J, Gharibo C, Fortner N, De Jesus MN, et al. The role of urine drug testing for patients on opioid therapy. Pain Pract 2010;10(6):497-507.

Quevauvilliers J. Dictionnaire médical de poche. 2e éd. Paris, France : Masson; 2007.

Santé Canada. MDALL - Votre outil de référence concernant les instruments médicaux homologués au Canada [site Web]. Disponible à : http://webprod5.hc-sc.gc.ca/mdll-limh/start-debuter.do?lang=fra (consulté le 8 juillet 2013).

Simpson D, Braithwaite RA, Jarvie DR, Stewart MJ, Walker S, Watson IW, Widdop B. Screening for drugs of abuse (II): Cannabinoids, lysergic acid diethylamide, buprenorphine, methadone, barbiturates, benzodiazepines and other drugs. Ann Clin Biochem 1997;34 (Pt 5):460-510.

Wang G, Vincent M, Rodrigues W, Agrawal A, Moore C, Barhate R, et al. Development and GC-MS validation of a highly sensitive recombinant G6PDH-based homogeneous immunoassay for the detection of buprenorphine and norbuprenorphine in urine. J Anal Toxicol 2007;31(7):377-82.

Wild D. The Immunoassay Handbook. 3e éd. Oxford, Angleterre: Elsevier.2005

Wu MY, Wang YS, Lin CC, Lin DL, Su LW, Huang MH, Liu RH. An empirical study on the selection of analytes and corresponding cutoffs for immunoassay and GC-MS in a two-step test strategy--buprenorphine example. Analyst 2009;134(9):1848-56.

Yokell MA, Zaller ND, Green TC, Rich JD. Buprenorphine and buprenorphine/naloxone diversion, misuse, and illicit use: an international review. Curr Drug Abuse Rev 2011;4(1):28-41.

DÉCOMPTE DES CORPS LAMELLAIRES (RÉFÉRENCE – 2013.02.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Établissement demandeur : CHUM

1.2 Date de la demande d'examen au MSSS : 27 septembre 2012

1.3 Date de la réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Décompte des corps lamellaires du liquide amniotique pour évaluer la maturité pulmonaire fœtale. Ce décompte est fait par un analyseur automatisé Coulter utilisé pour le décompte globulaire et plaquettaire en hématologie, en raison d'un diamètre similaire des corps lamellaires (1-5 µm) à celui des plaquettes (2-4 µm).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

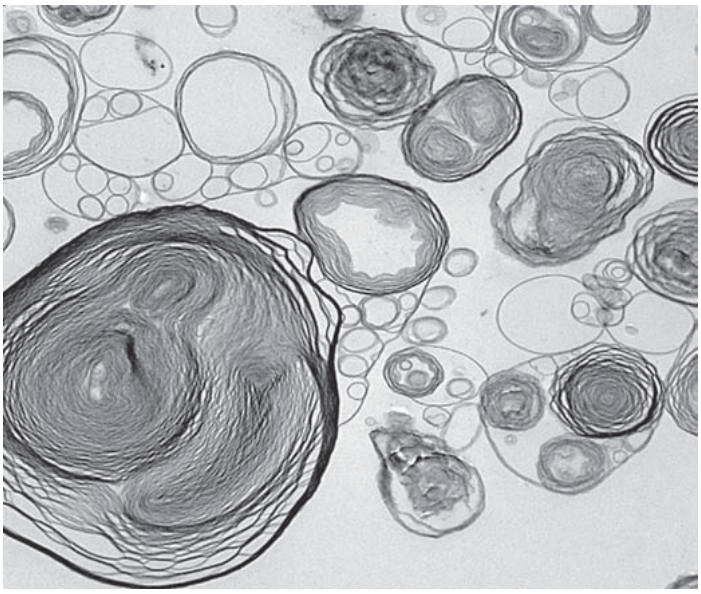
Les corps lamellaires sont des structures en couches concentriques où sont densément entreposées des réserves de surfactant pulmonaire [surtout des phospholipides (90 %), dont la lécithine (L), la sphingomyéline (S), le phosphatidylglycérol (PG), entre autres, et des protéines (10 %)] produit par le poumon fœtal [Lu *et al.*, 2008].

Le surfactant est produit par les pneumocytes à partir de 28 semaines de grossesse et sa concentration augmentera avec l'âge gestationnel. Ainsi, à 34 semaines et plus, une quantité suffisante de surfactant empêchera l'atélectasie pulmonaire à la naissance et préviendra le syndrome de détresse respiratoire (SDR) du nouveau-né, première cause de mortalité néonatale des enfants nés prématurément. Dans certains cas de grossesse à risque élevé où la naissance prématurée est envisagée, l'évaluation préalable de la maturité pulmonaire fœtale s'avère essentielle afin d'éviter le SDR.

Différents tests de maturité pulmonaire fœtale ont été proposés depuis 1971. C'est en 1989 que Dubin propose le décompte des corps lamellaires (figure 1) à l'aide d'un compteur de cellules utilisé en hématologie, en raison de leur diamètre similaire à celui des plaquettes.

Deux conditions sont importantes : l'état du liquide amniotique prélevé ainsi que le type de compteur automatisé utilisé. Le liquide amniotique, préférablement prélevé par voie abdominale, doit être exempt de sang, de mucus et de méconium et il ne devrait pas être centrifugé. Les compteurs automatisés utilisent différentes techniques de lecture : analyse optique de réfraction de la lumière par faisceau laser (p. ex. lecteur ADVIA de Bayer, puis Siemens), une technologie d'impédance électrique ou de radiofréquence (p. ex. lecteur Sysmex de Siemens et Coulter de Beckman) ou même une combinaison des deux techniques (p. ex. analyseur Cell-Dyn du laboratoire Abbott), donnant ainsi des résultats différents [Lu *et al.*, 2008]. L'appareil de référence suggéré par le requérant est le Coulter LH 750 à propos duquel un consensus de standardisation a été établi par plusieurs auteurs [Neerhof *et al.*, 2001a; Lockwood *et al.*, 2010].

Figure 1 Corps lamellaires – Microphotographie (x 40 000) au microscope électronique



Tirée de Lockwood *et al.*, Am J Clin Pathol 2010;134:420-8

2.3 Société ou développeur

Ne s'applique pas. Le liquide amniotique prélevé sera analysé par un compteur automatisé utilisé pour l'analyse de l'hémogramme.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA) : ne s'applique pas.

2.7 Valeur pondérée : 5,40.

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

3.1 Patients ciblés

Les fœtus, surtout avant 34 semaines de grossesse, lorsqu'une naissance prématurée est anticipée, soit de façon spontanée dans le cas d'un travail prématuré avec ou sans rupture des membranes, soit par indication médicale à cause d'un risque de complication fœtale ou maternelle.

3.2 Description de la maladie visée

Au moment de la naissance prématurée (< 37 semaines), mais surtout avant que la maturité pulmonaire fœtale ne s'installe (généralement vers 34 semaines), les poumons néonataux ne peuvent prendre leur expansion normalement en raison d'un manque de surfactant, produit surtout par les pneumocytes fœtaux de type II. En conséquence, le syndrome de détresse respiratoire (SDR) néonatal peut se développer, nécessitant des soins intensifs néonataux avec une ventilation assistée. Le SDR affecte 1 % de toutes les naissances et il touche 10 % de tous les nouveau-nés prématurés [Besnard *et al.*, 2013]. Le SDR du nouveau-né est la cause principale de mortalité des prématurés et il s'accompagne d'une morbidité significative (fibrodysplasie pulmonaire, apnée, cécité rétro-lenticulaire, entre autres) parmi les survivants.

Connaître le statut de maturité ou d'immaturité pulmonaire fœtale avant la naissance permettra, en cas d'immaturité pulmonaire, de réévaluer l'indication d'accouchement prématuré ou de réduire le risque de SDR néonatal, soit par l'administration maternelle anténatale de glucocorticoïdes (certes non dépourvus d'effets indésirables possibles) de 24 à 48 h avant la naissance, qui pourrait réduire d'au moins 25 % le risque de SDR, soit par l'instillation de surfactant exogène dans les voies aériennes du nouveau-né à sa naissance.

3.3 Nombre de patients visés

Le taux de prématurité d'environ 8 % au Québec sur les 85 000 naissances représente près de 7000 enfants nés avant 37 semaines. Parmi ceux-ci, moins de 10 % naîtront avant 32 semaines et seront très à risque de développer le SDR, et de 10 à 15 % environ naîtront entre 32 et 34 semaines avec un risque de léger à modéré de SDR. Il s'agit donc d'environ 1300 à 1500 enfants à risque par année.

La grande majorité des femmes en menace d'accouchement prématuré spontané avant 34 semaines recevront d'emblée des glucocorticoïdes. Ce n'est donc que dans les cas litigieux d'âge gestationnel incertain ou de complications graves maternelles ou fœtales, (comme le diabète débalancé réputé pour retarder la maturité pulmonaire fœtale, la maladie rénale ou hypertensive grave ou une suspicion d'état fœtal instable) qu'une amniocentèse pour l'évaluation de la maturité fœtale pulmonaire sera réalisée. On s'attend donc à ce que le test soit fait quelque centaines de fois par année au Québec.

3.4 Spécialités médicales concernées

Il s'agit des obstétriciens gynécologues, y compris les spécialistes en médecine fœto-maternelle des grands centres périnataux en ce qui concerne les accouchements prématurés pour indication médicale. Une expertise en biochimie/hématologie est nécessaire pour s'assurer de la qualité de l'échantillon et du contrôle de la qualité de la mesure ou du compteur automatisé.

3.5 Modalités d'administration

Le liquide amniotique doit préférablement être prélevé par amniocentèse abdominale sous vision échographique directe. Il doit être exempt de mucus, de sang et de méconium [Lu *et al.*, 2008].

Le liquide amniotique ne doit pas être centrifugé (Grenache et Gronowski, 2006). En effet, la centrifugation diminue du tiers le nombre de corps lamellaires [Neerhof *et al.*, 2001a; Lu *et al.*, 2008]. Il est stable à la température ambiante pour 10 jours et au réfrigérateur à 4ºC pour 50 jours [Lu *et al.*, 2008]. La congélation n'est pas recommandée; pour certains, le décompte est alors diminué de 15 à 33 % [Lu *et al.*, 2008; Lockwood *et al.*, 2010] alors que, pour d'autres, il reste inchangé [Grenache et Gronowski, 2006].

Une fois prélevé, le liquide amniotique, légèrement mélangé pour une homogénéité des corps lamellaires, peut être mesuré directement dans un autoanalyseur automatisé Coulter. Les principes de comptage utilisent, selon les autoanalyseurs, soit l'impédance électrique, soit la réfraction à la lumière pour déterminer les dimensions de la particule et la distinguer d'autres composants cellulaires. Les corps lamellaires du liquide amniotique sont quantifiés sur le même canal de détection que les plaquettes en raison de leurs dimensions similaires.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Selon l'information fournie par le demandeur, cette analyse se substitue à la mesure du phosphatidylglycerol (PG) réalisée soit par chromatographie sur couche mince, soit par un test d'immunohémagglutination sur lame avec un anticorps polyclonal commercial.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Il existe deux types de tests pour mesurer la maturité pulmonaire fœtale : les tests biochimiques et les tests biophysiques. Les tests biochimiques mesurent la concentration des constituants du surfactant pulmonaire fœtal, particulièrement les phospholipides, alors que les tests biophysiques évaluent les effets de ces phospholipides. Ces derniers tests sont peu utilisés : l'un par la mesure de la densité optique à 650 nm et l'autre se basant sur la propriété du surfactant à mousser en présence d'éthanol anhydre (test semi-quantitatif proposé par Clements et ses collaborateurs en 1972), appelé aussi le *shake test* ou le *Foam Stability Index*.

Le premier test biochimique se basait sur l'augmentation rapide, avec l'âge gestationnel, de la lécithine (L ou phosphatidylcholine) relativement à la sphingomyeline (S) établissant la maturité pulmonaire fœtale lorsque le rapport L/S > 2,0 ou 2,5 [Gluck *et al.*, 1971]. Ce test est réalisé par chromatographie sur couche mince, une technique nécessitant des habiletés particulières, donc non disponible en tout temps. C'est une technique relativement coûteuse, dont la réalisation prend plusieurs heures; elle a une bonne sensibilité, mais elle manque de spécificité en plus de présenter une pauvre précision analytique interlaboratoire.

Une autre mesure, considérée par plusieurs comme étant la méthode de référence, est la mesure d'un phospholipide secrété très tardivement (vers 35 semaines) par le poumon fœtal : le phosphatidylglycerol (PG), mesuré par chromatographie en couche mince [Hallman *et al.*, 1976]. Ce test présente aussi les mêmes désavantages que le rapport L/S.

Une trousse, l'Amniostat-FL M (Irvine Scientific, Ca, USA), avait la capacité de détecter en 30 minutes la présence de PG dans le liquide amniotique, par une méthode immunoenzymétrique avec un anticorps polyclonal anti-PG [Lockitch *et al.*, 1984; Eisenbrey *et al.*, 1989]. Ce test rapide pouvait être utilisé en présence de sang ou de méconium, mais il partageait le même défaut d'apparition tardive du PG avec 50 % de positivité à 34 semaines, date critique pour accoucher dans le cas de certaines grossesses à risque élevé.

Le test le plus utilisé en Amérique du Nord mesurait le rapport surfactant/albumine par polarisation de fluorescence par le principe de liaison compétitive d'une sonde fluorescente entre l'albumine et le surfactant pulmonaire fœtal du liquide amniotique. La méthode développée originalement par Shinitzky et ses collaborateurs [1976] a ensuite été améliorée [Russell, 1987] et modifiée en 1995 pour être offerte en trousse commerciale (TDX-FLM II; Abbott Laboratories, Il, USA). Ce test, avec une sensibilité à 100 % et une spécificité à 84 %, était recommandé en 1999 par la National Academy of Clinical Biochemistry aux É.-U., en raison de sa validité clinique, sa précision analytique, sa disponibilité 24 h/24 h et l'obtention des résultats en 90 minutes. Cependant, les fournisseurs commerciaux ont indiqué que la trousse ne serait plus disponible en 2011, imposant ainsi la recherche d'une option présentant les mêmes qualités cliniques et techniques.

Le décompte des corps lamellaires, déjà proposé par Dubin en 1989, constitue une option substitutive avantageuse.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Le décompte des corps lamellaires utilise un équipement standard disponible dans tous les établissements réalisant les analyses hématologiques simples comme la numération globulaire et plaquettaire. La technique est automatisée et ne nécessite pas de manipulation spécialisée. C'est une technique applicable en 30 minutes, du prélèvement au chevet (amniocentèse) au résultat. La mesure elle-même peut être faite en moins de 5 minutes. La technique est accessible en tout temps et elle n'est pas coûteuse. Finalement, cette technique est plus sensible et précise que les autres méthodes (voir la validité analytique).

Cependant, certaines précautions doivent être prises avec le liquide amniotique. L'amniocentèse abdominale est préférée pour éviter la présence de mucus qui augmentera le décompte des corps lamellaires [Lockwood *et al.*, 2010]. La présence de sang diminue la concentration alors que celle du méconium l'augmente [Lockwood *et al.*, 2010]. La manipulation du spécimen est importante : le contenu du tube est légèrement mélangé, mais il ne doit pas être congelé (réduction de la concentration) [Lockwood *et al.*, 2010]. Finalement, le type d'analyseur automatisé utilisé a une influence sur le décompte [Kyle et Lawrence, 2012; Lockwood *et al.*, 2010; Janicki *et al.*, 2009; Szallasi *et al.*, 2003]. Ainsi, chaque laboratoire doit-il établir ses propres normes selon le type d'analyseur disponible dans son établissement. On manque encore d'information en ce qui concerne le contrôle de la qualité interlaboratoire.

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Selon le requérant, ce test remplacerait la mesure du PG qui a le désavantage d'apparaître très tardivement (après 35 semaines) avec une positivité à 50 % à 34 semaines et donc une faible valeur prédictive positive. De plus le test utilisé, basé sur la chromatographie en couche mince, demande une habileté technique particulière, il est coûteux et prend du temps pour sa réalisation. Le décompte des corps lamellaires est disponible 24 h/24 h, très rapide (< 30 minutes), peu coûteux et plus précis.

5.1.2 Valeur diagnostique

La mesure de la maturité pulmonaire fœtale par le décompte des corps lamellaires prédira la maturité, la maturité transitionnelle (incertaine) ou l'immaturité selon le nombre (en dizaines de milliers) de corps lamellaires par microlitre de liquide amniotique.

La maturité pulmonaire fœtale est confirmée par l'absence du SDR à la naissance chez le nouveau-né, dans ses premières heures de vie. Ainsi, on déterminera l'exactitude diagnostique d'un décompte de corps lamellaires insuffisant (inférieur à un seuil consensuel) à prédire la survenue du SDR.

Seuil du statut de maturité fœtale pulmonaire

Beaucoup de discussions ont entouré le seuil limite du décompte des corps lamellaires pour établir la maturité fœtale pulmonaire avec le liquide amniotique. Depuis 2001 [Neerhof *et al.*, 2001a], plusieurs équipes ont proposé des valeurs limites établissant ou non le statut de maturité pulmonaire [Kyle et Lawrence, 2012; Tsuda *et al.*, 2011; Janicki *et al.*, 2009; Sapa *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2008; Grenache et Gorowski, 2006; Szallasi *et al.*, 2003].

La plupart des auteurs s'entendent pour établir la maturité fœtale pulmonaire à 50 000 particules/microlitre (µl) de liquide amniotique, un état intermédiaire (transitionnel) entre 15 000 et 49 000/µl et un statut d'immaturité à < 15 000/µl lorsque la numération est faite par un analyseur Coulter LH 750 [Lockwood *et al.*, 2010; Neerhof *et al.*, 2001a].

Les variations entre les différents autoanalyseurs ont été documentées par plusieurs publications [Kyle et Lawrence, 2012; Janicki *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2008; Szallasi *et al.*, 2003]. Selon la valeur seuil retenue, les sensibilités sont similaires, mais avec une plus grande variabilité des spécificités [Janicki *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2008; Szallasi *et al.*, 2003].

À noter que Zhao et ses collaborateurs [2013] viennent de proposer un tableau de risque absolu du SDR selon la numération de corps lamellaires et l'âge gestationnel entre 32 et 39 semaines. Ce calcul est basé sur une prévalence de SDR fixée à 8,5 % de sa population, mais il propose une formule pour réévaluer le risque en fonction de la prévalence locale du laboratoire qui réalise le test.

5.1.3 Valeur thérapeutique (en termes de choix thérapeutique associé au résultat du test)

En cas d'immaturité, on peut administrer des glucocorticoïdes à la mère de 24 à 48 heures avant l'accouchement ou du surfactant instillé dans les voies aériennes de l'enfant à la naissance.

5.2 Validité clinique

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

Deux méta-analyses regroupent plus d'une vingtaine de publications sur le sujet. Celle de Wijnberger et ses collègues [2001] fait état de 6 études publiées entre 1991 et 1996, et celle de Besnard et ses collègues [2013] présente 13 études publiées entre 1999 et 2006, où sont comparées les techniques de décompte des corps lamellaires, et celle du rapport L/S pour évaluer la maturité fœtale pulmonaire et leur performance à prédire le SDR. En ce qui concerne le rapport L/S, la technique était relativement similaire parmi toutes les publications, alors que le décompte des corps lamellaires présentait une grande hétérogénéité selon la préparation du liquide amniotique, sa centrifugation ou non, le type d'autoanalyseur et la valeur seuil de référence utilisée.

La première méta-analyse rapporte des sensibilités et spécificités entre 64 % et 92 % et entre 81 % et 100 % pour le rapport L/S comparées à des valeurs similaires variant de 71 % à 100 % et de 73 % à 100 %, respectivement, pour le décompte des corps lamellaires. Lorsque les deux courbes ROC sont comparées, on observe une performance prédictive qui semble meilleure avec le décompte des corps lamellaires vs le rapport L/S, mais qui n'est pas statistiquement significative [Wijnberger *et al.*, 2001].

Besnard et ses collègues [2013] rapportent les résultats d'une douzaine d'études où le décompte des corps lamellaires a été réalisé chez plus de 2400 patientes. Avec une prévalence de RDS qui variait de 6 % à 32 % selon les études, les sensibilités et spécificités pour le rapport L/S variaient de 62 % à 100 % et de 64 % à 89 %, respectivement. Pour le décompte des corps lamellaires, les sensibilités et les spécificités variaient de 73 % à 99 % et de 60 % à 100 %, respectivement. Les analyses en sous-groupes ont montré qu'un décompte des corps lamellaires de 50 000 à 55 000 permet une sensibilité très élevée (0,99; IC à 95 % : 0,92-1,00) et une spécificité à 65 %, alors qu'une numération de 15 000 à 25 000 est corrélée à une spécificité très élevée s'approchant de l'unité. Ici encore, la courbe ROC du décompte des corps lamellaires est légèrement supérieure à celle du rapport L/S [Besnard *et al.*, 2013].

En ce qui concerne les valeurs prédictives, celles-ci varient en fonction des prévalences rapportées dans les différentes études. Ainsi, Grenache et Gorowski [2006] font état d'une dizaine d'études avec des prévalences de SDR variant de 7,0 % à 15,9 %; ils rapportent des valeurs prédictives positives variant de 24 % à 100 % et des valeurs prédictives négatives de 98 % pour 2 études et de 100 % pour les 8 autres.

Effets de conditions particulières

Le décompte des corps lamellaires peut être affecté par certaines conditions de prélèvement ou par des situations cliniques maternelles ou fœtales.

a) Prélèvement vaginal

La collecte de liquide amniotique doit se faire préférablement par amniocentèse abdominale. Le prélèvement du liquide amniotique par voie vaginale, au moment de la rupture spontanée des membranes, est associé à une performance prédictive significativement diminuée. Avec une prévalence de SDR de 25 % à 34 %, la performance prédictive entre le prélèvement vaginal et l'amniocentèse abdominale est de 38,4 % vs 60,9 % pour la sensibilité, de 69,6 % vs 89,9 % pour la spécificité et de 0,52 ± 0,08 vs 0,84 ± 0,03, respectivement pour l'aire sous la courbe ROC [Wijnberger *et al.*, 2010].

b) Grossesse gémellaire

La performance prédictive du décompte des corps lamellaires n'est pas modifiée en présence de grossesse gémellaire. Avec une série de 202 grossesses gémellaires entre 29 et 38 semaines, rapportées par Tsuda et ses collaborateurs [2012], la performance prédictive (en termes de sensibilité, de spécificité et d'aire sous la courbe ROC) était similaire à celle des grossesses uniques. Ainsi, pour un décompte de 29 500 par µl de liquide amniotique, les sensibilités étaient de 91,5 % vs 94,0 %, les spécificités étaient de 83,3 % vs 82,4 % et les aires sous les courbes ROC de 96,1 % et 92,7 % pour les grossesses gémellaires et les grossesses uniques, respectivement [Tsuda *et al.*, 2013; 2010].

c) Infection intra-utérine

À partir de 365 échantillons de liquide amniotique, 13 des 42 grossesses avant 34 semaines (28-33 semaines) ont présenté une infection amniotique intra-utérine déterminée par un taux de glucose dans le liquide amniotique < 0,8 mmol/l et un CRP > 0,3 mg/dl. Aucun enfant n'a développé le SDR. Le décompte des corps lamellaires était supérieur à 50 000/µl, sauf dans deux cas (22 000 et 34 000/µl). Ce décompte était significativement plus élevé que la valeur seuil des grossesses sans infection intraamniotique ($p < 0,05$) [Tsuda *et al.*, 2010].

d) Diabète maternel

Le diabète maternel est associé à un retard de maturité pulmonaire fœtale. Cependant, la présence ou non d'un diabète maternel ne montre pas de différence significative entre 34 et 38 semaines; le décompte des corps lamellaires est de 145 000 par µl chez 14 femmes diabétiques vs 116 000 par µl chez 309 mères non diabétiques. Avant 34 semaines, ces valeurs sont moindres mais elles restent similaires : 18 000 par µl chez 3 diabétiques et 84 000 par µl chez 39 non diabétiques [Tsuda *et al.*, 2010]. Il en est de même pour le contrôle glycémique défini par une moyenne de glycémie au troisième trimestre < 6,7 mmol/l; chez 187 femmes, le décompte des corps lamellaires n'était pas modifié, que le contrôle ait été adéquat ou non (De Luca *et al.*, 2009).

e) Hypertension gravidique, retard de croissance

L'impact des troubles hypertensifs de grossesse a été rapporté. Stimac et ses collaborateurs [2012] présentent une série de 25 cas de prééclampsie (PE), 74 retards de croissance intra-utérine (RCIU), 63 PE + RCIU comparés à 144 grossesses normotendues sans RCIU, à 4 périodes gestationnelles. Entre 26-30 et 37-39 semaines, il n'y a aucune différence entre les groupes. Entre 31 et 33 semaines, les PE ont le même décompte que les normotendues

(80 000 par µl) alors que les RCIU avec ou sans PE ont un décompte presque doublé à 150 000 et 175 000, respectivement ($p < 0,02$ et $p < 0,03$). Entre 34 et 36 semaines, c'est la PE qui a significativement abaissé son décompte relativement aux normotendues (145 000 vs 350 000 par µl, $p < 0,05$) bien que tous les groupes aient montré l'atteinte du seuil de la maturité pulmonaire fœtale [Stimac *et al.*, 2012].

Une autre cohorte de 72 grossesses hypertensives [Torrance *et al.*, 2008] ne montre pas de différence significative du nombre de corps lamellaires bien que le syndrome de HELLP[18] semble être associé à une réduction importante mais non significative comparativement à la normotension (80 000 vs 15 000 par µl, $p = 0,053$).

Bref, la validité clinique du test est conservée dans les conditions cliniques obstétricales rapportées.

5.3 Validité analytique

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

La répétabilité du décompte des corps lamellaires est excellente. Ainsi, avec un autoanalyseur automatisé Coulter LH 750, Lockwood et ses collaborateurs [2010] rapportent un coefficient de variation très faible lorsque les 3 échantillons de liquide amniotique ont été testés 11 fois à l'occasion de la même analyse (imprécision intraessai), soit 1,8 % pour un décompte de 25 300 par µl, 2,5 % pour 33 100 par µl et 2,1 % pour 53 600 par µl. Cette variation était la meilleure comparativement à deux autres types d'autoanalyseurs (Sysmex XE-2100, Coulter Ac.T diffz). La mesure répétitive sur 6 jours différents de 4 liquides amniotiques a montré des coefficients de variation de 5,1 % pour un décompte de 14 800 par µl, de 4,8 % pour 28 700 par µl, de 3,4 % pour 54 700 par µl et de 1,9 % pour 66 000 par µl. Ici encore, les coefficients de variation étaient meilleurs avec l'autoanalyseur Coulter LH 750 qu'avec le Sysmex [Lockwood *et al.*, 2010].

Pour Sapa [2009] qui a testé 3 échantillons 10 fois à l'occasion d'une même analyse, les coefficients de variation variaient de 8,9 % avec une numération de 14 000 par µl, de 2,9 % pour 76 600 par µl et de 2,2 % pour 156 000 par µl.

La linéarité, ou la capacité à reproduire le résultat attendu lorsque le spécimen est dilué, a été réalisée en produisant une proportion finale de 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 10 % et 5 % de la concentration initiale. Elle a donné un coefficient de corrélation global presque parfait

18. HELLP pour ***H**emolysis, **E**levated **L**iver enzymes, **L**ow **P**latelet count*.

(r^2 = 0,997) avec le Coulter LH 750. Il en a été de même avec le Sysmex [Lockwood *et al.*, 2010].

La stabilité des corps lamellaires a été évaluée à 4 ºC et à - 80 ºC. Les corps lamellaires sont stables pour au moins 33 jours au réfrigérateur avec une imprécision de 1,2 % qui augmentera à 15,1 % avec l'autoanalyseur Sysmex. Une simple décongélation diminue de 31 % en moyenne le décompte, indépendamment de la concentration initiale de corps lamellaires. Lorsque ceux-ci sont examinés au microscope électronique, on note une disposition des particules denses et une dimension réduite des structures concentriques lamellaires [Lockwood *et al.*, 2010].

Il a déjà été rapporté que l'ajout de sang total au liquide amniotique peut causer une réponse diphasique avec une augmentation immédiate suivie par une diminution lorsque les corps lamellaires forment un agrégat avec la fibrine [Lockwood *et al.*, 2010], mais cela n'a pas été observé à une concentration de 0,03 x 10^{12} globules rouges /L ou moins [Lockwood *et al.*, 2010].

L'addition de méconium augmente artificiellement le décompte, ce qui constitue une contre-indication de ce test en présence d'un liquide amniotique avec méconium, tel que rapporté par la plupart des auteurs.

5.4 Recommandations d'autres organismes

La revue *UpToDate* américaine suggère l'utilisation du décompte des corps lamellaires comme premier choix [Gillen-Goldstein *et al.,* 2013]; il en est de même dans le bulletin du laboratoire de Pathology Rex (Caroline du Nord, É.-U.) [Benson, 2010].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

6.2 Conséquences économiques : n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Le test de décompte des corps lamellaires du liquide amniotique permet d'évaluer la maturité pulmonaire fœtale lorsque la grossesse n'est pas rendue à terme. Test disponible 24 h/24 h, rapide, facile et peu coûteux.

7.2 Validité clinique

Avec une valeur seuil déterminée en utilisant l'autoanalyseur Coulter, et avec un liquide amniotique prélevé par amniocentèse abdominale, non centrifugé, la sensibilité et la spécificité varient de 62 % à 100 % et de 64 % à 89 %, respectivement.

7.3 Validité analytique

Avec une standardisation selon l'autoanalyseur Coulter, la précision intra et intertest est excellente (souvent CV < 5 %). La reproductibilité et la capacité à reproduire le résultat attendu avec un spécimen soumis à diverses dilutions sont excellentes (r2 : 0,997). De plus,

le spécimen reste stable à la température ambiante et au réfrigérateur.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Cette analyse est proposée comme premier choix [Gillen-Goldstein *et al.*, 2013], elle serait la meilleure option depuis la disparition, en 2011, d'un test rapide disponible en trousse.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Décompte des corps lamellaires

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

Recommandation additionnelle

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

Notes

L'indication clinique de cette analyse est claire.

Toutefois, quelques points doivent être considérés à l'occasion de l'implantation :

- les précautions analytiques sont importantes (voir texte de l'avis);
- la valeur seuil doit être déterminée par chaque laboratoire;
- l'interprétation de l'analyse est difficile et elle requiert de l'expertise; il est essentiel de maintenir un certain volume pour assurer la qualité.

Il reste à déterminer s'il faut maintenir la mesure du phosphatidylglycérol (PG) ou du rapport L/S (code 30304) pour l'évaluation de la maturité pulmonaire fœtale dans les cas où le décompte des corps lamellaires n'est pas possible pour des raisons techniques (p. ex. la présence de méconium) ou si on doit la maintenir uniquement dans certains centres.

RÉFÉRENCES

Benson JD. Changes in fetal lung maturity testing - again. Rex laboratory bulletin, number 162 2010. Disponible à : http://www.rexhealth.com/workfiles/services/lab/june10LBweb.pdf.

Besnard AE, Wirjosoekarto SA, Broeze KA, Opmeer BC, Mol BW. Lecithin/sphingomyelin ratio and lamellar body count for fetal lung maturity: a meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013;169(2):177-83.

Clements JA, Platzker AC, Tierney DF, Hobel CJ, Creasy RK, Margolis AJ, et al. Assessment of the risk of the respiratory-distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. N Engl J Med 1972;286(20):1077-81.

De Luca AK, Nakazawa CY, Azevedo BC, Rudge MV, De Araujo Costa RA, Calderon IM. Influence of glycemic control on fetal lung maturity in gestations affected by diabetes or mild hyperglycemia. Acta Obstet Gynecol Scand 2009;88(9):1036-40.

Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive-pulse counting: relationship to measures of fetal lung maturity. Clin Chem 1989;35(4):612-6.

Eisenbrey AB, Epstein E, Zak B, McEnroe RJ, Artiss JD, Kiechle FL. Phosphatidylglycerol in amniotic fluid. Comparison of an "ultrasensitive" immunologic assay with TLC and enzymatic assay. Am J Clin Pathol 1989;91(3):293-7.

Gillen-Goldstein J, MacKenzie AP, Funai EF. Assessment of fetal lung maturity. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com/contents/assessment-of-fetal-lung-maturity?source=search_result&search=assessment+of+fetal+lung+maturity&selectedTitle=1%7E150 (consulté le 4 juillet 2013).

Gluck L, Kulovich MV, Borer RC, Jr., Brenner PH, Anderson GG, Spellacy WN. Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. Am J Obstet Gynecol 1971;109(3):440-5.

Grenache DG et Gronowski AM. Fetal lung maturity. Clin Biochem 2006;39(1):1-10.

Hallman M, Kulovich M, Kirkpatrick E, Sugarman RG, Gluck L. Phosphatidylinositol and phosphatidylglycerol in amniotic fluid: indices of lung maturity. Am J Obstet Gynecol 1976;125(5):613-7.

Janicki MB, Dries LM, Egan JF, Zelop CM. Determining a cutoff for fetal lung maturity with lamellar body count testing. J Matern Fetal Neonatal Med 2009;22(5):419-22.

Kyle PB et Lawrence TJ. Aberrant lamellar body counts noted on the Beckman Coulter Unicel DxH 800. Clin Chem Lab Med 2012;50(9):1631-3.

Lockitch G, Wittman B, Mura S, Hawkley L. Evaluation of the amniostat-FLM assay for assessment of fetal lung maturity. . Clin Chem 1984;30(7):1233-7.

Lockwood CM, Crompton JC, Riley JK, Landeros K, Dietzen DJ, Grenache DG, Gronowski AM. Validation of lamellar body counts using three hematology analyzers. Am J Clin Pathol 2010;134(3):420-8.

Lu J, Gronowski AM, Eby C. Lamellar body counts performed on automated hematology analysers to assess fetal lung maturity. Lab Med 2008;39(7):419-23.

Neerhof MG, Dohnal JC, Ashwood ER, Lee IS, Anceschi MM. Lamellar body counts: a consensus on protocol. Obstet Gynecol 2001;97(2):318-20.

Neerhof MG, Haney EI, Silver RK, Ashwood ER, Lee IS, Piazze JJ. Lamellar body counts compared with traditional phospholipid analysis as an assay for evaluating fetal lung maturity. Obstet Gynecol 2001;97(2):305-9.

Russell JC. A calibrated fluorescence polarization assay for assessment of fetal lung maturity. Clin Chem 1987;33(7):1177-84.

Sapa A, Klosek A, Szymkowiak J, Zalewski J, Czyzewska M, Wozniak M. Comparison of two fetal lung maturity tests - Analytical validation and preliminary clinical assessment of the LBC test and the TDx-FLM II assay. Advances in Clinical and Experimental Medicine 2009;18(6):567-73.

Shinitzky M, Goldfisher A, Bruck A, Goldman B, Stern E, Barkai G, et al. A new method for assessment of fetal lung maturity. Br J Obstet Gynaecol 1976;83(11):838-44.

Stimac T, Petrovic O, Krajina R, Finderle A. The influence of pre-eclampsia on fetal lung maturity. Int J Gynaecol Obstet 2012;118(1):18-20.

Szallasi A, Gronowski AM, Eby CS. Lamellar body count in amniotic fluid: a comparative study of four different hematology analyzers. Clin Chem 2003;49(6 Pt 1):994-7.

Torrance HL, Voorbij HAM, Wijnberger LD, van Bel F, Visser GHA. Lung maturation in small for gestational age fetuses from pregnancies complicated by placental insufficiency or maternal hypertension. Early Human Development 2008;84 (7):465-9.

Tsuda H, Kotani T, Sumigama S, Kawabata I, Takahashi Y, Iwagaki S, et al. Validity of lamellar body count as a fetal lung maturity assessment in twin pregnancy. Twin Res Hum Genet 2012;15(4):547-9.

Tsuda H, Takahashi Y, Iwagaki S, Kawabata I, Hayakawa H, Kotani T, et al. Intra-amniotic infection increases amniotic lamellar body count before 34 weeks of gestation. J Matern Fetal Neonatal Med 2010;23(10):1230-6.

Tsuda H, Takahashi Y, Iwagaki S, Uchida Y, Kawabata I, Hayakawa M, et al. Amniotic lamellar body counts can predict the occurrence of respiratory distress syndrome as well as transient tachypnea of the newborn (TTN). J Perinat Med 2011;39(3):245-50.

Wijnberger LD, de Kleine M, Voorbij HA, Arabin B, Engel H, Bruinse HW, et al. Comparison of vaginal and transabdominal collection of amniotic fluid for fetal lung maturity tests. J Matern Fetal Neonatal Med 2010;23(7):613-6.

Wijnberger LD, Huisjes AJ, Voorbij HA, Franx A, Bruinse HW, Mol BW. The accuracy of lamellar body count and lecithin/sphingomyelin ratio in the prediction of neonatal respiratory distress syndrome: a meta-analysis. British Journal of Obstetrics and Gynaecology 2001;108(6):583-88.

ANALYSE DU TEST RESPIRATOIRE À L'URÉE MARQUÉE AU CARBONE 13 PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE À RATIOS ISOTOPIQUES POUR LA DÉTECTION DE *H. PYLORI* (RÉFÉRENCE – 2013.02.003.1)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital Saint-Luc du CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 29 août 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Détection de la bactérie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) par le test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 (TRU^{13}C) analysé par spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI)

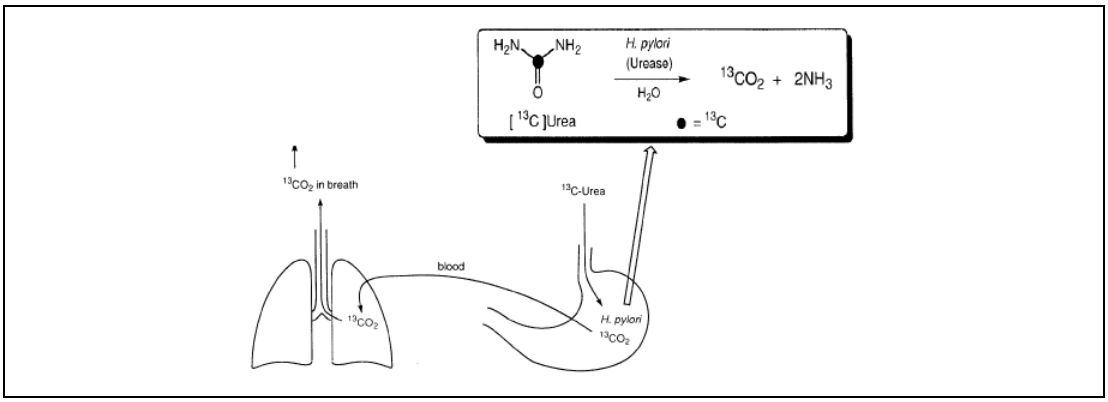
2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

Le plus répandu des tests respiratoires au carbone 13[19] est celui à l'urée marquée (TRU^{13}C) [Mion, 2000]. Le TRU^{13}C destiné à la détection de *H. pylori* est basé sur le principe que, lorsque cette bactérie est présente dans l'estomac d'un individu et que ce dernier ingère de l'urée marquée au ^{13}C, ladite bactérie transforme cette urée en $^{13}CO_2$ et ammoniaque (NH_3), et ce, grâce à l'action de son abondante uréase. La réaction enzymatique a lieu dans la couche de mucus où se trouve *H. pylori* et le $^{13}CO_2$ produit se diffuse dans les cellules épithéliales puis dans le sang et il est éliminé par les poumons [Wang *et al*., 2013] (figure 1). Un premier échantillon d'air exhalé par le patient est prélevé au temps 0 (T = 0) et un deuxième est prélevé une demi-heure après (T = 30). Les échantillons sont ensuite analysés par spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI) ou à l'aide d'autres technologies comme la spectroscopie infrarouge non dispersive (SIRND) ou l'analyse assistée par laser

19. Un élément du tableau périodique peut présenter des atomes de masses différentes, appelés isotopes. Par exemple, la majorité du carbone dans la nature possède une masse atomique de 12, mais il existe du carbone de masse 13 (carbone 13) et du carbone de masse 14 (carbone 14) [Site Web d'Eastmain1. Disponible à : http://www.eastmain1.org/files/pdf/fichespedagogiques/FR/HQ_04_fr_GES_Isotopes_080926_1_FM.pdf].

(LARA) [Gisbert et Pajares, 2004]. Le résultat de l'analyse de chaque échantillon est le delta (δ), exprimé en parties par millier (‰), qui représente la différence relative entre le ratio isotopique de l'échantillon et celui d'une substance de référence[20]. La différence entre les δ des échantillons (T = 30 et T = 0) d'un même patient représente le *delta over baseline* (DOB). Le résultat final du test est généralement considéré comme positif lorsque le DOB est supérieur à 5 ‰ [Gisbert et Pajares, 2004].

Figure 1 Principe du TRU^{13}C pour la détection de *H. pylori*

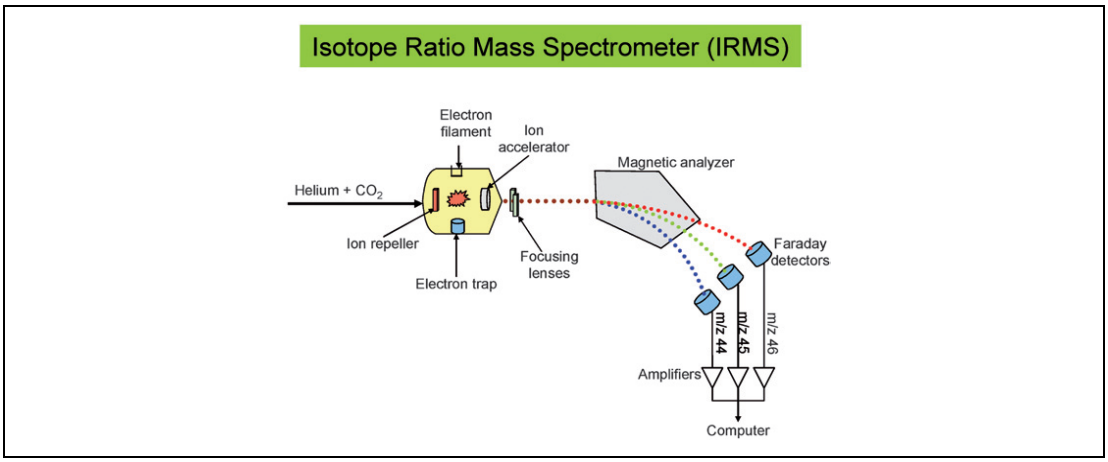


Source : Kajiwara *et al.*, 1997.

La SMRI est une spécialisation de la spectrométrie de masse, dont le principe est de séparer des ions en fonction de leur masse et de leur charge. Comme le montre la figure 2, l'échantillon à examiner est introduit[21] dans une source d'ionisation. Les molécules de l'échantillon sont alors ionisées (par un bombardement électronique) puis accélérées. Les détecteurs trient les ions selon leur masse (masse 44 pour le $^{12}C^{16}O_2$, masse 45 pour le $^{13}C^{16}O_2$, etc.). Ces différents ions parcourent, dans le champ magnétique, des trajectoires circulaires différentes dont les rayons dépendent du rapport masse sur charge. L'intensité des signaux est ainsi mesurée de façon spécifique et elle révèle le ratio ^{13}C :^{12}C de l'échantillon [Elbast et Brazier, 1999; Brazier, 1997]. Selon de l'information fournie dans la demande, la SMRI est une analyse semi-quantitative.

20. $\delta = 1000(R_{éch} - R_{réf})/R_{réf}$
$R_{éch}$ est le ratio ^{13}C :^{12}C dans l'échantillon et $R_{réf}$ est le ratio ^{13}C :^{12}C dans une substance de référence [Wang *et al.*, 2013; Verkouteren *et al.*, 1995].
21. L'un des dispositifs d'introduction de l'échantillon les plus communs est un chromatographe en phase gazeuse qui permet la séparation des entités d'un mélange avant analyse [Muccio et Jackson, 2009].

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



Source : Muccio, Z. et G. P. Jackson (2009). « Isotope Ratio Mass Spectrometry ». Analyst 134 (2) : 213-222.

2.3 Société ou développeur : aucun appareil en particulier n'est mentionné dans la demande.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

En ce qui concerne le TRU^{13}C, la trousse Dia13-Helico Breath test kit du fabricant RAD Diagnostics porte le numéro d'homologation de Santé Canada 64105[22]. Par contre, aucun spectromètre de masse à ratios isotopiques ayant été homologué par Santé Canada n'a été trouvé. La raison probable est que ces appareils sont vendus en vue d'applications générales de laboratoire et que cela dépasse le cadre du règlement de Santé Canada sur l'homologation des instruments médicaux[23].

2.7 Valeur pondérée : 33,5.

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

3.1 Patients ciblés

Les indications cliniques de l'analyse sont la détection initiale et la confirmation de l'éradication de l'infection à *H. pylori* chez des adultes qui souffrent de dyspepsie[24] sans symptômes alarmants[25].

22. [Site Web de Santé Canada. Disponible à : http://webprod5.hc-sc.gc.ca/mdll-limh/information.do?deviceId_idInstrument=179042&deviceName_nomInstrument=DIA13-HELICO+BREATH+TEST+KIT&licenceId=64105&lang=fra].
23. Communication électronique personnelle avec Mme Christine Tabib de Santé Canada (8 octobre 2013).
24. Dyspepsie : douleur ou inconfort chronique ou récurrent dans la partie supérieure de l'abdomen [Talley *et al.*, 2005].
25. Symptômes alarmants : saignement, anémie, perte de poids inexpliquée (> 10 %), vomissements persistants, antécédent familial de cancer gastro-intestinal, ulcère gastroduodénal antérieur documenté, etc.) [Talley *et al.*, 2005].

3.2 Description de la maladie visée

L'infection à *H. pylori*, une bactérie qui n'infecte que l'humain, est la plupart du temps acquise pendant l'enfance et elle est habituellement asymptomatique [Neale et Logan, 1995].

Cette infection peut mener à divers désordres comme l'inflammation de l'estomac (gastrite), l'ulcère gastroduodénal (10 % - 20 %), l'adénocarcinome de l'estomac distal (1 % - 2 %) et le lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses de l'estomac [Kusters *et al*., 2006; Parsonnet *et al*., 1994; Nomura *et al*., 1991; Parsonnet *et al*., 1991].

La prévalence de l'infection à *H. pylori* au Canada variait entre 21 % et 41 % dans un échantillon de la population de la Nouvelle-Écosse âgée de 20 à 59 ans [Veldhuyzen van Zanten *et al*., 1994]. En Ontario, la prévalence globale chez les adultes âgés de 50 à 80 ans était de 23 % (29,4 % chez les hommes et 14,9 % chez les femmes [Naja *et al.*, 2007].

3.3 Nombre de patients visés

Selon l'information fournie dans la demande, le volume provincial attendu pour les trois prochaines années est de 500 patients/an. Toutefois, la prévalence élevée de l'infection à *H. pylori* qui est évoquée porte à croire que le volume pourrait être beaucoup plus important.

3.4 Spécialités médicales concernées

Il s'agit de la gastroentérologie, de la médecine familiale et de la pédiatrie.

3.5 Modalités d'administration du test

Selon l'information fournie par le demandeur, le TRU^{13}C est pratiqué à l'aide de la trousse Dia13-Helico de RAD Diagnostics. De plus amples détails sur ce test sont mis à la disposition de la population par l'établissement demandeur[26] : tout d'abord, le patient à jeun (depuis au moins 3 h) doit boire une boisson à base d'acide citrique puis souffler, avec une paille, dans deux éprouvettes. Ensuite, il doit boire une autre boisson à base d'acide citrique dans laquelle l'urée marquée au ^{13}C a été dissoute, puis attendre 30 minutes. Enfin, il doit souffler à nouveau, avec une paille, dans deux autres éprouvettes. L'ingestion des boissons permet notamment de retarder la vidange de l'estomac et de maximiser la distribution de l'urée marquée dans l'estomac, sans compter que le pH acide de ces boissons favorise l'activité de l'uréase de *H. pylori* [Wang *et al*., 2013]. En plus d'être à jeun, le patient doit se préparer en suivant des directives relatives à la consommation de certains médicaments[27].

Des instructions quant au traitement des échantillons[28] doivent également être suivies par le personnel médical. Ces dernières indiquent que le prélèvement doit être fait avec les éprouvettes de la trousse, lesquelles, après coup, doivent être fermées hermétiquement puis conservées et acheminées à la température ambiante. Ainsi, les échantillons peuvent

26. Site Web du CHUM. Disponible à : http://www.chumontreal.qc.ca/sites/default/files//documents/Votre_sante/PDF/91_4005008_test_respiratoire_a_luree_2013-03-19.pdf.
27. Le patient ne doit avoir consommé ni antibiotiques dans les 4 semaines précédant le test, ni inhibiteurs de pompe à protons dans les 2 semaines précédant le test, ni antiacides dans la semaine précédant le test [Site Web du CHUM. Disponible à : http://www.chumontreal.com/laboratoires/images/stories/documents/annexes/A7Bi_.pdf].
28. Site Web du CHUM. Disponible à : http://www.chumontreal.com/laboratoires/index.php?option=com_content&view=article&id=1233%3Ahelicobacter-pylori&catid=34%3Aanalysesbio&Itemid=58.

être prélevés puis envoyés par la poste à l'établissement qui en fera l'analyse par SMRI. Ces échantillons sont en effet stables pour de longues périodes (5 semaines) [Jordaan et Laurens, 2008].

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

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

L'analyse serait complémentaire à celle intitulée « Prélèvement du test respiratoire de la détection de l'*Helicobacter pylori* à l'urée marquée au carbone 13 (code 70019) ». Par ailleurs, le demandeur indique que l'analyse serait substitutive au test respiratoire à l'urée marquée au carbone 14 (TRU^{14}C) pratiqué en médecine nucléaire. Ce dernier ne figure pas au répertoire.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

En plus des tests respiratoires et sérologiques, l'infection à *H. pylori* peut être détectée par la recherche d'un antigène bactérien dans les selles. En ce qui concerne l'analyse d'échantillons suivant le TRU^{13}C, la SMRI est l'étalon or à l'échelle internationale [Jordaan et Laurens, 2008].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Étant très sensible, la SMRI peut détecter de minimes variations d'enrichissement isotopique dans de très faibles volumes de gaz. Ainsi, environ 100 microlitres (µl) d'échantillon sont nécessaires par analyse [Mion, 2000], voire 50 à 100 µl pour un système équipé d'un chromatographe en phase gazeuse [Mion *et al*., 2001]. Comme chaque éprouvette contient environ 10 millilitres (ml) d'air expiré, chaque échantillon peut être réanalysé jusqu'à 10 fois [Elbast et Brazier, 1999], voire plus. De surcroît, un grand nombre d'éprouvettes (> 200) peuvent être analysées à la fois, ce qui est idéal pour un centre de référence [Gisbert et Pajares, 2004].

L'achat d'un appareil servant à plusieurs établissements permet d'ailleurs d'amortir les coûts [Gisbert et Pajares, 2004], surtout que le même appareil peut être utilisé pour d'autres tests au ^{13}C (par exemple pour évaluer la vidange gastrique) qui constituent par ailleurs une voie d'avenir pour l'exploration fonctionnelle de différentes fonctions digestives et hépatiques [Mion, 2000].

Selon l'information fournie dans la demande, le TRU^{13}C et le TRU^{14}C ont généralement une efficacité équivalente, mais le TRU^{14}C est radioactif et il doit être analysé dans un service de médecine nucléaire (qui est moins accessible). Ainsi, il ne convient ni aux femmes enceintes ni aux enfants en plus d'imposer des restrictions relatives à la fréquence et au transport des échantillons [Lee *et al*., 1998]. Par ailleurs, le TRU^{13}C présente l'avantage d'être non invasif et d'explorer la totalité de l'estomac, de sorte que le problème de détection associé à la biopsie (en raison de la colonisation inégale de *H. pylori* dans l'organe en question) ne se pose pas [Kato *et al*., 2002]. Enfin, la sérologie est une analyse indirecte et elle ne permet pas de discriminer entre une infection passée et une infection active [Kalach *et al*., 1998], alors que le TRU^{13}C analysé par SMRI est direct car il ne détecte que l'uréase active de *H. pylori*.

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

La pertinence clinique du TRU^{13}C est énoncée dans les sections suivantes, indépendamment de l'appareil utilisé pour l'analyse des échantillons.

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Le TRU^{13}C remplacerait le TRU^{14}C (voir la section 4.1) car, contrairement à ce dernier, il n'est pas radioactif (voir la section 4.3). Ce test n'est pas dans le Répertoire.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Le TRU^{13}C est un test établi pour le diagnostic de routine de l'infection à *H. pylori* [AÉTMIS, 2005; Braden *et al*., 1994].

5.1.3 Valeur thérapeutique

Le TRU^{13}C est un bon test pour évaluer l'éradication après traitement contre *H. pylori* puisqu'il évite les faux négatifs associés à la biopsie (attribuables à la colonisation inégale de *H. pylori* dans l'estomac) et les faux positifs associés à la sérologie (attribuables à la présence d'anticorps anti-*H. pylori*) [Peng *et al*., 2004].

5.2 Validité clinique

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

Pour chacun des paramètres suivants, entre 4 et 6 études ont été repérées. Il en ressort que : la **sensibilité clinique** varie entre 93,1 % et 100 %; la **spécificité clinique** entre 55,0 % et 98,9 %; la **valeur prédictive positive** (VPP) entre 63,0 % et 98,7 %; la **valeur prédictive négative** (VPN) entre 88,2 % et 99,0 %; et l'**exactitude** entre 74,4 % et 98,0 % (tableau 1 en annexe).

Les études retenues comme source de données probantes montrent des différences dans le prélèvement de l'échantillon pour le TRU^{13}C, notamment en ce qui concerne la quantité d'urée marquée ingérée, l'ingestion concomitante d'un repas ou non, le rinçage au préalable de la bouche ou non, etc. ainsi que dans le seuil de positivité (*cut-off*). Cela peut contribuer, tout comme d'autres facteurs (le nombre et l'âge des populations, le comparateur, etc.), à la variabilité interétudes que l'on observe dans les résultats.

5.3 Validité analytique (ou technique)

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

Pour chacun des paramètres suivants, seulement une étude est disponible. Ainsi, la **répétabilité** (exprimée en coefficient de variation) varie entre 0,30 % et 2,89 % et la **reproductibilité** (exprimée en coefficient de variation) est de 21,6 % (tableau 2 en annexe). La concordance avec l'examen histologique est de 83 %.

Encore une fois, les études retenues comme source de données probantes étaient hétérogènes, ce qui peut expliquer la variabilité interétudes observable dans les résultats.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Il s'agit de conclusions ou de recommandations qui portent sur le TRU^{13}C, et ce, sans mention de la technique utilisée pour analyser les échantillons.

Des lignes directrices publiées en 2004 par le National Institute for Health and Care Excellence (NICE) et le North of England Dyspepsia Guideline Development Group, et qui concernent plus particulièrement les soins primaires dispensés aux adultes atteints de dyspepsie[29], recommandent le TRU^{13}C, la recherche d'antigènes bactériens dans les selles ou le test sérologique (lorsqu'il a été validé par le laboratoire) pour la détection initiale de *H. pylori*. Concernant l'éradication, seul le TRU^{13}C est recommandé; le guide indique que les preuves sont insuffisantes pour recommander la recherche d'antigènes dans les selles [CHSR, 2004]. Ce guide fait actuellement l'objet d'une mise à jour et sa date de publication n'est pas confirmée.

En 2005, l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS) énonçait, dans une note technique sur les possibilités d'application du TRU^{13}C pour la détection de *H. pylori* au Québec : « Il est recommandé d'offrir le test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C dans toutes les régions du Québec… » et elle recommandait du même souffle de donner suite à certaines propositions pour en assurer un usage optimal [AÉTMIS, 2005].

En 2011, l'European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) et la North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) recommandaient le TRU^{13}C comme test non invasif fiable pour déterminer si *H. pylori* a été éradiqué chez un enfant [Koletzko *et al*., 2011].

29. Dyspepsie : douleur ou inconfort chronique ou récurrent dans la partie supérieure de l'abdomen [Talley *et al*., 2005].

Plus récemment, le rapport de la quatrième conférence de consensus Maastricht/Florence[30] mentionnait que le test respiratoire à l'urée est un test non invasif acceptable pour l'infection à *H. pylori* chez de jeunes patients qui n'ont pas de symptômes alarmants[31] ou de signe associé à un risque augmenté de cancer de l'estomac. De plus, le test respiratoire à l'urée est recommandé comme test non invasif pour déterminer le succès du traitement d'éradication [Malfertheiner *et al*., 2012].

Enfin, en 2013, après avoir analysé les données probantes (relatives aux adultes atteints de dyspepsie non évaluée qui ne présentaient pas de symptômes alarmants et pour qui l'endoscopie n'était pas indiquée), l'agence gouvernementale Qualité des services de santé Ontario a notamment conclu que le TRU^{13}C est une analyse qui offre une grande sensibilité et une grande spécificité, tant pour le diagnostic que pour le suivi du traitement contre *H. pylori* [Ling, 2013].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

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

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

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

À l'échelle internationale, le TRU^{13}C est un test établi pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* et il est recommandé pour évaluer le succès du traitement visant à éradiquer cette infection. Toutefois, d'autres analyses sont disponibles et efficaces, comme la recherche d'antigènes bactériens dans les selles.

7.2 Validité clinique

En ce qui a trait plus particulièrement à l'analyse du TRU^{13}C par SMRI, la sensibilité est supérieure à 93 % et la spécificité est généralement supérieure à 85 %.

7.3 Validité analytique

L'analyse du TRU^{13}C par SMRI offre une variabilité interessais de 21,6 % et une concordance de 83 % avec l'examen histologique.

7.4 Recommandations dans d'autres autorités

Plusieurs lignes directrices sur le diagnostic et le traitement de la dyspepsie et un rapport d'évaluation recommandent le TRU^{13}C sans spécifier la méthode d'analyse.

---

30. Le consensus correspondait à l'appui de 70 % ou plus des 44 experts de 24 pays qui ont pris part activement à cette conférence [Malfertheiner *et al*., 2012].
31. Symptômes alarmants : saignement, anémie, perte de poids inexpliquée (> 10 %), vomissements persistants, antécédent familial de cancer gastro-intestinal, ulcère gastroduodénal antérieur documenté, etc.) [Talley *et al*., 2005].

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

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

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

Deux techniques d'analyse du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C ont été évaluées; elles sont équivalentes.
L'utilité ainsi que la validité clinique et technique du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C sont démontrées.
*Toutefois, la valeur pondérée doit être recalculée pour tenir compte des différentes techniques d'analyse utilisées et considérant que le code 70019 (prélèvement du test respiratoire de la détection de l'*Helicobacter pylori *à l'urée marquée au carbone 13) est déjà dans le répertoire avec une valeur pondérée de 23,0.*
Il serait utile de disposer d'un algorithme d'utilisation au Québec comprenant le test sérologique, la recherche d'antigènes bactériens dans les selles et le TRU^{14}C afin d'avoir un portrait global de l'utilisation de ces analyses dans les différentes situations cliniques, pour les adultes et les enfants.

Recommandation additionnelle

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

Note

Dans le cas éventuel d'une introduction au Répertoire, un seul code devrait être utilisé pour l'analyse du TRU^{13}C, sans égard à la technique.

RÉFÉRENCES

Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé et en services sociaux (AÉTMIS). Le test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C pour la détection de Helicobacter pylori: possibilités d'application au Québec. Note technique préparée par Lonny Erickson. Montréal, Qc : AÉTMIS; 2005.

Bilal R, Khaar B, Qureshi TZ, Mirza SA, Ahmad T, Latif Z, et al. Accuracy of non-invasive ^{13}C-Urea Breath Test compared to invasive tests for Helicobacter pylori detection. J Coll Physicians Surg Pak 2007;17(2):84-8.

Braden B, Haisch M, Duan LP, Lembcke B, Caspary WF, Hering P. Clinically feasible stable isotope technique at a reasonable price: analysis of $^{13}CO_2/^{12}CO_2$-abundance in breath samples with a new isotope selective-nondispersive infrared spectrometer. Z Gastroenterol 1994;32(12):675-8.

Brazier JL. Chapter 21. Breath test: drug metabolism studies. Dans : Browne TR, réd. Stable isotopes in pharmaceutical research. Amsterdam, Pays-Bas : Elsevier Science B.V.; 1997.

Centre for health services research (CHSR). Dyspepsia: managing dyspepsia in adults in primary care. Evidence-based clinical practice guideline, no 112. Newcastle upon Tyne, Royaume-Uni : North of England dyspepsia guideline development group; 2004.

Elbast W et Brazier JL. La spectroscopie infrarouge non dispersive, une alternative à la spectrométrie de masse isotopique, cas du test respiratoire à l'urée ^{13}C. Analusis 1999;27(3):228-31.

Gisbert JP et Pajares JM. Review article: ^{13}C-urea breath test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection - A critical review. Aliment Pharmacol Ther 2004;20(10):1001-17.

Jordaan M et Laurens JB. Diagnosis of Helicobacter pylori infection with the ^{13}C-urea breath test by means of GC-MS analysis. J Sep Sci 2008;31(2):329-35.

Kalach N, Briet F, Raymond J, Benhamou PH, Barbet P, Bergeret M, et al. The 13carbon urea breath test for the noninvasive detection of Helicobacter pylori in children: comparison with culture and determination of minimum analysis requirements. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1998;26(3):291-6.

Kato S, Ozawa K, Konno M, Tajiri H, Yoshimura N, Shimizu T, et al. Diagnostic accuracy of the ^{13}C-urea breath test for childhood Helicobacter pylori infection: a multicenter Japanese study. Am J Gastroenterol 2002;97(7):1668-73.

Koletzko S, Jones NL, Goodman KJ, Gold B, Rowland M, Cadranel S, et al. Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for Helicobacter pylori infection in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011;53(2):230-43.

Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev 2006;19(3):449-90.

Lee HS, Gwee KA, Teng LY, Kang JY, Yeoh KG, Wee A, Chua BC. Validation of [^{13}C]urea breath test for Helicobacter pylori using a simple gas chromatograph-mass selective detector. Eur J Gastroenterol Hepatol 1998;10(7):569-72.

Logan RPH, Dill S, Bauer FE, Walker MM, Hirschl AM, Gummet P. The European ^{13}C-urea breath test for the detection of Helicobacter pylori. Eur J Gastroen Hepat 1991;3:915-21.

Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut 2012;61(5):646-64.

Mion F. Digestive functional investigation: Interest of $^{13}CO_2$ breath tests. Acta Endoscopica 2000;30 (3):237-42.

Mion F, Ecochard R, Guitton J, Ponchon T. $^{13}CO_2$ breath tests: comparison of isotope ratio mass spectrometry and non-dispersive infrared spectrometry results. Gastroenterol Clin Biol 2001;25(4):375-9.

Muccio Z et Jackson GP. Isotope Ratio Mass Spectrometry. Analyst 2009;134(2):213-22.

Naja F, Kreiger N, Sullivan T. Helicobacter pylori infection in Ontario: prevalence and risk factors. Can J Gastroenterol 2007;21(8):501-6.

Neale KR et Logan RP. The epidemiology and transmission of Helicobacter pylori infection in children. Aliment Pharmacol Ther 1995;9(Suppl 2):77-84.

Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med 1991;325(16):1132-6.

Ogata SK, Kawakami E, Patricio FR, Pedroso MZ, Santos AM. Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in symptomatic children and adolescents. Sao Paulo Med J 2001;119(2):67-71

Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1991;325(16):1127-31.

Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, et al. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. N Engl J Med 1994;330(18):1267-71.

Peng NJ, Lo CC, Lai KH, Liu RS, Lee SC, Tsay DG, et al. Comparison of infrared spectrometer and mass spectrometry for ^{13}C-urea breath test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Ann Nucl Med Sci 2004;17(2):69-75.

Savarino V, Landi F, Dulbecco P, Ricci C, Tessieri L, Biagini R, et al. Isotope ratio mass spectrometry (IRMS) versus laser-assisted ratio analyzer (LARA): A comparative study using two doses of [^{13}C]urea and two test meals for pre- and posttreatment diagnosis of Helicobacter pylori infection. Digestive Diseases and Sciences 2000;45 (11):2168-74.

Sheu BS, Lee SC, Yang HB, Wu HW, Wu CS, Lin XZ, Wu JJ. Lower-dose ^{13}C-urea breath test to detect Helicobacter pylori infection-comparison between infrared spectrometer and mass spectrometry analysis. Aliment Pharmacol Ther 2000;14(10):1359-63.

Talley NJ et Vakil N. Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol 2005;100(10):2324-37.

Vandenplas Y, Blecker U, Devreker T, Keppens E, Nijs J, Cadranel S, et al. Contribution of the ^{13}C-urea breath test to the detection of Helicobacter pylori gastritis in children. Pediatrics 1992;90(4):608-11.

Veldhuyzen van Zanten SJ, Pollak PT, Best LM, Bezanson GS, Marrie T. Increasing prevalence of Helicobacter pylori infection with age: continuous risk of infection in adults rather than cohort effect. J Infect Dis 1994;169(2):434-7.

Verkouteren RM, Klouda G, Currie L. Reference and intercomparison materials for stable isotopes of light elements. Dans : International Atomic Energy Agency. Vienne, Autriche : 1995.

Wang S, Zhang WM, Reineks E. Chapitre 2. Breath tests for detection of Helicobacter pylori and Aspergillus fumigatus. Dans : Tang YM et Stratton CW, réd. Advanced techniques in diagnostic microbiology. New York, NY : Springer Science; 2013.

Tableau 1 Validité clinique

ÉTUDE	NOMBRE ET ÂGE DES PATIENTS	COMPARATEUR	PARAMÈTRE				
			SENSIBILITÉ % (IC À 95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC À 95 %)	VPP %	VPN %	EXACTITUDE %
Bilal *et al*., 2007	n = 90 17-70 ans	Examen histologique	95,0	96,0	98,0		95,6
		Test rapide à l'uréase	100	82,0	90,0		93,3
		Culture bactérienne	100	55,0	63,0		74,4
Ogata *et al*., 2001	n = 47 4-19 ans	*	93,1 (de 82,2 % à 97,5 %)	78,9 (de 65,3 % à 88,1 %)	87,8	88,2	87,5
Savarino *et al*., 2000	n = 354 moyenne : 51 ans	Test rapide à l'uréase et examen histologique	98,0	97,0	98,0	97,0	98,0
Sheu *et al*., 2000	n = 177 NP	Culture bactérienne ou examen histologique	96,4	98,9	98,7	96,8	
Vandenplas *et al*., 1992	n = 95 2-15 ans	Culture bactérienne	96,0	93,0	83,0	99,0	83,0
Logan *et al*., 1991	n = 195 14-82 ans	†	99,0	98,0			

Abréviations : IC : intervalle de confiance; N : nombre de patients dans l'étude; NP : non précisé dans l'étude; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

* Toute combinaison de 3 résultats positifs ou plus parmi les 5 méthodes diagnostiques suivantes : test rapide à l'uréase, examen histologique, culture bactérienne, test sérologique et TRU^{13}C.

† Toute combinaison de 2 résultats positifs parmi les 3 méthodes diagnostiques dépendantes d'une biopsie (test rapide à l'uréase, examen histologique, culture bactérienne).

Tableau 2 Validité analytique

ÉTUDE	NOMBRE ET ÂGE DES PATIENTS	COMPARATEUR	PARAMÈTRE		
			RÉPÉTABILITÉ CV %	REPRODUCTIBILITÉ CV %	CONCORDANCE %
Ogata *et al*., 2001	n = 47 4-19 ans	Examen histologique			83,3
		Test rapide à l'uréase			81,2
		Test sérologique			79,1
Braden *et al*., 1994	n = 63 18-62 ans	s. o.	0,30 - 2,89		
Logan *et al*., 1991	n = 195 14-82 ans	*		21,6†	

Abréviations : CV : coefficient de variation; n : nombre de patients dans l'étude; s. o. : sans objet.

* : Toute combinaison de 2 résultats positifs parmi les 3 méthodes diagnostiques dépendantes d'une biopsie (test rapide à l'uréase, examen histologique, culture bactérienne).

† : n = 11.

ANALYSE DU TEST RESPIRATOIRE À L'URÉE MARQUÉE AU CARBONE 13 PAR SPECTROSCOPIE INFRAROUGE POUR LA DÉTECTION DE *H. PYLORI* (RÉFÉRENCE – 2013.02.003.2)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal

1.2 Date de transmission de la demande au MSSS : 24 septembre 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Détection de la bactérie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) par le test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 (TRU^{13}C) analysé par spectroscopie infrarouge non dispersive (SIRND).

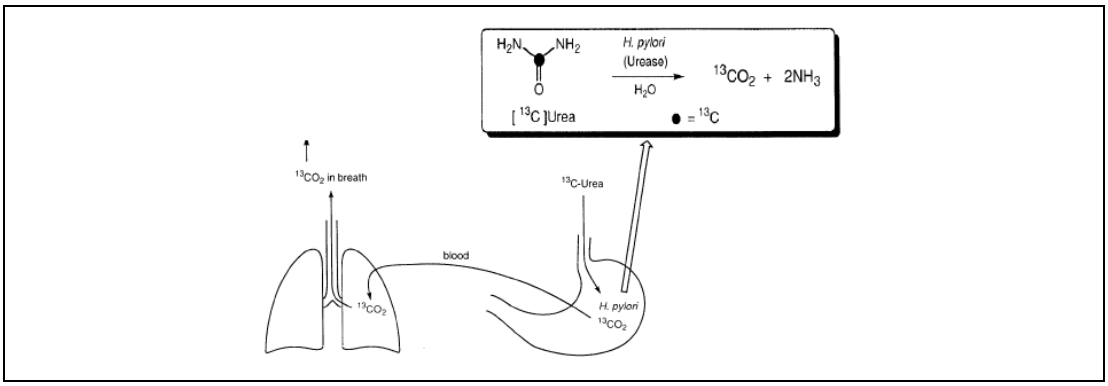
2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

Le plus répandu des tests respiratoires au carbone 13[32] est celui à l'urée marquée (TRU^{13}C) [Mion, 2000]. Le TRU^{13}C destiné à la détection de *H. pylori* est basé sur le principe que, lorsque cette bactérie est présente dans l'estomac d'un individu et que ce dernier ingère de l'urée marquée au ^{13}C, ladite bactérie transforme cette urée en $^{13}CO_2$ et ammoniaque (NH_3), et ce, grâce à l'action de son abondante uréase. La réaction enzymatique a lieu dans la couche de mucus où se trouve *H. pylori,* et le $^{13}CO_2$ produit se diffuse dans les cellules épithéliales puis dans le sang et il est est éliminé par les poumons [Wang *et al*., 2013] (figure 1). Un premier échantillon d'air exhalé par le patient est prélevé au temps 0 (T = 0) et un deuxième est prélevé une demi-heure après (T = 30). Les échantillons sont ensuite analysés par spectrométrie de masse à ratios isotopiques (SMRI) ou à l'aide d'autres technologies comme la spectroscopie infrarouge non dispersive (SIRND) ou l'analyse assistée par laser (LARA) [Gisbert et Pajares, 2004].

32. Un élément du tableau périodique peut présenter des atomes de masses différentes, appelés isotopes. Par exemple, la majorité du carbone dans la nature possède une masse atomique de 12, mais il existe du carbone de masse 13 (carbone 13) et du carbone de masse 14 (carbone 14) [Site Web d'Eastmain1. Disponible à : http://www.eastmain1.org/files/pdf/fichespedagogiques/FR/HQ_04_fr_GES_Isotopes_080926_1_FM.pdf].

Le résultat de l'analyse d'un échantillon est le delta (δ), exprimé en parties par millier (‰), qui représente la différence relative entre le ratio isotopique de l'échantillon et celui d'une substance de référence[33]. La différence entre les δ des échantillons (T = 30 et T = 0) d'un même patient représente le *delta over baseline* (DOB). Le résultat final du test est généralement considéré comme positif lorsque le DOB est supérieur à 5 ‰ [Gisbert et Pajares, 2004].

Figure 1 Principe du TRU^{13}C pour la détection de *H. pylori*



Source : Kajiwara *et al*., 1997.

Un appareil de SIRND est constitué, notamment, d'une source de rayonnement infrarouge et d'un détecteur optico-acoustique. Le rayonnement infrarouge traverse une cellule où se trouve l'échantillon gazeux et il est partiellement absorbé, ce qui cause une augmentation de la température suivie d'une augmentation de la pression, qui est elle-même détectée par le microphone condensateur dudit détecteur [Haisch *et al*., 1994]. Le principe de base de cette analyse est que les gaz $^{13}CO_2$ et $^{12}CO_2$ absorbent le rayonnement infrarouge différemment [Mion *et al*., 2001]. À l'aide d'un logiciel, l'absorption de l'échantillon est donc comparée à l'absorption spécifique de chacun de ces deux gaz (présents dans deux autres cellules de l'appareil) [Coelho *et al*., 1999].

Il est mentionné dans la demande que l'analyse soit quantitative. Selon l'information fournie dans le calcul de la valeur pondérée, la demande porte sur les appareils HeliFAN*plus* et FAN*as* de FAN.

2.3 Société ou développeur : FAN (Fischer ANalysen Instrumente) GmbH, Leipzig (Allemagne).

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse Helikit^{MC} du fabricant Isodiagnostika, qui sert à pratiquer le TRU^{13}C, porte le numéro d'homologation de Santé Canada 805[34]. Par contre, les appareils HeliFAN*plus* et

33. $\delta = 1000\ (R_{éch} - R_{réf})/R_{réf}$
$R_{éch}$ est le ratio $^{13}C:^{12}C$ dans l'échantillon et $R_{réf}$ est le ratio $^{13}C:^{12}C$ dans une substance de référence [Wang *et al*., 2013; Verkouteren *et al*., 1995].
34. Site Web de Santé Canada. Disponible à : http://webprod5.hc-sc.gc.ca/mdll-limh/dispatch-repartition.do?type=active&lang=fra.

FAN*as* ne sont pas homologués par Santé Canada[35].

2.7 Valeur pondérée : 6,42.

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

3.1 Patients ciblés

Les indications cliniques de l'analyse sont la détection initiale et la confirmation de l'éradication de l'infection à *H. pylori* chez des adultes qui souffrent de dyspepsie[36] sans symptômes alarmants[37].

3.2 Description de la maladie visée

L'infection à *H. pylori*, une bactérie qui n'infecte que l'humain, est la plupart du temps acquise pendant l'enfance et elle est habituellement asymptomatique [Neale et Logan, 1995]. Cette infection peut mener à divers désordres comme l'inflammation de l'estomac (gastrite), l'ulcère gastroduodénal (10 % - 20 %), l'adénocarcinome de l'estomac distal (1 % - 2 %) et le lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses de l'estomac [Kusters *et al*., 2006; Parsonnet *et al*., 1994; Nomura *et al*., 1991; Parsonnet *et al*., 1991].

La prévalence de l'infection à *H. pylori* au Canada variait entre 21 % et 41 % dans un échantillon de la population de la Nouvelle-Écosse constitué d'adultes âgés de 20 à 59 ans [Veldhuyzen van Zanten *et al*., 1994]. En Ontario, la prévalence globale chez les adultes âgés de 50 à 80 ans était de 23 % (29,4 % chez les hommes et 14,9 % chez les femmes [Naja *et al.*, 2007]. Le demandeur indique que la prévalence de l'infection à *H. pylori* chez les patients adultes dyspepsiques sans symptômes alarmants est de 30 %, soit environ 55 570 patients pour une incidence de 1,4 % dans la population québécoise âgée de 25 à 50 ans inclusivement.

3.3 Nombre de patients visés

Le demandeur estime le nombre de tests initiaux et de confirmation d'éradication à 12 265, 24 536 et 36 814 pour la 1re, 2e et 3e année, respectivement.

3.4 Spécialités médicales concernées

Il s'agit de la gastroentérologie et de la médecine familiale.

3.5 Modalités d'administration du test

Le demandeur envisage d'utiliser la trousse HelikitMC d'Isodiagnostika pour le TRU13C. Les instructions du fabricant[38] sont les suivantes : tout d'abord, le patient à jeun (depuis au moins 4 heures) doit expirer pleinement pendant 4 à 8 secondes, à l'aide d'une paille, dans le fond de l'éprouvette de référence qui doit être bien scellée par la suite (T = 0). Ensuite, il doit boire une solution fraîchement préparée (en faisant dissoudre la poudre d'urée marquée au ^{13}C dans de l'eau du robinet) et attendre 30 minutes. Après ce laps de temps,

35. Communication électronique personnelle avec Mme Christine Tabib de Santé Canada (12 juillet 2013).
36. Dyspepsie : douleur ou inconfort chronique ou récurrent dans la partie supérieure de l'abdomen [Talley *et al*., 2005].
37. Symptômes alarmants : saignement, anémie, perte de poids inexpliquée (> 10 %), vomissements persistants, antécédent familial de cancer gastro-intestinal, ulcère gastroduodénal antérieur documenté, etc.) [Talley *et al*., 2005].
38. Site Web d'HelikitMC. Disponible à : http://www.helikit.com/fr/information-pour-medecins/.

il doit expirer pleinement pendant 4 à 8 secondes, à l'aide d'une paille, dans le fond de la deuxième éprouvette qui doit être bien scellée après coup (T = 30). L'ingestion de la boisson permet notamment de retarder la vidange de l'estomac et de maximiser la distribution de l'urée marquée dans l'estomac [Wang *et al*., 2013]. En plus d'être à jeun, le patient doit se préparer en suivant des directives relatives à la consommation de certains médicaments[39]. Selon le fabricant, les échantillons prélevés dans les éprouvettes de la trousse sont stables pour une durée allant jusqu'à 6 mois s'ils sont conservés à la température ambiante[40].

Le demandeur prévoit utiliser l'analyseur HeliFAN*plus*. Ce dernier, si utilisé seul, ne traite que quelques échantillons à la fois[41], prélevés dans des sacs en aluminium prévus à cet effet. Les échantillons conservés à la température ambiante dans de tels sacs peuvent demeurer stables pour une durée maximale de 7 à 10 jours[42]. Bien que l'absence de radioactivité du TRU^{13}C permette de tester les femmes enceintes [Lee *et al*., 1998], l'échantillon nécessaire est volumineux (entre 500 et 1500 ml) et le prélèvement peut poser problème pour les femmes enceintes et les personnes âgées [Elbast et Brazier, 1999]. Des masques et des adaptateurs sont donc disponibles pour faciliter le prélèvement[43]. Le transport et l'entreposage des échantillons sont également problématiques en raison du volume. Enfin, après l'analyse d'un échantillon, il n'en reste généralement pas suffisamment pour le réanalyser si le besoin s'en fait sentir [Elbast et Brazier, 1999].

Utiliser l'HeliFAN*plus* en combinaison avec l'échantillonneur FAN*as* permet néanmoins d'analyser des échantillons dans des éprouvettes de 10 ml (comme celles de la trousse Helikit^{MC}), avec un maximum de 89 éprouvettes à la fois[44]. Aucune information n'est toutefois disponible sur le volume minimal requis pour qu'un échantillon puisse être analysé ainsi.

Selon l'information fournie dans la demande, l'analyse sera pratiquée quotidiennement et le temps de réponse sera d'environ 48 heures.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

L'analyse serait complémentaire à celle intitulée « Prélèvement du test respiratoire de la détection de l'*Helicobacter pylori* à l'urée marquée au carbone 13 (code 70019) ». De plus, selon le demandeur, le TRU^{13}C pourrait être substitutif à l'analyse sérologique nommée *Helicobacter pylori* IgG ou Ac totaux (ELISA) (code 40690).

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

En plus des tests respiratoires et sérologiques, l'infection à *H. pylori* peut être détectée par la recherche d'un antigène bactérien dans les selles. En ce qui concerne l'analyse d'échantillons obtenus avec le TRU^{13}C, la SMRI est l'étalon or à l'échelle internationale [Jordaan et Laurens, 2008].

---

39. Le patient ne doit avoir consommé ni antibiotiques dans les 4 semaines précédant le test, ni produits contenant du bismuth dans les 2 semaines précédant le test, ni inhibiteurs de pompe à protons dans les 3 jours précédant le test, ni antihistaminiques H2 dans les 24 h précédant le test [Site Web d'Helikit^{MC}. Disponible à : http://www.helikit.com/fr/information-pour-medecins/].
40. Site Web d'Helikit^{MC}. Disponible à : http://www.helikit.com/fr/information-pour-medecins/.
41. Des échantillons d'environ 100 millilitres (ml) [Mion, 2000] [Mion *et al*., 2001], voire jusqu'à 1 500 ml [Elbast et Brazier, 1999].
42. Site Web de CDL Laboratoires. Disponible à : http://www.cdllaboratories.com/download/fr/procedures/Helicobacter%20Pylori.pdf.
43. Site Web de FAN®. Disponible à : http://www.fan-gmbh.de/c13_en.htm.
44. Site Web de FAN®. Disponible à : http://www.fan-gmbh.de/docs/fanas_fr.pdf.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Selon l'information fournie dans la demande, l'analyse offre une sensibilité et une spécificité plus grandes que la sérologie (code 40690), et l'avantage est plus marqué pour la spécificité (moins de faux positifs) que pour la sensibilité. De plus, la sérologie est une analyse indirecte et elle ne permet pas de discriminer entre une infection passée et une infection active [Kalach *et al*., 1998], alors que le TRU^{13}C analysé par SIRND est non invasif et direct car il ne détecte que l'uréase active de *H. pylori*.

Contrairement au TRU^{13}C, le test respiratoire au carbone 14 (TRU^{14}C) est radioactif et il doit être analysé dans un service de médecine nucléaire (qui est moins accessible). De plus, il ne convient ni aux femmes enceintes ni aux enfants et impose des restrictions quant à la fréquence et au transport des échantillons [Lee *et al*., 1998]. Le TRU^{13}C présente également l'avantage d'explorer la totalité de l'estomac, de sorte que le problème de détection associé à la biopsie (en raison de la colonisation inégale de *H. pylori* dans l'estomac) ne se pose pas [Kato *et al*., 2002].

Comparativement à un appareil de SMRI, l'HeliFAN*plus* (même lorsque combiné au FAN*as*) est plus petit et fonctionne sans gaz porteur (l'hélium, par exemple[45]).

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

La pertinence clinique du TRU^{13}C est énoncée dans les sections suivantes, indépendamment de l'appareil utilisé pour l'analyse des échantillons.

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Le TRU^{13}C remplacerait le TRU^{14}C car, contrairement à ce dernier, il n'est pas radioactif (voir la section 4.3). Ce test n'est pas dans le Répertoire.

Valeur diagnostique ou pronostique

Le TRU^{13}C est une analyse établie pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* [AÉTMIS, 2005; Braden *et al*., 1994].

5.1.2 Valeur thérapeutique

Le TRU^{13}C est un bon test pour évaluer le succès du traitement contre *H. pylori* puisqu'il évite les faux négatifs associés aux tests basés sur la biopsie (en raison de la colonisation inégale de *H. pylori* dans l'estomac) et les faux positifs associés à la sérologie (en raison de la présence d'anticorps anti-*H. pylori*) [Peng *et al*., 2004].

45. Site Web de FAN®. Disponible à : http://www.fan-gmbh.de/docs/fanas_fr.pdf.

5.2 Validité clinique

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

Comme le montre le tableau 1 en annexe, 16 études ont évalué la **sensibilité** et la **spécificité** qui varient respectivement entre 90,3 % et 100 % et entre 73,3 % et 100 %. Par ailleurs, 8 études ont rapporté les **valeurs prédictives positive** et **négative,** et les résultats varient respectivement entre 81,0 % et 98,8 % et entre 87,5 % et 100 %. Seulement deux études ont fait état du **rapport de vraisemblance (RV)** : le RV positif varie entre 8,6 et 24,7 (résultat positif contribue au diagnostic) et le RV négatif varie entre 0,07 et 0,108 (permet d'exclure le diagnostic). Enfin, 6 études ont montré que l'**exactitude** varie entre 87,30 % et 98,65 %.

Les études retenues comme source de données probantes montrent des différences dans le prélèvement de l'échantillon pour le TRU^{13}C, notamment en ce qui concerne la quantité d'urée marquée ingérée, l'ingestion concomitante d'un repas ou non, le rinçage au préalable de la bouche ou non, etc. ainsi que dans le seuil de positivité (*cut-off*). Cela peut contribuer, tout comme d'autres facteurs (le nombre et l'âge des populations, le comparateur, etc.), à la variabilité interétudes que l'on observe dans les résultats.

5.3 Validité analytique (ou technique)

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

La **répétabilité** a été évaluée dans 4 études qui montrent des coefficients de variation allant de - 2,88 % à 4,67 % et de 1,60 % à 5,28 % et des coefficients de répétabilité allant de 1,64 % à 1,80 % (tableau 2 en annexe).

Quant à l'évaluation de la **concordance,** les différences moyennes de delta varient entre - 0,55 δ ‰ et 0,42 δ ‰ (2 études) et pour le *delta over baseline,* les différences moyennes varient entre - 1,9 DOB ‰ et 0,977 DOB ‰ (4 études).

Enfin, la **corrélation** est forte entre l'analyse faite par SIRND et l'analyse réalisée à l'aide d'autres instruments avec des coefficients de corrélation de delta qui varient entre 0,945 et 0,996 (5 études) et de *delta over baseline* qui varient entre 0,814 et 0,998 (9 études). De plus, deux études montrent une forte corrélation exprimée en coefficient de détermination (R^2 = 0,992).

Encore une fois, les études retenues comme source de données probantes étaient hétérogènes, ce qui peut expliquer la variabilité interétudes observable dans les résultats.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Il s'agit de conclusions ou de recommandations qui portent sur le TRU^{13}C, et ce, sans mention de la technique utilisée pour analyser les échantillons.

Des lignes directrices publiées en 2004 par le National Institute for Health and Care Excellence (NICE) et le North of England Dyspepsia Guideline Development Group, et qui concernent plus particulièrement les soins primaires dispensés aux adultes atteints de dyspepsie, recommandent le TRU^{13}C, la recherche d'antigènes bactériens dans les selles ou le test sérologique (lorsqu'il a été validé par le laboratoire) pour la détection initiale de *H. pylori*. Concernant l'éradication, seul le TRU^{13}C est recommandé; les lignes directrices indiquent que les preuves sont insuffisantes pour recommander la recherche d'antigènes dans les selles [CHSR, 2004]. Ces lignes directrices font actuellement l'objet d'une mise à jour et la date de publication n'est pas confirmée.

En 2005, l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AÉTMIS) énonçait, dans une note technique sur les possibilités d'application du TRU^{13}C pour la détection de *H. pylori* au Québec : « Il est recommandé d'offrir le test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C dans toutes les régions du Québec… » et elle recommandait du même souffle de donner suite à certaines propositions pour en assurer un usage optimal [AÉTMIS, 2005].

En 2011, l'European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) et la North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) recommandaient le TRU^{13}C comme test non invasif fiable pour déterminer si *H. pylori* a été éradiqué chez un enfant [Koletzko *et al*., 2011].

Plus récemment, le rapport de la quatrième conférence de consensus Maastricht/Florence[46] mentionnait que le test respiratoire à l'urée est un test non invasif acceptable pour déceler l'infection à *H. pylori* chez de jeunes patients qui n'ont pas de symptômes alarmants ou de signes associés à un risque augmenté de cancer de l'estomac. De plus, le test respiratoire à l'urée est recommandé comme test non invasif pour déterminer le succès du traitement d'éradication [Malfertheiner *et al*., 2012].

Enfin, en 2013, après avoir analysé les données probantes (relatives aux adultes atteints de dyspepsie non évaluée qui ne présentaient pas de symptômes alarmants et pour qui l'endoscopie n'était pas indiquée), l'agence gouvernementale Qualité des services de santé Ontario a notamment conclu que le TRU^{13}C est une analyse qui offre une grande sensibilité et une grande spécificité, tant pour le diagnostic que pour le suivi du traitement contre *H. pylori* [Ling, 2013].

46. Le consensus correspondait à l'appui de 70 % ou plus des 44 experts de 24 pays qui ont pris part activement à cette conférence [Malfertheiner *et al*., 2012].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

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

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

7 EN BREF

Comparativement à un appareil de SMRI (étalon or), l'appareil HeliFAN*plus* (même lorsque combiné à l'échantillonneur FAN*as*) est plus petit et fonctionne sans gaz porteur. Aucune information n'est toutefois disponible sur le volume minimal requis pour qu'un échantillon puisse être analysé par cette combinaison d'appareils de SIRND. Ces appareils ont une capacité d'échantillons (maximum 89) moindre qu'un appareil de SMRI (plus de 200).

7.1 Pertinence clinique

À l'échelle internationale, le TRU^{13}C est un test établi pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* et il est recommandé pour évaluer le succès du traitement visant à éradiquer cette infection. Toutefois, d'autres analyses sont disponibles et efficaces, comme la recherche d'antigènes bactériens dans les selles.

7.2 Validité clinique

En ce qui a trait plus particulièrement à l'analyse du TRU^{13}C par SIRND, la sensibilité est supérieure à 90 % et la spécificité est généralement supérieure à 80 %.

7.3 Validité analytique

L'analyse du TRU^{13}C par SIRND démontre une corrélation élevée avec la SMRI, un CV interessais égal ou inférieur à 5 % et une concordance très variable avec la SMRI.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Plusieurs lignes directrices sur le diagnostic et le traitement de la dyspepsie et un rapport d'évaluation recommandent le TRU^{13}C, sans spécifier la méthode d'analyse.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Analyse du test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 par spectroscopie infrarouge pour la détection d'*H. pylori*

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

Deux techniques d'analyse du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C ont été évaluées, et elles sont équivalentes.
L'utilité ainsi que la validité clinique et technique du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C sont démontrées.
*Toutefois, la valeur pondérée doit être recalculée pour tenir compte des différentes techniques d'analyse utilisées et considérant que le code 70019 (prélèvement du test respiratoire pour la détection de l'*Helicobacter pylori *à l'urée marquée au carbone 13) est déjà dans le Répertoire avec une valeur pondérée de 23,0.*
Il serait utile de disposer d'un algorithme d'utilisation au Québec, qui comprendrait le test sérologique, la recherche d'antigènes bactériens dans les selles et le TRU^{14}C, afin d'avoir un portrait global de l'utilisation de ces analyses dans les différents situations cliniques, pour les adultes et les enfants.

Recommandation additionnelle

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

Note

Dans le cas éventuel d'une introduction au Répertoire, un seul code devrait être utilisé pour l'analyse du TRU^{13}C, sans égard à la technique.

RÉFÉRENCES

Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé et en services sociaux (AÉTMIS). Le test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C pour la détection de Helicobacter pylori: possibilités d'application au Québec. Note technique préparée par Lonny Erickson. Montréal, Qc : AÉTMIS; 2005.

Beiki D, Khalaj A, Dowlatabadi R, Eftekhari M, Hossein MHAS, Fard A, et al. Validation of ^{13}C-urea breath test with non dispersive isotope selective infrared spectroscopy for the diagnosis of Helicobacter pylori infection: A survey in Iranian population. Daru 2005;13(2):52-5.

Braden B, Caspary WF, Lembcke B. Nondispersive infrared spectrometry for $^{13}CO_2/^{12}CO_2$-measurements: a clinically feasible analyzer for stable isotope breath tests in gastroenterology. Z Gastroenterol 1999;37(6):477-81.

Braden B, Haisch M, Duan LP, Lembcke B, Caspary WF, Hering P. Clinically feasible stable isotope technique at a reasonable price: analysis of $^{13}CO_2/^{12}CO_2$-abundance in breath samples with a new isotope selective-nondispersive infrared spectrometer. Z Gastroenterol 1994;32(12):675-8.

Braden B, Schafer F, Caspary WF, Lembcke B. Nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy: a new analytical method for ^{13}C-urea breath tests. Scand J Gastroenterol 1996;31(5):442-5.

Calvet X, Sanchez-Delgado J, Montserrat A, Lario S, Ramirez-Lazaro MJ, Quesada M, et al. Accuracy of diagnostic tests for Helicobacter pylori: a reappraisal. Clin Infect Dis 2009;48(10):1385-91.

Centre for health services research (CHSR). Dyspepsia: managing dyspepsia in adults in primary care. Evidence-based clinical practice guideline, no 112. Newcastle upon Tyne, Royaume-Uni : North of England dyspepsia guideline development group; 2004.

Chen TS, Chang FY, Chen PC, Huang TW, Ou JT, Tsai MH, et al. Simplified ^{13}C-urea breath test with a new infrared spectrometer for diagnosis of Helicobacter pylori infection. J Gastroenterol Hepatol 2003;18(11):1237-43.

Coelho LG, Reber M, Passos MC, Aguiar RO, Casaes PE, Bueno ML, et al. Application of isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for the evaluation of the ^{13}C-urea breath test: comparison with three concordant methods. Braz J Med Biol Res 1999;32(12):1493-7.

Elbast W et Brazier JL. La spectroscopie infrarouge non dispersive, une alternative à la spectrométrie de masse isotopique, cas du test respiratoire à l'urée ^{13}C. Analusis 1999;27(3):228-31.

Gisbert JP et Pajares JM. Review article: ^{13}C-urea breath test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection - A critical review. Aliment Pharmacol Ther 2004;20(10):1001-17.

Haisch M, Hering P, Fuss W, Fabinski W. A sensitive isotope selective nondispersive infrared spectrometer for $^{13}CO_2$ and $^{12}CO_2$concentration measurements in breath samples. Isotopenpraxis Environ Health Stud 1994;30(2-3):247-51

Hildebrand P et Beglinger C. Nondispersive infrared spectrometry: a new method for the detection of Helicobacter pylori infection with the ^{13}C-urea breath test. Clin Infect Dis 1997;25(5):1003-5.

Jordaan M et Laurens JB. Diagnosis of Helicobacter pylori infection with the (^{13})C-urea breath test by means of GC-MS analysis. J Sep Sci 2008;31(2):329-35.

Kajiwara M, Iida K, Takatori K, Taniguchi Y, Kimura K. Validity of the ^{13}C-urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1997;45(4):741-3.

Kalach N, Briet F, Raymond J, Benhamou PH, Barbet P, Bergeret M, et al. The ^{13}carbon urea breath test for the noninvasive detection of Helicobacter pylori in children: comparison with culture and determination of minimum analysis requirements. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1998;26(3):291-6.

Kato S, Ozawa K, Konno M, Tajiri H, Yoshimura N, Shimizu T, et al. Diagnostic accuracy of the ^{13}C-urea breath test for childhood Helicobacter pylori infection: a multicenter Japanese study. Am J Gastroenterol 2002;97(7):1668-73.

Kawakami E, Machado RS, Reber M, Patricio FR. ^{13}C-urea breath test with infrared spectroscopy for diagnosing helicobacter pylori infection in children and adolescents. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002;35(1):39-43.

Koletzko S, Haisch M, Seeboth I, Braden B, Hengels K, Koletzko B, Hering P. Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of Helicobacter pylori infection with ^{13}C-urea breath test. Lancet 1995;345(8955):961-2.

Koletzko S, Jones NL, Goodman KJ, Gold B, Rowland M, Cadranel S, et al. Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for Helicobacter pylori infection in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011;53(2):230-43.

Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev 2006;19(3):449-90.

Lee HS, Gwee KA, Teng LY, Kang JY, Yeoh KG, Wee A, Chua BC. Validation of [^{13}C]urea breath test for Helicobacter pylori using a simple gas chromatograph-mass selective detector. Eur J Gastroenterol Hepatol 1998;10(7):569-72.

Ling D. Carbon-13 urea breath test for Helicobacter pylori infection in patients with uninvestigated ulcer-like dyspepsia: An evidence-based analysis. Ont Health Technol Assess Ser 2013;13(19):1-30.

Machado RS, Patricio FR, Kawakami E. 13C-urea breath test to diagnose Helicobacter pylori infection in children aged up to 6 years. Helicobacter 2004;9(1):39-45.

Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut 2012;61(5):646-64.

Mana F, Franken PR, Ham HR, Reynaert H, Urbain D. ^{13}C urea breath test with nondispersive isotope-selective infrared spectrometry: reproducibility and importance of the fasting status. Helicobacter 2000;5(2):104-8.

Mana F, Franken PR, Ham HR, Urbain D. Cut-off point, timing and pitfalls of the ^{13}C-urea breath test as measured by infrared spectrometry. Dig Liver Dis 2001;33(1):30-5.

Mion F. Digestive functional investigation: Interest of 13CO2 breath tests. Acta Endoscopica 2000;30 (3):237-42.

Mion F, Ecochard R, Guitton J, Ponchon T. (^{13})CO($_2$) breath tests: comparison of isotope ratio mass spectrometry and non-dispersive infrared spectrometry results. Gastroenterol Clin Biol 2001;25(4):375-9.

Naja F, Kreiger N, Sullivan T. Helicobacter pylori infection in Ontario: prevalence and risk factors. Can J Gastroenterol 2007;21(8):501-6.

Neale KR et Logan RP. The epidemiology and transmission of Helicobacter pylori infection in children. Aliment Pharmacol Ther 1995;9(Suppl 2):77-84.

Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med 1991;325(16):1132-6.

Ohara S, Kato M, Asaka M, Toyota T. The UBiT-100 $^{13}CO_2$ infrared analyzer: comparison between infrared spectrometric analysis and mass spectrometric analysis. Helicobacter 1998;3(1):49-53.

Opekun AR, Abdalla N, Sutton FM, Hammoud F, Kuo GM, Torres E, et al. Urea breath testing and analysis in the primary care office. J Fam Pract 2002;51(12):1030-2.

Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1991;325(16):1127-31.

Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, et al. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. N Engl J Med 1994;330(18):1267-71.

Peng NJ, Lo CC, Lai KH, Liu RS, Lee SC, Tsay DG, et al. Comparison of infrared spectrometer and mass spectrometry for ^{13}C-urea breath test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Ann Nucl Med Sci 2004;17(2):69-75.

Riepl RL, Folwaczny C, Otto B, Klauser A, Blendinger C, Wiebecke B, et al. Accuracy of ^{13}C-urea breath test in clinical use for diagnosis of Helicobacter pylori infection. Z Gastroenterol 2000;38(1):13-9.

Savarino V, Mela GS, Zentilin P, Bisso G, Pivari M, Mansi C, et al. Comparison of isotope ratio mass spectrometry and nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy for ^{13}C-urea breath test. Am J Gastroenterol 1999;94(5):1203-8.

Sheu BS, Lee SC, Yang HB, Wu HW, Wu CS, Lin XZ, Wu JJ. Lower-dose (^{13})C-urea breath test to detect Helicobacter pylori infection-comparison between infrared spectrometer and mass spectrometry analysis. Aliment Pharmacol Ther 2000;14(10):1359-63.

Talley NJ et Vakil N. Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol 2005;100(10):2324-37.

Taniguchi Y, Kimura K, Sohara H, Shirasaki A, Kawada H, Satoh K, et al. Simple ^{13}C-urea breath test with infra-red spectrophotometer. J Gastroenterol 1996;31(Suppl 9):37-40.

Veldhuyzen van Zanten SJ, Pollak PT, Best LM, Bezanson GS, Marrie T. Increasing prevalence of Helicobacter pylori infection with age: continuous risk of infection in adults rather than cohort effect. J Infect Dis 1994;169(2):434-7.

Verkouteren RM, Klouda G, Currie L. Reference and intercomparison materials for stable isotopes of light elements. Dans : International Atomic Energy Agency. Vienne, Autriche : 1995.

Wang S, Zhang WM, Reineks E. Chapitre 2. Breath tests for detection of Helicobacter pylori and Aspergillus fumigatus. Dans : Tang YM et Stratton CW, réd. Advanced techniques in diagnostic microbiology. New York, NY : Springer Science; 2013.

Tableau 1 Validité clinique

ÉTUDE	NOMBRE ET ÂGE DES PATIENTS	APPAREIL DE SIRND	COMPARA-TEUR	PARAMÈTRE					
				SENSIBILITÉ % (IC À 95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC À 95 %)	VPP %	VPN %	RV	EXACTITUDE %
Calvet *et al.*, 2009	n = 199	POCone d'Otsuka	SMRI	90,3 (de 83 à 95)	89,5 (de 81 à 95)	91,9 (de 83 à 95)	87,5 (de 78 à 93)	positif : 8,6 négatif : 0,108	
Beiki *et al.*, 2005	n = 76 18-66 ans	HeliFAN *plus* de FAN	EH, RU et TRU^{14}C	100	97,30	97,56	100		98,65
Machado *et al.*, 2004	n = 68 6 mois-5 ans	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	EH et RU ou CB seule	93,3 (de 86,8 à 99,7)	96,2 (de 93,6 à 98,8)			positif : 24,7 négatif : 0,07	
Peng *et al.*, 2004	n = 63 30-89 ans	UBiT-IR300 d'Otsuka	SMRI	97,6	90,9				95,2
Chen *et al.*, 2003	n = 586 20-70 ans	UBiT-IR200 d'Otsuka	RU	97,3	95,8				96,8
			EH	97,3	96,2				96,9
			CB	98,6	80,3				90,2
Kato *et al.*, 2002	n = 220 2-16 ans	UBIT-IR300 d'Otsuka	SMRI	94,4-98,9[‡]	92,4-99,2[‡]	89,8-98,8[‡]	96,3-99,2[‡]		95,0-98,2[‡]
Kawakami *et al.*, 2002	n = 75 6 mois-18 ans	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	EH et RU ou CB seule	96,8	93,2	90,9	97,6		94,7
Mana *et al.*, 2001	n = 223 NP	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	EH	96-100[†]	94-96[†]	93-95[†]	97-100[†]		
Riepl *et al.*, 2000	n = 100 Moyenne : 51,6 ± 1,4 ans	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	RU et EH	92	94	89,0	94,0		
			RU et CB	100	91	81,0	100		
			EH et CB	97	92	83,5	99,0		
			RU, EH et CB	100	91	81,0	100		
Sheu *et al.*, 2000	n = 177 NP	UBiT-IR200 d'Otsuka	CB ou EH	96,4	98,9	98,7	96,8		

ÉTUDE	NOMBRE ET ÂGE DES PATIENTS	APPAREIL DE SIRND	COMPARA-TEUR	PARAMÈTRE					
				SENSIBILITÉ % (IC À 95 %)	SPÉCIFICITÉ % (IC À 95 %)	VPP %	VPN %	RV	EXACTITUDE %
Braden *et al.*, 1999	n = 142 Moyenne : 40 ± 12 ans	FANci2 de FAN	SMRI	97,8	98,9				
Savarino *et al.*, 1999	n = 134 Moyenne : 54 ± 13 ans	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	SMRI	97 (de 94 à 100)	95 (de 89 à 99)				
Kajiwara *et al.*, 1997	n = 399 NP	EX130 de Jasco	Frottis, EH ou CB*	95,3	73,3				87,3
Braden *et al.*, 1996	n = 538 adultes	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	SMRI	98,3	98,6				
Taniguchi *et al.*, 1996	n = 153 17-80 ans	EX130 de Jasco	Frottis, EH ou CB*	97,8	74,4	92,5	91,4		
Braden *et al.*, 1994	n = 63 18-62 ans	Développé par Haisch *et al.*, 1994	SMRI	95,0	100				

CB : culture bactérienne de spécimen de biopsie; EH : examen histologique de spécimen de biopsie; IC : intervalle de confiance; N : nombre de patients dans l'étude ; NP : non précisé dans l'étude; RU : test rapide à l'uréase sur spécimen de biopsie; RV : rapport de vraisemblance; SIRND : spectroscopie infrarouge non dispersive; SMRI : spectrométrie de masse à ratios isotopiques; TRU^{14}C : test respiratoire à l'urée marquée au carbone 14; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

* Au moins un résultat positif parmi les trois méthodes diagnostiques suivantes qui sont pratiquées sur un spécimen de biopsie : frottis, examen histologique et culture bactérienne.

† Les résultats variaient selon le seuil de positivité qui oscillait entre un *delta* δ *over baseline* (DOB) ≤ 3,0 ‰ et un DOB ≤ 5,0 ‰.

‡ Les résultats variaient selon le seuil de positivité qui oscillait entre un DOB = 2,0 ‰ et un DOB = 5,0 ‰.

Tableau 2 Validité analytique

ÉTUDE	NOMBRE ET ÂGE DES PATIENTS	APPAREIL DE SIRND	COMPARATEUR	PARAMÈTRE				
				RÉPÉTABILITÉ %	CONCORDANCE (BLAND-ALTMAN)		CORRÉLATION	
					DM δ ‰	DM DOB ‰	δ ‰	DOB ‰
Calvet *et al.*, 2009	n = 199	POCone d'Otsuka	SMRI					r = 0,992
Peng *et al.*, 2004	n = 63 30-89 ans	UBiT-IR300 d'Otsuka	SMRI				r = 0,974	
Kato *et al.*, 2002	n = 220 2-16 ans	UBIT-IR300 d'Otsuka	SMRI					r = 0,998
Opekun *et al.*, 2002	n = 258 18-75 ans	UBiT-IR300 d'Otsuka	SMRI					r = 0,997
Mion *et al.*, 2001	n = 150 NP	FANci2 de FAN	SMRI					R^2 = 0,992
Mana *et al.*, 2000	n = 53 NP	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	SMRI	CR = 1,80				
Sheu *et al.*, 2000	n = 177 NP	UBiT-IR200 d'Otsuka	SMRI					r = 0,9918
Braden *et al.*, 1999	n = 142 Moyenne : 40 ± 12 ans	FANci2 de FAN	SMRI	CV = -2,88-4,67	- 0,55 ± 2,51	0,28 ± 1,93	r = 0,985	r = 0,995
Coelho *et al.*, 1999	n = 53 NP	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	RU, EH et TRU^{14}C†					r = 0,814
Savarino *et al.*, 1999	n = 134 Moyenne : 54 ± 13 ans	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	SMRI (appareil Breath Mat de Finnigan)			0,669 ± 3,382		r = 0,977
			SMRI (appareil ABCA d'Europa)			0,977 ± 3,078		r = 0,985
Ohara *et al.*, 1998	n = 453 20-70 ans	UBiT-100 d'Otsuka	SM		0,42 ± 2,16			

ÉTUDE	NOMBRE ET ÂGE DES PATIENTS	APPAREIL DE SIRND	COMPARATEUR	PARAMÈTRE				
				RÉPÉTABILITÉ %	CONCORDANCE (BLAND-ALTMAN)		CORRÉLATION	
					DM δ ‰	DM DOB ‰	δ ‰	DOB ‰
Hildebrand et Beglinger 1997	n = 40 NP	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	SMRI	CR = 1,64		- 0,23 ± 1,11		
Kajiwara *et al.*, 1997	n = 399 NP	EX130 de Jasco	CG-SM				R^2 =0,992	
Braden *et al.*, 1996	n = 538 Adultes	IRIS de Wagner-Analysen-Technik	SMRI			- 1,9 ± 2,7	r = 0,945	
Taniguchi *et al.*, 1996	n = 153 17-80 ans	EX130 de Jasco	SM				r = 0,996	
Koletzko *et al.*, 1995	n = 36 4-17 ans et n = 15 adultes	NP	SMRI					r = 0,985
Braden *et al.*, 1994	n = 63 18-62 ans	Développé par Haisch *et al.*, 1994	SMRI	CV = 1,60-5,28			r =0,96	r = 0,98

Abréviations : CG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse; CR : coefficient de répétabilité; CV : coefficient de variation; DM : différence moyenne; DOB : *delta* (δ) *over baseline*; EH : examen histologique de spécimen de biopsie; N : nombre de patients dans l'étude; NP : non précisé dans l'étude; r : coefficient de corrélation; R^2 : coefficient de détermination; RU : test rapide à l'uréase sur spécimen de biopsie; SIRND : spectroscopie infrarouge non dispersive; SM : spectrométrie de masse; SMRI : spectrométrie de masse à ratios isotopiques; $TRU^{14}C$: test respiratoire à l'urée marquée au carbone 14.

* Au moins un résultat positif avec l'une ou l'autre des méthodes diagnostiques suivantes qui sont pratiquées sur un spécimen de biopsie : frottis, examen histologique et culture bactérienne.

† Un résultat positif avec chacune des méthodes diagnostiques suivantes : test rapide à l'uréase, examen histologique et $TRU^{14}C$.

‡ Les résultats variaient selon le seuil de positivité qui oscillait entre un *delta* δ *over baseline* (DOB) ≤ 3,0 ‰ et un DOB ≤ 5,0 ‰.

DOSAGE DU LÉVÉTIRACÉTAM SÉRIQUE PAR LC-MS/MS (RÉFÉRENCE – 2013.02.004)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 28 août 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

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

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

La technique comporte trois étapes : 1) la préparation de l'échantillon, 2) la chromatographie en phase liquide (LC), et 3) l'analyse par spectrométrie de masse (MS).

La préparation de l'échantillon permet d'enlever les protéines et d'autres substances avant de l'analyser, afin de réduire au minimum l'effet de matrice. Elle peut se faire selon plusieurs méthodes dont les trois les plus communes sont l'extraction solide-liquide (SPE), l'extraction liquide-liquide (LLE) et la précipitation des protéines (PP) [Adaway et Keevil, 2012]. La méthode PP est celle utilisée par le demandeur. C'est la méthode la plus simple et elle peut être automatisée. Elle pourrait cependant être moins sensible que les deux autres, surtout parce que l'échantillon qui en résulte est moins propre et qu'il peut être dilué par les solvants utilisés pour la précipitation [Adaway et Keevil, 2012].

La LC est une méthode qui permet de séparer les molécules d'un mélange complexe (ici le sérum) selon leurs propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, hydrophobicité, etc.). Le principe de la LC fait intervenir une phase mobile liquide et une phase solide stationnaire (sur colonne ou sur couche mince). La composition des phases liquide et solide varie en fonction du type de molécule à purifier. Dans le cas qui nous intéresse ici, la phase stationnaire est hydrophobe (hydrocarbures de chaînes variables, p. ex. C18) et la phase mobile est hydrophile (solvant polaire comme le méthanol ou l'acétonitrile mélangé ou non avec une solution tampon).

La MS vise à déterminer la masse des molécules présentes dans un échantillon donné. La mesure de la masse repose sur la déviation des molécules préalablement ionisées par un

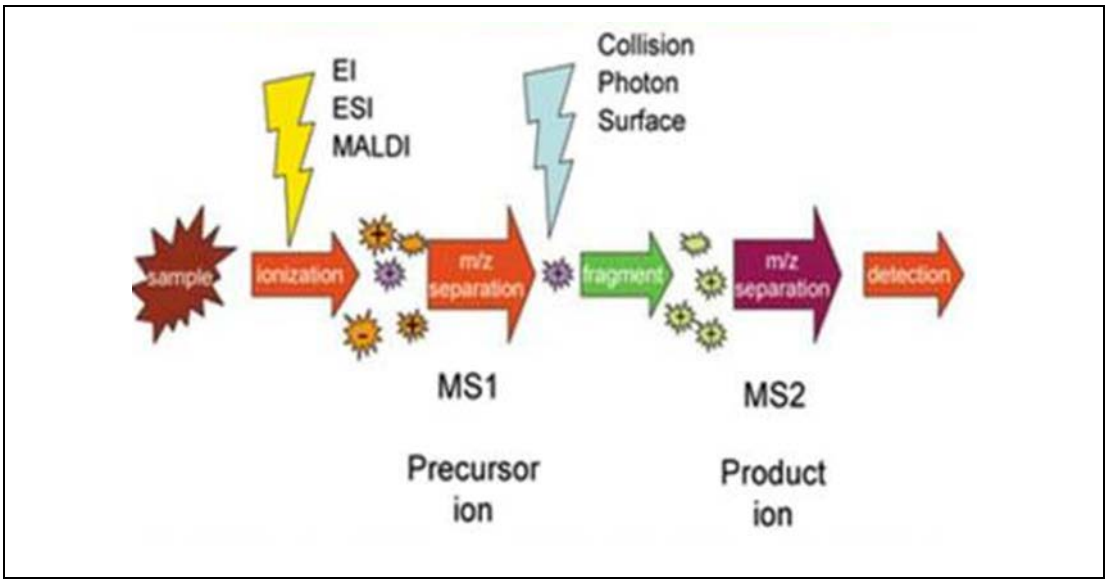
champ électrique ou magnétique, dont les trajectoires sont proportionnelles à leur masse et à leur charge.

Le spectromètre de masse est composé :

1. **D'une source d'ionisation** pour modifier la charge des molécules et les faire passer en phase gazeuse (ionisation électro spray – ESI; ionisation chimique à pression atmosphérique – APCI; ionisation laser assistée par matrice – MALDI, et autres).
2. **D'un analyseur** qui permet de séparer les ions en fonction du rapport masse sur charge (m/z). Il existe plusieurs types d'analyseurs : déflexion par champ magnétique (B), déflexion par champ quadrupolaire (Q), confinement dans une trappe à ions (IT), mesure du temps de vol (TOF), résonnance cyclotronique d'ions à transformée de Fourier (FT-ICR).

Les analyseurs peuvent être couplés de façon séquentielle. Il s'agit de la spectrométrie de masse à plusieurs dimensions (ici en tandem, donc MS/MS). Un premier analyseur sélectionne les ions selon un certain m/z (purification). L'ion purifié est ensuite fragmenté dans une chambre de collision. Un deuxième analyseur mesure le m/z des fragments [Adaway et Keevil, 2012; Grebe et Singh, 2011].

Figure 1 Représentation schématique de la spectrométrie de masse en tandem



Source : http://thomastobin.com/drugsmeds/drugsmeds.htm

2.3 Société ou développeur : méthode « maison ».

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA) : méthode « maison », pas d'homologation par Santé Canada ni par la FDA.

2.7 Valeur pondérée : 44,0.

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

3.1 Patients ciblés

Patients souffrant d'épilepsie sous traitement avec lévétiracétam, dans certaines situations cliniques particulières.

3.2 Description de la maladie visée

L'épilepsie est la maladie neurologique la plus fréquente, après la migraine; la prévalence estimée varie entre 0,5 % et 1 % dans la population occidentale [Forsgren *et al.,* 2005]. Elle se caractérise par la récurrence de crises causées par une activité cérébrale excessive. Il est fréquent d'utiliser plusieurs anticonvulsivants en même temps afin de bien contrôler la survenue des crises. Dans ces conditions, le suivi thérapeutique des médicaments est d'autant plus important. En raison de la variation interindividu dans la manifestation clinique des crises d'épilepsie, le monitorage sérique des médicaments est essentiel afin de déterminer les doses thérapeutiques tout en réduisant les effets secondaires. L'optimisation de la dose demande donc un monitorage sérique fréquent [Collins et Janis, 2012].

Le lévétiracétam (Keppra) est un antiépileptique dit « de nouvelle génération[47] » dont la commercialisation a été autorisée par Santé Canada en 2003. Il figure dans la liste des médicaments couverts par le régime public au Québec depuis 2004. Deux génériques ont été ajoutés à la liste en juillet 2013.

Selon la monographie du produit, ce médicament est indiqué en tant que traitement adjuvant, chez les adultes épileptiques pour lesquels les antiépileptiques classiques ne suffissent pas à contrôler les crises de façon satisfaisante[48]. L'efficacité et l'innocuité du lévétiracétam n'ont pas été suffisamment évaluées chez les personnes âgées de 65 ans et plus ni chez les enfants de moins de 18 ans.

La dose quotidienne de départ est de 1000 mg, fractionnée en deux prises. Selon l'effet clinique obtenu, la dose peut être augmentée de 1000 mg/jr aux 2 semaines jusqu'à une dose maximale de 3000 mg/jr.

Le lévétiracétam est complètement absorbé après l'administration orale et sa biodisponibilité est proche de 100 %. La fixation aux protéines sériques est très faible (moins de 10 % sous forme liée). La concentration sérique du lévétiracétam augmente de façon linéaire avec l'augmentation de la dose. L'élimination est majoritairement rénale et la demi-vie plasmatique est de 6 à 8 heures; elle ne varie pas avec la dose, la voie d'administration ou la répétition des doses. L'état stable est atteint après 1 à 2 jours d'un schéma d'administration biquotidienne. La concentration sérique maximale est atteinte approximativement 1 heure après l'administration [Patsalos *et al.,* 2008; Johannessen et Tomson, 206; Radtke, 2001].

L'analyse évaluée est utilisée dans le suivi thérapeutique des patients traités avec le lévétiracétam dans des situations cliniques particulières.

---

47. Dans les 20 dernières années, 14 antiépileptiques dits de « nouvelle génération » ont été introduits sur le marché. Comparativement à ceux de la « première génération », ces antiépileptiques ont un plus large spectre et ils sont associés à moins d'effets indésirables [Krasowski, 2013].
48. UCB Canda Inc. Monographie de produit de Keppra[MC], Oakville, ON. 2012. Disponible à http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/info.do?code=71262&lang=fra.

3.3 Nombre de patients visés : selon le demandeur, 60 à 72 analyses par année.

3.4 Spécialités médicales concernées : Neurologie.

3.5 Modalités d'administration du test

En raison de la très courte demi-vie d'élimination plasmatique du lévétiracétam, le moment du prélèvement en relation avec la prise de la dose est important pour bien interpréter la concentration du médicament. Dans des conditions idéales, le prélèvement devrait être fait avant la prise de la dose du matin. Il est aussi important de séparer le sérum du sang entier aussitôt que possible afin d'éviter l'hydrolyse du lévétiracétam qui peut conduire à une sous-estimation de la concentration [Patsalos *et al.*, 2008]. L'étendue de référence est de 12 à 46 mg/L [Patsalos *et al.*, 2008].

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Substitutive : cette analyse faite localement remplacerait les envois hors Québec (Mayo Medical Laboratories).

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Selon l'information fournie par le demandeur et la liste des analyses hors Québec (révisée en janvier 2013), les prélèvements pour cette analyse sont envoyés actuellement hors Québec. D'après les données fournies par le MSSS concernant le nombre d'envois faits chez Mayo Medical Laboratories entre le 1er décembre 2011 et le 31 mars 2012 (4 mois), deux mesures du lévétiracétam ont été réalisées à un coût moyen de 111 $ CA. Si on extrapole sur une année financière complète, on peut estimer un total annuel de 6 analyses, soit un coût de 666 $. Les données 2012-2013 couvrent une année financière complète (1er avril 2012 au 31 mars 2013). Pendant cette période, 3 envois ont été faits à un coût unitaire de 105 $ (315 $ au total[49]). Toutefois, une hausse est à prévoir car, depuis que la demande d'ajout au Répertoire québécois a été envoyée au MSSS, le laboratoire reçoit des demandes d'analyse provenant de l'Ontario[50].

Concernant la détermination de la concentration sérique du lévétiracétam, plusieurs méthodes autres que celle évoquée par le demandeur ont été développées : chromatographie en phase liquide à haute performance (*high performance liquid chromatography*, HPLC) couplée à une détection UV [Ratnaraj *et al.,* 1996; Vermeij et Edelbroek, 1994]; chromatographie électrocinétique en microémulsion couplée à une détection UV [Ivanova *et al.,* 2003]; chromatographie en phase gazeuse (*gas chromatography*, GC) seule [Coupez *et al.,* 2003; Vermeij et Edelbroek, 1994] ou couplée à la spectroscopie de masse en tandem [Isoherranen *et al.,* 2000].

49. Communications électroniques personnelles avec M. Jean-Michel Lévesque du Service de biovigilance et de biologie médicale du MSSS (7 août 2013).
50. Communication téléphonique personnelle avec M. Pierre-Olivier Hétu Ph. D., biochimiste clinique, CHUM (18 septembre 2013).

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Selon l'information fournie par le demandeur, cette analyse permet l'optimisation des dosages de lévétiracétam pour améliorer les soins aux patients souffrant d'épilepsie. Le recours au HPLC-MS/MS, comparativement aux autres méthodes décrites plus haut, assure une mesure du lévétiracétam sérique plus rapide, plus sensible, comportant une meilleure reproductibilité et nécessitant un volume de plasma moins important [Jain et al., 2006].

4.4 Coût de la technologie et des options

La LC-MS/MS nécessite des équipements coûteux mais, comparativement à d'autres techniques comme la HPLC ou la GC, elle permet d'utiliser des échantillons de faible volume (50 à 200 µL) [Adaway et Keevil, 2012] et avec peu de manipulations, la durée d'exécution est courte, la spécificité est meilleure et il est possible de détecter plusieurs anticonvulsivants dans le même échantillon [Collins et Janis, 2012] .

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

L'analyse est réalisée actuellement hors Québec (Mayo Medical Laboratories). L'inclusion dans le Répertoire remplacerait ces envois.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique : ne s'applique pas.

5.1.3 Valeur thérapeutique

L'utilité du suivi thérapeutique pharmacologique du lévétiracétam a été étudiée par quelques auteurs. Elle est en étroite relation avec la pharmacocinétique du médicament. Le lien entre la concentration sérique de lévétiracétam et les effets cliniques n'a pas été démontré; toutefois, il peut avoir des applications potentiellement utiles, par exemple durant la grossesse ou pour évaluer l'adhérence au traitement [Ratnaraj *et al.,* 1996]. Dans ces cas-là, le résultat du test permettrait un ajustement de la dose. Contrairement à ce qui est indiqué aux guides de pratique récents [Nunes *et al.,* 2013], certains auteurs concluent à la nécessité de tester les niveaux sériques de lévétiracétam de façon systématique pendant la grossesse [Longo *et al.,* 2009] .

L'utilité du suivi thérapeutique systématique n'est pas démontrée, mais le suivi périodique peut être utile dans certains cas. Parmi les principales raisons qui sous-tendent le monitorage des anticonvulsivants, la plus commune est la grande variation interindividus dans la pharmacocinétique de ces molécules [Johannessen et Tomson, 2006; French, 2001] . Le concept d'intervalle thérapeutique individuel représente les valeurs pour lesquelles l'efficacité de la molécule est maximale et sa toxicité est minimale. Il serait essentiel de doser périodiquement le lévétiracétam sérique afin de s'assurer que la concentration disponible se situe à l'intérieur de l'intervalle thérapeutique individuel. Certaines conditions cliniques (p. ex. : âge, grossesse, diminution de la fonction rénale ou hépatique, thérapie concomitante autre) influent sur l'efficacité et l'innocuité de la molécule [Krasowski, 2010]. D'autres situations nécessitent un monitorage de la concentration sérique d'un anticonvulsivant [Patsalos *et al.,* 2008], entre autres lorsque :

1. Le traitement est commencé, la dose est modifiée ou le clinicien vise un intervalle précis;
2. La réponse clinique souhaitée est atteinte et le clinicien veut établir l'intervalle thérapeutique individuel;
3. Une toxicité est suspectée en raison d'un surdosage et l'évaluation subjective de celle-ci est difficile à réaliser (enfants ou personnes avec déficience intellectuelle);
4. Les crises persistent malgré un dosage apparemment adéquat;
5. Le traitement est faiblement accepté par le patient;
6. Le clinicien est en face d'une modification non expliquée de la réponse clinique.

Aucune étude n'a examiné le lien entre la mesure sérique du lévétiracétam et la mortalité, la morbidité, la qualité de vie ou les résultats cliniques.

5.2 Validité clinique

Aucune étude d'évaluation de la validité clinique n'a été repérée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

Relativement au dosage du lévétiracétam sérique, plusieurs études ayant eu recours à la LC ont été repérées dans la littérature. La plupart des méthodes nécessitant une détection UV [Juenke *et al.,* 2006] ou à réseau de diodes [Lancelin *et al.,* 2007; Pucci *et al.,* 2004] requièrent une purification des échantillons qui est plus longue et plus coûteuse (extraction en phase solide ou liquide-liquide) et un volume plus grand de plasma, sans compter qu'elles manquent de sensibilité et de spécificité. Ces méthodes s'appliquent moins bien en situation clinique. La LC-MS/MS est depuis peu considérée comme un étalon or relativement à l'analyse des petites molécules dans les fluides biologiques en situation clinique; elle est rapide, sélective, sensible et permet l'analyse simultanée de plusieurs composés [Collins et Janis, 2012; Kang *et al*., 2011; Matar, 2008; Guo *et al.,* 2007; Jain *et al.,* 2006] . Seules les études ayant utilisé la LC-MS/MS ont été décrites (voir tableau 1).

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

Tableau 1 Études ayant utilisé la LC-MS/MS pour doser le lévétiracétam sérique

ÉTUDE	CONTEXTE DE L'ÉVALUATION	NOMBRE DE PATIENTS TESTÉS	VOLUME PLASMA	ANALYSES LC-MS/MS					
				MÉTHODE DE PURIFICATION	CONTRÔLE INTERNE	IONISATION	COLONNE	LLOQ ng/ml	LINÉARITÉ µg/ml
Collins, 2012	Étude de validation Analyse de 8 composés	Échantillons additionnés	50 µl	PP	Piracétam Carboxamide	ESI	Hypersil Prism RP 5 µm	s. o.	2–100
Antonilli, 2011	Étude comparative 3 méthodes	22	250 µl	ELL	Lévétiracétam	ESI	RP18 5 µm	24,2	2,8–46,3
Kim, 2011	Étude de validation Analyse de 10 composés	25	10 µl	PP	d10-Phénytoin	ESI	C-18 3 µm	s. o.	1,2–60,0
Mendu, 2010	Étude de validation LVT + métabolite	50	50 µl	PP	Ritonavir	ESI	C-18 3 µm	10	1,0–50
Matar, 2008	Étude de validation et de comparaison	37	100 µl	EPS	Adénosine	ESI	C-18 5 µm	1	1,0–40
Guo, 2007	Étude de validation (salive, sérum, plasma)	600	100 µl	PP	Ritonavir	ESI	C-18 3 µm	100	50
Jain, 2006	Étude de validation; pharmacocinétique sur des individus sains	12	200 µl	EPS	Clonazépam	ESI	C-18 3 µm	500	0,5–50

Abréviations : ELL : extraction liquide-liquide; EPS : extraction en phase solide; ESI : ionisation par électronébulisation (*electrospray ionisation*); LLOQ : limite inférieure de la quantification (*lower limit of quantification*); LVT : lévétiracétam; ng/ml : nanogramme/millilitre; µg/ml : microgramme/millilitre; N : nombre; s. o. : sans objet; PP : précipitation de protéines.

Efficacité de l'extraction du lévétiracétam sérique

À l'exception de la méthode d'extraction employée par Jain et ses collaborateurs [2006], les études ayant mesuré le taux de récupération du lévétiracétam sérique affichent toutes des valeurs supérieures à 91 %, et ce, à des concentrations variant entre 1,2 et 45 µg/ml (tableau 2).

Tableau 2 Efficacité de l'extraction du lévétiracétam sérique

ÉTUDE	CONCENTRATION TÉMOIN µg/ml	EXTRACTION (%)	CV (%)
Jain 2006	1,5	80,88	3,51
	15	76,28	3,15
	35	82,69	3,25
Guo 2007	2,0	108	
	12,5	103	
Matar 2008	2,5	93,42	
	15	91,67	
	35	91,83	
Kim 2011	1,2	97,1	
	1,5	101	
	9	103	
	45	104	

Répétabilité et sensibilité analytique

Selon les données présentées au tableau 3, la technique employée pour mesurer la concentration sérique du lévétiracétam possède une faible variation intraessai : CV inférieur à 7 % pour toutes les mesures et une grande précision : erreur inférieure à 10 %.

Tableau 3 Répétabilité et précision de la mesure

ÉTUDE	N	CONCENTRATION TÉMOIN µg/ml	CONCENTRATION. MESURÉE µg/ml	ERREUR RELATIVE (%)	CV (%)
Jain, 2006	5	0,5	0,4506 ± 0,029	- 9,88	6,33
		1,5	1,4488 ± 0,064	- 3,41	4,42
		15	15,057 ± 0,441	0,380	2,93
		35	32,346 ± 0,624	- 7,58	1,93
Guo, 2007	10	2,0	2,1		6,1
		12,5	12,7		5,2
		25,0	25,3		4,9

ÉTUDE	N	CONCENTRATION TÉMOIN µg/ml	CONCENTRATION. MESURÉE µg/ml	ERREUR RELATIVE (%)	CV (%)
Matar, 2008	10	2,5	2,56 ± 0,07	2,40	2,73
		15	16,29 ± 0,38	8,60	2,32
		35	34,49 ± 0,19	- 1,46	0,55
Kim, 2011	6	1,2	1,17 ± 0,108	9,3	
		1,5	1,52 ± 0,0896	5,9	
		9	9,32 ± 0,702	7,5	
		45	49,10 ± 2,43	4,9	

Reproductibilité

Selon les données présentées au tableau suivant, la technique employée pour mesurer la concentration sérique du lévétiracétam possède une faible variation interessai : CV inférieur à 7 % pour toutes les mesures et une bonne précision : erreur inférieure à 10 % pour les concentrations supérieures à 1,2 µg/ml (tableau 4).

Tableau 4 Reproductibilité de la mesure

ÉTUDE	N	CONCENTRATION TÉMOIN µg/ml	CONCENTRATION. MESURÉE µg/ml	ERREUR RELATIVE (%)	CV (%)
Jain, 2006	15	0,5	0,425 ± 0,029	- 14,42	6,82
		1,5	1,460 ± 0,066	- 2,64	4,53
		15	15,379 ± 0,436	2,52	2,83
		35	34,484 ± 2,03	- 1,47	5,87
Guo, 2007	10-20	2,0	2,16		8,2
		12,5	12,9		6,2
		25,0	25,2		5,3
Matar, 2008	10	2,5	2,48 ± 0,22	- 0,80	8,88
		15	14,40 ± 0,99	- 4,00	6,85
		35	33,99 ± 1,63	- 2,89	4,78
Kim, 2011	6	1,2	1,14 ± 0,128	11,0	
		1,5	1,55 ± 0,129	8,3	
		9	8,68 ± 0,730	8,4	
		45	44,30 ± 4,09	9,2	

Spécificité analytique

Dix échantillons plasmatiques différents. Spécificité pour le lévétiracétam : 99 à 100 %, et 100 % pour le clonazépam (contrôle interne)[Jain *et al.,* 2006] .

Tableau 5 Interférence de la mesure avec différentes substances

SUBSTANCE	MATAR, 2008	KIM *ET AL.*, 2011
Carbamazépine	Non	Non
Carbamazepine-10,11 époxide	Non	Non
Oxcarbazépine	Non	Non
10-hydroxy-carbazépine	Non	-
Topiramate	Non	Non
Lamotrigine	Non	Non
Felbamate	Non	-
Vigabatrin	Non	-
Gabapentin	Non	Non
Zonisamide	Non	Non
Valproate	-	Non
Phénytoin	-	Non

Effet de matrice (*matrix effect*)

L'effet de matrice tient surtout au fait que certains composés comme des sels ou des phospholipides sont coélués avec le produit à l'étude et peuvent réduire ainsi l'efficacité de l'ionisation. Pas d'effet de matrice, selon deux études [Matar *et al.*, 2008; Jain *et al.*, 2006].

Concentrations testées : 1,5 µg/ml et 45 µg/ml; effet de matrice 98,1 % et 89,2 %, respectivement [Kim *et al.,* 2011].

Tableau 6 Concordance et corrélation entre la LC-MS/MS et d'autres méthodes de mesure

ÉTUDE	MÉTHODE DE COMPARAISON	CONCENTRATION CIBLE µg/ml	CONCENTRATION MESURÉE µg/ml	CV %	BIAIS (limites 95 %)*	R^2 OU R
Matar, 2008	HPLC-MS/MS et HPLC-UV					0,99
Guo, 2007	ChromSystems[51] (HPLC-UV) n = 12	8,54	8,79	6,5		
	Quest Diagnostics[52] n = 20	51,1	52,1	5,2		0,983
Mendu, 2010	ChromoSystems[4] n = 50					0,974

51. http://chromsystems.com/en/produkte/therapeutisches-drug-monitoring/levetiracetam/reagenzienkit/levetiracetam-keppra-r-reagenzienkit-fuer-die-hplc-analytik.
52. http://www.questdiagnostics.com/testcenter/TestDetail.action?ntc=15142&fromFlyOut=true.

ÉTUDE	MÉTHODE DE COMPARAISON	CONCENTRATION CIBLE µg/ml	CONCENTRATION MESURÉE µg/ml	CV %	BIAIS (limites 95 %)*	R^2 OU R
Antonili, 2011	HPLC couche mince vs LC-MS/MS				0,50 (– 11,34-12,34)	0,8864
	HPLC UV vs LC-MS/MS				- 0,99 (– 7,28 à 5,29)	0,9334

* Méthode de Bland-Altman

Régression linéaire (aire sous le pic versus concentration de lévétiracétam)

Jain, 2006

Analyse graphique d'une courbe d'étalonnage de neuf concentrations de lévétiracétam : 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 20; 30; 40 et 50 µg/mL. Cinq courbes ont été réalisées. Les courbes sont linéaires de 0,5 à 50 µg/ml; r ≥ 0,9971. La valeur de précision obtenue pour les coefficients de corrélation des 5 régressions linéaires est de 0,03 %.

Matar, 2008

Analyse graphique d'une courbe d'étalonnage de six concentrations de lévétiracétam : 1,0 à 40 µg/ml. Neuf courbes ont été réalisées. Les courbes sont linéaires; r > 0,99, CV : 4,1 %.

Kim, 2011

Analyse graphique d'une courbe d'étalonnage de six concentrations de lévétiracétam : 1,2 à 60 µg/mL. Six courbes ont été réalisées. Les courbes sont linéaires; r = 0,9987.

Spécificité

Capacité de la méthode à reconnaître et quantifier le lévétiracétam parmi un ensemble de composés endogènes et exogènes. Absence d'interférence sur le temps de rétention dans la colonne pour le lévétiracétam sérique : < 20 % [Jain, 2006] et < 7 % [Matar, 2008].

5.4 Recommandations d'autres organismes

Le guide de pratique publié en 2012 par le National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) et portant sur le diagnostic et le suivi de l'épilepsie chez les adultes et les enfants, en soins primaires et secondaires, recommande de ne pas réaliser le suivi thérapeutique des antiépileptiques de façon systématique [Nunes *et al.,* 2012]. Ce suivi est indiqué pour la détection de la non-adhérence au médicament, lorsqu'on soupçonne une toxicité ou une interaction médicamenteuse et dans des conditions cliniques particulières comme l'état de mal épileptique, la défaillance des organes et certaines situations associées à la grossesse.

Quoique moins détaillé, le guide écossais sur le diagnostic et le traitement de l'épilepsie chez les adultes, publié en 2003 et mis à jour en 2005, recommande de ne pas faire le suivi thérapeutique du lévétiracétam de façon systématique, mais uniquement lorsque la situation clinique l'exige, par exemple si la non-adhérence au traitement peut expliquer l'absence de contrôle des crises avec le traitement [SIGN, 2003]. Le principal problème évoqué est le manque de valeurs cible pour la plupart des antiépileptiques de nouvelle génération. Le suivi thérapeutique est indiqué durant la grossesse si les crises augmentent

ou s'il y a un risque d'augmentation. Dans ces cas, il peut être utile pour ajuster les doses [Nunes *et al.,* 2012; Dailly *et al.,* 2010].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

Les méthodes employées pour faire fonctionner un LC-MS/MS requièrent un niveau d'expertise spécial. La disponibilité du personnel qualifié devrait être prise en considération [Clarke *et al.,* 2013].

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

Bien que les coûts initiaux d'acquisition du LC-MS/MS paraissent élevés, des économies concernant les réactifs sont à prévoir comparativement à d'autres méthodes comme les analyses immunologiques. Les coûts engendrés par la maintenance des appareils, l'élimination des déchets, les épreuves de compétence, la gestion des bases de données et la formation continue des techniciens devraient être considérés [Clarke *et al.,* 2013.

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

Les deux défis majeurs associés à l'implantation d'une analyse LC-MS/MS dans un laboratoire clinique sont : 1) la nature manuelle de l'analyse; et 2) le manque de familiarisation avec une technique souvent perçue comme très complexe. Toutefois, de plus en plus de laboratoires cliniques se tournent vers le LC MS/MS, ce qui a forcé les fabricants à élaborer des stratégies pour faciliter les étapes pré et postanalytiques telles que la manipulation automatique des liquides et certaines interfaces afin de faciliter le transfert des données au système d'information du laboratoire [Grebe et Singh, 2011].

Les analyses de laboratoire utilisant le LC-MS/MS comportent différentes étapes qui sont pour plupart développées « maison ». De ce fait, il est de la responsabilité du laboratoire de déterminer les performances analytiques et de valider cliniquement la procédure opérationnelle avant de l'offrir en clinique [Clarke *et al.,* 2013].

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Le suivi thérapeutique du lévétiracétam permettrait de vérifier que la concentration est à l'intérieur des valeurs thérapeutiques chez des personnes jeunes ou âgées, enceintes, avec une fonction rénale ou hépatique réduite et celles nécessitant un ajustement de la dose ou ayant une thérapie concomitante autre. Aucune étude ne démontre l'effet du suivi thérapeutique sur les résultats cliniques.

7.2 Validité clinique

Peu d'information est disponible concernant le suivi thérapeutique du lévétiracétam. Toutefois, la LC-MS/MS est une technique qui s'adapte bien au contexte clinique : volume d'échantillons faible, rapidité d'analyse, mesure de plusieurs médicaments en simultané.

7.3 Validité analytique

Beaucoup d'information est disponible. La technique est sélective, sensible, précise et reproductible.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Des recommandations en faveur du suivi thérapeutique du lévétiracétam sérique dans certaines situations cliniques ont été faites, et ce, malgré l'absence de données sur la validité clinique du test. Aucune recommandation n'a été trouvée concernant la méthode à employer.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage du lévétiracétam sérique par LC-MS/MS

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

  L'utilité clinique n'est pas démontrée et il n'y a pas de données sur la validité clinique. Selon les données de la RAMQ fournies par le MSSS, il n'y a pas assez de volume pour introduire cette analyse dans le Répertoire.
  Il est recommandé au demandeur de déposer une demande plus complète.

- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

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

RÉFÉRENCES

Adaway JE et Keevil BG. Therapeutic drug monitoring and LC-MS/MS. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2012;883-884:33-49.

Antonilli L, Brusadin V, Filipponi F, Guglielmi R, Nencini P. Development and validation of an analytical method based on high performance thin layer chromatography for the simultaneous determination of lamotrigine, zonisamide and levetiracetam in human plasma. J Pharm Biomed Anal 2011;56(4):763-70.

Clarke W, Rhea JM, Molinaro R. Challenges in implementing clinical liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods--the light at the end of the tunnel. J Mass Spectrom 2013;48(7):755-67.

Collins JA et Janis GC. Analysis of selected anticonvulsants by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Methods Mol Biol 2012;902:201-9.

Coupez R, Straetemans R, Sehgal G, Stockis A, Lu ZS. Levetiracetam: relative bioavailability and bioequivalence of a 10% oral solution (750 mg) and 750-mg tablets. J Clin Pharmacol 2003;43(12):1370-6.

Dailly E, Bouquie R, Bentue-Ferrer D. Suivi thérapeutique pharmacologique du lévétiracetam. Thérapie 2010;65(1):67-70.

Forsgren L, Beghi E, Oun A, Sillanpaa M. The epidemiology of epilepsy in Europe. A systematic review. Eur J neurol 2005;12(4):245-53.

French J. Use of levetiracetam in special populations. Epilepsia 2001;42(Suppl 4):40-3.

Grebe S et Singh R. LC-MS/MS in the clinical laboratory - Where to from here? Clin Biochem Rev 2011;32(1):5-31.

Guo T, Oswald LM, Mendu DR, Soldin SJ. Determination of levetiracetam in human plasma/serum/saliva by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Clin Chim Acta 2007;375(1-2):115-8.

Isoherranen N, Roeder M, Soback S, Yagen B, Schurig V, Bialer M. Enantioselective analysis of levetiracetam and its enantiomer R-alpha-ethyl-2-oxo-pyrrolidine acetamide using gas chromatography and ion trap mass spectrometric detection. J Chromatogr B, Biomed Sci Appl 2000;745(2):325-32.

Ivanova M, Piunti A, Marziali E, Komarova N, Raggi MA, Kenndler E. Microemulsion electrokinetic chromatography applied for separation of levetiracetam from other antiepileptic drugs in polypharmacy. Electrophoresis 2003;24(6):992-8.

Jain DS, Subbaiah G, Sanyal M, Pal U, Shrivastav PS. Determination of levetiracetam in human plasma by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry and its application to bioequivalence studies. Rapid Commun Mass Spectrom 2006;20(17):2539-47.

Johannessen SI et Tomson T. Pharmacokinetic variability of newer antiepileptic drugs: when is monitoring needed? Clin Pharmacokinet 2006;45(11):1061-75.

Juenke J, Brown PI, Urry FM, McMillin GA. Drug monitoring and toxicology: a procedure for the monitoring of levetiracetam and zonisamide by HPLC-UV. J Anal Toxicol 2006;30(1):27-30.

Kang J, Park YS, Kim SH, Jun MY. Modern methods for analysis of antiepileptic arugs in the biological fluids for pharmacokinetics, bioequivalence and therapeutic drug monitoring. Korean J Physiol Pharmacol 2011;15(2):67-81.

Kim KB, Seo KA, Kim SE, Bae SK, Kim DH, Shin JG. Simple and accurate quantitative analysis of ten antiepileptic drugs in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. J Pharm Biomed Anal 2011;56(4):771-7.

Krasowski MD. Therapeutic drug monitoring of the newer anti-epilepsy medications. Pharmaceuticals (Basel) 2010;3(6):1909-35.

Lancelin F, Franchon E, Kraoul L, Garciau I, Brovedani S, Tabaouti K, et al. Therapeutic drug monitoring of levetiracetam by high-performance liquid chromatography with photodiode array ultraviolet detection: preliminary observations on correlation between plasma concentration and clinical response in patients with refractory epilepsy. Ther Drug Monit 2007;29(5):576-83.

Longo B, Forinash AB, Murphy JA. Levetiracetam use in pregnancy. Ann Pharmacother 2009;43(10):1692-5.

Matar KM. Quantification of levetiracetam in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to therapeutic drug monitoring. J Pharm Biomed Anal 2008;48(3):822-8.

Mendu DR et Soldin SJ. Simultaneous determination of levetiracetam and its acid metabolite (ucb L057) in serum/plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Clin Biochem 2010;43(4-5):485-9.

Nunes VD, Sawyer L, Neilson J, Sarri G, Cross JH. Diagnosis and management of the epilepsies in adults and children: summary of updated NICE guidance. BMJ 2012;344:e281.

Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BFD, Cloyd JC, Glauser TA, Johannessen SI, et al. Antiepileptic drugs - best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on therapeutic strategies. Epilepsia 2008;49(7):1239-76.

Pucci V, Bugamelli F, Mandrioli R, Ferranti A, Kenndler E, Raggi MA. High-performance liquid chromatographic determination of Levetiracetam in human plasma: comparison of different sample clean-up procedures. Biomedical chromatography : BMC 2004;18(1):37-44.

Radtke RA. Pharmacokinetics of levetiracetam. Epilepsia 2001;42(Suppl 4):24-7.

Ratnaraj N, Doheny HC, Patsalos PN. A micromethod for the determination of the new antiepileptic drug levetiracetam (ucb LO59) in serum or plasma by high performance liquid chromatography. Ther Drug Monit 1996;18(2):154-7.

Scottish intercollegiate guidelines network (SIGN) Diagnosis and management of epilepsiy in adults. A national clinical guidelines. SIGN publication 70. Edingburg, Écosse; SIGN; 2003

Vermeij TA et Edelbroek PM. High-performance liquid chromatographic and megabore gas-liquid chromatographic determination of levetiracetam (ucb L059) in human serum after solid-phase extraction. J Chromatogr B, Biomedl Appl 1994;662(1):134-9.

DOSAGE DE LA RIBAVIRINE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE COUPLÉE À UNE DÉTECTION AUX ULTRAVIOLETS (HPLC-UV) (RÉFÉRENCE 2013.02.005)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 28 août 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Chromatographie liquide à haute performance couplée à une détection aux ultraviolets (*high performance liquid chromatography-ultraviolet* ou HPLC-UV).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

La ribavirine est un agent pharmacologique utilisé notamment dans le traitement à long terme de l'hépatite C. Son accumulation dans les érythrocytes induit une anémie hémolytique. Son suivi thérapeutique pharmacologique[53] est fait par le dosage de la ribavirine dans le plasma ou le sérum. Par ailleurs, le dosage dans le sang entier est utilisé dans les études de validation de la méthode.

Par mesure de sécurité pour le personnel de laboratoire, un prétraitement par la chaleur peut être appliqué afin de désactiver les virus de l'hépatite C (VHC) potentiellement présents dans l'échantillon. Diverses méthodes peuvent être utilisées pour l'extraction des molécules de ribavirine, notamment l'extraction en phase solide sur une colonne d'acide phénylboronique [Homma *et al*., 1999]. La fraction purifiée est alors analysée par HPLC.

La HPLC-UV permet une séparation et une détection des molécules de ribavirine afin d'obtenir un profil chromatographique unique. Les résultats obtenus sont quantitatifs.

53. En anglais : *therapeutic drug monitoring.*

2.3 Société ou développeur

L'analyse est réalisée par une méthode « maison ». Le dosage de la ribavirine est fait à partir du plasma ou du sérum de l'échantillon prélevé. Les principales étapes du protocole[54] sont les suivantes :

- Extraction en phase solide sur une cartouche d'acide phénylboronique (après l'ajout d'un contrôle interne : 3-méthylcytidine) :
  - ajout de l'échantillon sur la cartouche en condition alcaline;
  - lavage avec eau;
  - élution de l'échantillon en condition acide.
- Analyse de l'éluat par HPLC-UV en phase inverse.

Les valeurs seuils sont les suivantes :

- thérapeutique : 2,0 à 2,5 μg/ml
- toxique : > 2,5 μg/ml

D'autres auteurs rapportent des valeurs seuils plus élevées.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Ne s'applique pas. Le requérant utilise une méthode « maison » pour l'analyse, avec un contrôle de qualité interne (groupe de patients).

2.7 Valeur pondérée : 17,9.

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

3.1 Patients ciblés

L'analyse sert au suivi thérapeutique de la ribavirine chez les patients atteints d'hépatite C.

3.2 Description de la maladie visée

Infection par le virus de l'hépatite C

Le virus de l'hépatite C (VHC) s'attaque au foie, causant une hépatite, une cirrhose ou un cancer du foie. Cette infection peut entraîner la mort. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime la prévalence du VHC entre 2 % à 3 % de la population mondiale [ASPC, 2012], ce qui représente au moins de 150 à 170 millions d'individus infectés [OMS, 2013; Morello *et al*., 2007; Chan *et al*., 2009]. En 2007, la prévalence du VHC au Canada était estimée à 0,8 %, dont environ 21 % des individus n'étaient pas au courant de leur infection. En 2009, le taux d'incidence était de 33,7 cas pour 100 000 individus, selon le Système canadien de surveillance des maladies à déclaration obligatoire (SSMDO) [ASPC, 2012]. La majorité des cas (61 %) de VHC au Canada se trouvent chez les usagers de drogues injectables [ASPC,

54. Selon l'information fournie par le demandeur.

2012]. De plus, une proportion non négligeable (au moins 20 %) des individus ont une co-infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [INSPQ, 2011]. Le taux de mortalité par hépatite virale (toutes sortes confondues) en 2009 était de 1 sur 100 000 personnes [Statistique Canada, 2012].

Au Québec, le taux d'incidence des cas déclarés en 2011 était de 17,1 pour 100 000 personnes, soit 1356 nouveaux cas. Les taux d'incidence sont passés de 50,2 à 17,1 entre 2000 et 2011, soit une diminution de 66 % (données extraites du *Registre des maladies à déclaration obligatoire* ou MADO) [MSSS, 2013].

Traitement pharmacologique et effets indésirables

La ribavirine, un analogue nucléosidique de synthèse de la guanosine [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*, 2009; Morello *et al*., 2007], est un agent antiviral à large spectre d'activité contre une variété de virus à ADN et à ARN [Loregian *et al*., 2007] qui est utilisé dans le traitement du VHC en combinaison avec l'interféron α peguylé (*pegylated alpha-interferon*) [D'Avolio *et al*., 2012; Gandia *et al*., 2010]. La ribavirine peut être utilisée dans le traitement des infections au virus respiratoire syncytial, les virus influenza A et B et les infections au virus de la fièvre Lassa [Loregian *et al*., 2007]. Au Québec, la ribavirine est sur la liste des médicaments d'exception relativement au remboursement par le Régime public d'assurance médicaments [APC, 2013].

La combinaison[55] de la ribavirine et de l'interféron α peguylé est le traitement courant de l'infection chronique au VHC [Dominguez *et al*., 2012; Myers *et al*., 2012; Chan *et al*., 2009; Sauvage *et al*. 2009; Stanke-Labesque *et al*, 2009; Loregian *et al*., 2007; Morello *et al*., 2007]. La moitié des patients traités avec cette thérapie combinée rechutent ou ne répondent pas au traitement [Sauvage *et al*. 2009; Morello *et al*., 2007]. En effet, son efficacité dépend, entre autres, du génotype du VHC [SIGN, 2013]. Chez les patients infectés avec le VHC génotype 2 ou 3, cette bithérapie est hautement efficace alors que près de la moitié des patients atteints du VHC génotype 1 n'arrivent pas à obtenir une réponse virologique soutenue[56] [Stanke-Labesque *et al*, 2009]. Le VHC génotype 1 est le plus difficile à traiter et le plus prévalent [Brochot *et al*., 2010]. La durée du traitement repose notamment à la fois sur le génotype viral, la présence d'une co-infection au VIH, l'obtention d'une réponse virologique rapide, la charge virale et la tolérance au traitement [APC, 2013; Solas *et al*., 2011; Pinette *et al*., 2009].

La ribavirine est rapidement absorbée (concentration plasmatique maximale après 1 à 2 h). Elle a une distribution rapide (demi-vie d'environ 3,7 h) et une élimination, majoritairement rénale, très lente. Sa demi-vie d'élimination est de 270 à 300 h[57] [APhC, 2013]. L'état d'équilibre peut être atteint après environ 3 à 4 semaines de traitement [Solas *et al*., 2011; Sauvage *et al*. 2009] ou survenir beaucoup plus tard [Dominguez *et al*., 2012]. La ribavirine montre une grande variabilité pharmacocinétique interindividuelle mais une faible variabilité intra-individuelle [APhC, 2013; Sauvage *et al*., 2009; Brochot *et al*., 2010; Stanke-Labesque *et al*., 2009].

---

55. La ribavirine peut être donnée en combinaison avec l'interféron α (pegylé ou non) ou en trithérapie avec le bocéprévir ou le télaprévir dans le traitement de l'hépatite C. La ribavirine en monothérapie n'est pas efficace [APhC, 2013].
56. La réponse virologique soutenue est définie comme une charge virale indétectable 24 semaines (6 mois) après l'arrêt du traitement [Dominguez *et al.*, 2012; Solas *et al.*, 2011].
57. Il s'agit d'une demi-vie d'élimination pour des doses répétées. À simple dose, la demi-vie d'élimination est de 44 à 49 heures.

Une des complications les plus communes associée à l'usage de la ribavirine est l'anémie hémolytique (réversible), laquelle est due à l'accumulation de ribavirine dans les érythrocytes [Brochot *et al*., 2010; Sauvage *et al*., 2009; Stanke-Labesque *et al*., 2009; Loregian *et al*., 2007; Morello *et al*., 2007; Homma *et al*., 1999]. En effet, une fois entrée dans les érythrocytes, la ribavirine est convertie en métabolites phosphorylés par la phosphorylation intracellulaire. Ces métabolites diminuent les niveaux d'ATP (adénosine triphosphate) intracellulaire, résultant en une réduction de l'intégrité de l'érythrocyte qui peut être suivie par une hémolyse [D'Avolio *et al*., 2012; Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009; Homma *et al*., 1999].

Pertinence du suivi thérapeutique du médicament

La concentration de ribavirine nécessaire à l'obtention d'une efficacité thérapeutique est superposable au seuil de concentration toxique et elle implique un risque d'anémie sévère. La fenêtre thérapeutique de la ribavirine est donc très étroite [Solas *et al*., 2011]. Étant donné sa grande variabilité pharmacocinétique interindividuelle et sa faible variabilité intra-individuelle ainsi que l'existence d'une corrélation entre la concentration médicamenteuse et l'efficacité ou la toxicité, la ribavirine serait une bonne candidate à un suivi thérapeutique du médicament [Gandia *et al*., 2010]. Toutefois, cette corrélation est démontrée dans une seule étude, et une revue canadienne mentionne des données contradictoires à propos d'une telle corrélation [Chan *et al*., 2009].

3.3 Nombre de patients visés

Le nombre d'analyses attendues par année est estimé par le requérant à environ 2000 ou 2200.

Au cours des cinq dernières années, le nombre de patients traités avec la ribavirine pour l'hépatite C chronique est resté relativement stable au Québec, soit une moyenne d'environ 780 individus[58] annuellement [données de la RAMQ].

3.4 Spécialités médicales concernées

Biochimie médicale, hématologie, hépatologie, gastroentérologie, infectiologie.

3.5 Modalités d'administration du test

Les échantillons sanguins devraient être recueillis selon les modalités habituelles pour ce type d'échantillonnage. On observe des différences dans les modes et la durée de conservation des échantillons entre les renseignements fournis par le demandeur et ceux trouvés dans la littérature.

Selon l'information fournie par le requérant, les échantillons sanguins peuvent être recueillis dans des tubes sans gel lorsqu'il s'agit de sérum, ou dans des tubes avec un anticoagulant comme l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) ou l'héparine s'il s'agit du plasma. Les échantillons sont conservés à la température ambiante jusqu'à la centrifugation, dans un délai maximal de 2 heures. Les échantillons (plasma ou sérum), séparés des cellules, peuvent être ensuite conservés au réfrigérateur durant une semaine ou au congélateur pour une plus longue période.

58. Ce nombre exclut les patients qui sont couverts par un régime d'assurance privé.

Selon l'information tirée de la littérature, les échantillons sanguins (pour l'analyse du plasma) devraient être collectés dans des tubes EDTA ou avec gel séparateur, en raison d'une plus faible variabilité de la concentration de ribavirine dans le plasma que dans le sérum [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009]. Les tubes doivent être gardés sur la glace pour un maximum de 2 heures avant la centrifugation parce que la concentration dans le plasma diminue à des températures plus élevées durant de plus longues périodes.
Le plasma peut être conservé durant au moins 3 mois à - 20°ºC pour des analyses ultérieures [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009].

Aucune particularité n'est à préciser quant au lieu de prélèvement.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : analyse unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Diverses méthodes analytiques ont été élaborées pour quantifier la ribavirine dans le sérum ou le plasma : biodosage (*bioassay*), dosage radio-immunologique (*radioimmunoassay ou* RIA), électrophorèse capillaire, GC-MS, HPLC-UV, HPLC-MS/MS et LC-MS/MS[59] [Solas *et al*., 2011; Sauvage *et al*., 2009; Stanke-Labesque *et al*., 2009; Loregian *et al*., 2007; Homma *et al*., 1999].

Le RIA manque de spécificité et il a une réaction croisée avec les métabolites de la ribavirine, ce qui limite son utilité pour le suivi thérapeutique du médicament. La plupart des méthodes HPLC présentent un recouvrement, une exactitude, une spécificité et une sélectivité adéquats [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009]. Les méthodes HPLC-MS/MS et HPLC-UV sont équivalentes en termes d'exactitude et de précision [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009]. La méthode HPLC-MS/MS a l'avantage d'une haute spécificité, compatible avec une simple préparation d'échantillon telle que la précipitation de protéines, et une haute sensibilité, compatible avec de petits volumes de plasma [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009]. La méthode LC-MS/MS requiert généralement un volume d'échantillon moins important et une procédure d'extraction moins longue que celle par HPLC-UV [Sauvage *et al*., 2009].

La quantification par HPLC-UV requiert une étape préalable d'extraction en phase liquide ou solide. La méthode d'extraction liquide-liquide avec différents solvants (acétonitrile, méthanol, éthylacétate, éther, chloroforme, dichloroéthane et dichlorométhane) donne un faible recouvrement et une faible reproductibilité [Loregian *et al*., 2007]. Elle pourrait compromettre la spécificité et la sélectivité de la méthode. Une telle procédure requiert un contrôle interne et plusieurs solvants, ce qui rend toute la procédure laborieuse et coûteuse [Morello *et al*., 2007] en opposition avec d'autres études qui prétendent le contraire [Solas *et al*., 2011; Stanke-Labesque *et al*., 2009].

En revanche, l'extraction en phase solide sur colonnes d'acide phénylboronique, lesquelles se lient sélectivement aux structures contenant du ribose, permet une préparation d'échantillon reproductible et efficace [Loregian *et al*., 2007]. Elle ne requiert pas l'usage de

59. GC-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
HPLC-UV : chromatographie liquide à haute performance couplée à une détection aux ultra-violets.
HPLC-MS-MS : chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem.
LC-MS-MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

solvant pour préconditionner les cartouches ou pour extraire la ribavirine [Morello *et al*., 2007], mais elle est aussi exigeante quant au temps d'exécution et coûteuse [Solas *et al*., 2011; Sauvage *et al*., 2009; Stanke-Labesque *et al*., 2009].

Bref, la quantification de la ribavirine par HPLC-UV est la plus fréquemment utilisée [Sauvage *et al*., 2009]. Elle sert à la séparation et à la détection des molécules de ribavirine (ou ses métabolites). Toutefois, différentes techniques d'extraction peuvent être employées pour la préparation de l'échantillon préalable à l'analyse.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La HPLC-UV est une méthode fiable. L'extraction en phase solide sur colonnes d'acide phénylboronique permet une préparation d'échantillon reproductible et efficace, bien qu'elle puisse être longue et coûteuse.

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test : ne s'applique pas.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Mortalité : l'analyse permet un dosage optimal du médicament, ce qui pourrait prévenir les conséquences potentiellement mortelles d'une anémie hémolytique induite par la ribavirine. Aucune étude n'a évalué ce paramètre.

Morbidité et qualité de vie : un dosage approprié permet un traitement adéquat, ce qui assure un meilleur contrôle de l'infection au VHC et permet d'éviter l'aggravation de l'état du patient. L'anémie induite par la ribavirine peut augmenter la fatigue et diminuer la qualité de vie [Brochot *et al*., 2010]. Or, l'analyse pourrait permettre de prévenir l'anémie. Des données quantitatives sur cet effet n'ont pas été repérées.

Modifications du traitement en raison des résultats du test : le suivi thérapeutique pharmacologique permet, au besoin, des ajustements de dosage de la ribavirine afin d'éviter la toxicité hématologique (anémie hémolytique) tout en optimisant la réponse au traitement chez le patient. Dans certains cas, un arrêt du traitement à la ribavirine peut être envisagé. L'information disponible est tirée des opinions d'experts. Par ailleurs, une revue rapporte des preuves contradictoires quant à l'existence d'une corrélation entre les concentrations de ribavirine et la réponse virologique ou le développement d'une toxicité [Chan *et al*., 2009].

5.1.3 Valeur thérapeutique

L'analyse de la ribavirine permet d'assurer un suivi thérapeutique adéquat du médicament dans le but d'optimiser son dosage chez les patients afin d'atteindre une réponse maximale de la thérapie tout en évitant une toxicité médicamenteuse [Solas *et al*., 2011; Gandia *et al*., 2010; Sauvage *et al*. 2009; Stanke-Labesque *et al*., 2009; Loregian *et al*., 2007; Morello *et al*., 2007]. Un traitement à l'érythropoïétine peut être donné afin de maintenir optimaux les niveaux de dose de ribavirine de même que l'efficacité du médicament [Dominguez *et al*., 2012; Brochot *et al*., 2010]. Dans certains cas, à la suite des résultats du test, une réduction de la dose ou un arrêt du traitement à la ribavirine peut être envisagé [Solas *et al*., 2011; Brochot *et al*., 2010]. Un changement de médication pourra alors être proposé.

Selon les données locales fournies par le requérant, une moyenne de 6 prélèvements par patient ont été faits en 2012-2013, soit un prélèvement par 2 mois sur 249 patients. Par ailleurs, 68 % des patients traités à la ribavirine ayant développé une anémie significative qui a nécessité un ajustement posologique montraient des niveaux de ribavirine supérieurs à 2,5 µg/ml. Pour le moment, le seuil de toxicité choisi, soit 2,5 µg/ml, est en cours d'évaluation. Les valeurs de référence ne sont pas définitives.

5.2 Validité clinique

Aucune donnée relative à la validité clinique n'est disponible parmi les études retenues.

5.3 Validité analytique (ou technique)

Les données sur la validité analytique de la HPLC-UV sont tirées des résultats de six études sur la validation de la méthode. Elles portent sur des spécimens de sang entier, de plasma ou de sérum.

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

Répétabilité, reproductibilité et exactitude

Les données relatives à la répétabilité et à la reproductibilité sont présentées au tableau 1. L'analyse est relativement précise, reproductible et exacte, avec des coefficients de variation ne dépassant pas 13 %. Par ailleurs, Sauvage et ses collaborateurs [2009] ont réalisé des essais interlaboratoires qui ont chiffré les erreurs relatives à moins de 11 % en intra et interlot, et de moins de 17 % avec un groupe de patients.

Tableau 1 Répétabilité, reproductibilité et exactitude

ÉTUDE	MÉTHODE	NOMBRE ET TYPE DE SPÉCIMENS	CONCENTRATION DE RIBAVIRINE† (µg/ml)	PRÉCISION		EXACTITUDE (% BIAIS)
				INTRAESSAI (% CV)	INTERESSAI (% CV)	
Homma *et al.*, 1999	HPLC-UV	5 (sang entier)	0,41	10,4	11,7	n.d.
		5 (sang entier)	2,44	3,2	4,7	n.d.
		5 (sang entier)	9,77	5,9	6,0	n.d.
Sauvage *et al.*, 2009	HPLC-UV	Intraessai : 6 Interessai : 23 (plasma ou sérum)	0,1 à 10	< 6,7*	< 6,0*	n.d.
	LC-MS/MS (tech. 1)	Intraessai : 5 Interessai : 5 (plasma ou sérum)	0,01 à 5	< 7,8*	< 13,3*	n.d.
	LC-MS/MS (tech. 2)	Intraessai : 6 Interessai : 6 (plasma ou sérum)	0,1 à 7	< 3,9*	< 10,7*	n.d.
ÉTUDES	**MÉTHODE**	**NOMBRE ET TYPE DE SPÉCIMENS**	**CONCENTRATION DE RIBAVIRINE† (µg/ml)**	**PRÉCISION**		**EXACTITUDE (% BIAIS)**
				***INTRA-DAY* (% CV)**	***INTER-DAY* (% CV)**	
D'Avolio *et al.*, 2013	HPLC-UV	10 (sang entier)	7,5	3,97*	8,07*	- 6,65
			50	2,93*	3,91*	0,02
			100	2,87*	4,63*	1,80
			200	3,00*	3,89*	1,48
Loregian *et al.*, 2007	HPLC-UV	*Intra-day* : 6 fois *Inter-day* : 3 jours (plasma)	0,05	4,1	4,3	2,0 / - 6,0
			0,2	3,1	2,3	- 2,0 / 4,0
			1	0,7	0,5	- 0,8 / - 4,0
			5	0,2	0,7	2,2 / - 0,4
			10	1,3	0,4	- 5,6 / 2,1
Morello e*t al.*, 2007	HPLC-UV	n.d. (plasma)	0,05	0,9	1,4	n.d.
			0,5	3,5	1,1	n.d.
			5	0,9	0,4	n.d.

Abréviations : CV : coefficient de variation; HPLC-UV : chromatographie liquide à haute performance couplée à une détection aux ultraviolets (*high performance liquid chromatography-ultraviolet*); LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (*liquid chromatography tandem mass spectrometry*); n.d. : non disponible; µg/ml : microgramme par millilitre; tech. : technique d'extraction

*Écart-type relatif (*relative standard deviation*)

†Une conversion des unités présentées dans les études est faite aux fins d'uniformité.

Linéarité

La méthode HPLC-UV présente des courbes de calibration linéaires. Cela signifie que cette méthode permet de quantifier les concentrations de ribavirine avec une faible marge d'erreur par rapport à des solutions de calibration (normes ou standards). Les études retenues convergent vers ce même constat (voir tableau 2).

Tableau 2 Linéarité des courbes de calibration avec la méthode HPLC-UV

ÉTUDE	CONCENTRATION DE RIBAVIRINE (µg/ml)	COEFFICIENT DE CORRÉLATION
D'Avolio *et al*., 2003	0,625 à 320	r^2 = 0,998
Loregian *et al*., 2007	8 points de calibration : 2,5; 5; 12,5; 25; 50; 100; 250; 500	≥ 0,997 pour toutes les courbes
Homma *et al*., 1999		r = 0,9999
Morello *et al*., 2007	0,05; 0,5; 5	r^2 = 0,997
Sauvage *et al*., 2009	0,125 à 4,550	r = 0,9996

Abréviation : µg/ml : microgramme par millilitre

Sensibilité et spécificité analytiques, interférence et recouvrement

Les données sur la limite de détection et la limite de quantification (tableau 3) renseignent sur la sensibilité de l'analyse par HPLC-UV. Quant à la spécificité de cette méthode, aucune interférence n'est observée. Les pics de ribavirine et de la norme de référence ont été observés à des temps de rétention de 4,8 ± 0,15 min et 10,5 ± 0,15 min, respectivement. Aucun pic d'interférence généré par des substances endogènes n'a été observé [D'Avolio *et al.*, 2013].

Aucune interférence significative n'a été observée avec les médicaments antirétroviraux [Morello *et al*., 2007] ni avec les antiviraux ou les antibiotiques testés [Loregian *et al*., 2007].

Dans la plupart des études, le taux de recouvrement est supérieur à 80 %, à l'exception de deux études dans lesquelles ce taux est supérieur à 55 % et de plus de 63 % à des concentrations respectives de 0,1 à 10 µg/mL et de 0,41 µg/mL (1,67 µM) [Sauvage *et al*., 2009 ; Homma *et al*., 1999].

Tableau 3 Recouvrement, limite de détection et limite de quantification

ÉTUDE	MÉTHODE	NOMBRE DE SPÉCIMENS	CONCENTRATION DE RIBAVIRINE* (µg/ml)	RECOUVRE-MENT (%)	LOD ET LOQ (µg/ml)
D'Avolio *et al*., 2013	HPLC-UV	10	7,5 à 200	80,1	LOD : 0,312 LOQ : 0,625 (sang entier)
Homma *et al*., 1999	HPLC-UV	5	0,41	63,2	LOD : 0,0195 g/ml (plasma) 0,0488 g/ml (sang entier)
		5	2,44	85,9	
		5	9,77	90,7	
Loregian *et*	HPLC-UV	4	0,05 à 10	90,4	LOQ : 0,05

ÉTUDE	MÉTHODE	NOMBRE DE SPÉCIMENS	CONCENTRATION DE RIBAVIRINE* (µg/ml)	RECOUVRE-MENT (%)	LOD ET LOQ (µg/ml)
al., 2007					(plasma)
Morello *et al*., 2007	HPLC-UV	n.d.	0,05	93	LOD : 0,025 LOQ : 0,050 (plasma)
			0,5	91	
			5	98	
Sauvage *et al*., 2009	HPLC-UV	5	0,1 à 10	> 55,3	n.d.
	LC-MS-MS (tech. 1)	3	0,01 à 5	> 92,8	n.d.
	LC-MS-MS (tech. 2)	3	0,1 à 7	> 92,9	n.d.

Abréviations : LOD : limite de détection; LOQ : limite de quantification; n.d. : non disponible; µg/mL : microgramme par millilitre.
*Une conversion des unités présentées dans les études a été faite par l'auteure de la présente évaluation aux fins d'uniformité.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Le suivi thérapeutique pharmacologique de la ribavirine est recommandé par des études françaises [Solas *et al*., 2011; Brochot *et al*., 2010; Stanke-Labesque *et al*., 2009], mais une étude canadienne (revue critique) ne le recommande pas à cause des preuves contradictoires portant sur l'existence d'une corrélation entre les concentrations de ribavirine et la réponse virologique ou le développement de la toxicité [Chan *et al*., 2009].

Une étude clinique randomisée multicentrique (phase 3), RIBAJUSTE, est actuellement en cours en France. Elle évalue l'efficacité et la sécurité de l'adaptation des doses de ribavirine chez les personnes atteintes de VHC avec un génotype 1, en comparaison avec le traitement classique. Cette étude pourrait aider à déterminer s'il y a un avantage au suivi thérapeutique pharmacologique de la ribavirine par rapport à un monitorage clinique des signes et des symptômes [Chan *et al*., 2009; NIH, 2013]. Les résultats de cette étude sont attendus au printemps 2014[60].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

L'appareillage nécessaire à l'analyse par HPLC-UV est généralement déjà présent dans les laboratoires. Toutefois, l'étape d'extraction de l'échantillon, préalable à l'analyse, peut être variable selon les protocoles envisagés. Les ressources matérielles et humaines sont donc à prévoir en conséquence.

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

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

60. Information obtenue par les responsables de l'étude RIBAJUSTE.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Selon des opinions d'experts, l'analyse de la ribavirine permet d'assurer un suivi thérapeutique pharmacologique afin d'optimiser le dosage du médicament tout en évitant une toxicité hématologique. Toutefois, les preuves sont contradictoires quant à l'existence d'une corrélation entre les concentrations de ribavirine et la réponse virologique ou le développement d'une toxicité. En outre, les seuils de référence pour la valeur thérapeutique et celle de la toxicité sont variables d'une étude à l'autre et d'un individu à un autre.

7.2 Validité clinique : aucune donnée relative à la validité clinique n'est disponible.

7.3 Validité analytique

Les données de validité analytique présentent la HPLC-UV comme étant une méthode fiable (précise, exacte et reproductible) pour la quantification de la ribavirine dans le plasma, le sérum ou le sang entier. Aucune interférence significative n'a été observée avec des médicaments antirétroviraux ni avec des antiviraux ou des antibiotiques.

7.4 Recommandation d'autres organismes

Le suivi thérapeutique de la ribavirine est recommandé par des études françaises. Cependant, une revue canadienne conclut que, pour le moment, les preuves de l'utilité clinique et de la pertinence de l'analyse sont contradictoires et insuffisantes.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage de la ribavirine par chromatographie liquide à haute performance couplée à une détection aux ultraviolets (HPLC-UV)

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

  Malgré les données locales disponibles, l'utilité clinique n'est pas encore démontrée, d'autant plus que le seuil de toxicité n'est pas encore bien défini.
  Il n'y a pas des données sur la validité clinique.
  Une revue de la littérature canadienne conclut qu'il n'est pas recommandé pour le moment de faire le suivi thérapeutique de la ribavirine en raison des preuves insuffisantes et contradictoires concernant l'utilité clinique du suivi.
  L'étude RIBAJUSTE est en cours en France et ses résultats sont attendus au printemps 2014. Elle pourrait apporter des réponses quant à la validité clinique. Le MSSS sera informé, le cas échéant.

- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

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

RÉFÉRENCES

Agence de la santé publique du Canada (ASPC). L'hépatite C au Canada : Rapport de surveillance 2005-2010 [ressource électronique]. 2012. Disponible à : http://www.phac-aspc.gc.ca/sti-its-surv-epi/hepc/surv-fra.php.

Association des pharmaciens du Canada (APhC). e-CPS : Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques, 2013. Ottawa, ON : APhC; 2013.

Brochot E, Castelain S, Duverlie G, Capron D, Nguyen-Khac E, Francois C. Ribavirin monitoring in chronic hepatitis C therapy: anaemia versus efficacy. Antivir Ther 2010;15(5):687-95.

Chan AH, Partovi N, Ensom MH. The utility of therapeutic drug monitoring for ribavirin in patients with chronic hepatitis C--a critical review. Ann Pharmacother 2009;43(12):2044-63.

D'Avolio A, De Nicolo A, Simiele M, Turini S, Agnesod D, Boglione L, et al. Development and validation of a useful HPLC-UV method for quantification of total and phosphorylated-ribavirin in blood and erythrocytes of HCV+ patients. J Pharm Biomed Anal 2012;66:376-80.

Dominguez S, Ghosn J, Cassard B, Melica G, Poizot-Martin I, Solas C, et al. Erythrocyte and plasma ribavirin concentrations in the assessment of early and sustained virological responses to pegylated interferon-alpha 2a and ribavirin in patients coinfected with hepatitis C virus and HIV. J Antimicrob Chemother 2012;67(6):1449-52.

Gandia P, Trancart S, Nicot F, Barange K, Alric L, Izopet J, et al. Influence of pre-analytical conditions on plasma ribavirin concentrations. Arzneimittelforschung 2010;60(10):636-9.

Homma M, Jayewardene AL, Gambertoglio J, Aweeka F. High-performance liquid chromatographic determination of ribavirin in whole blood to assess disposition in erythrocytes. Antimicrob Agents Chemother 1999;43(11):2716-9.

Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Surveillance des maladies infectieuses chez les utilisateurs de drogue par injection. Épidémiologie du VIH de 1995 à 2010. Épidémiologie du VHC de 2003 à 2009. Montréal, Qc : INSPQ; 2012. Disponible à : http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/1569_SurvMalInfectUDI_EpidemioVIH1995-2010_EpidemioVHC2003-2010.pdf.

Loregian A, Scarpa MC, Pagni S, Parisi SG, Palu G. Measurement of ribavirin and evaluation of its stability in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2007;856(1-2):358-64.

Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Portrait des infections transmissibles sexuellement et par le sang (ITSS) au Québec. Année 2011 (et projection 2012) [ressource électronique]. Collection Analyses et surveillance, 43. Québec, Qc : MSSS; 2013. Disponible à : http://publications.msss.gouv.qc.ca/acrobat/f/documentation/2012/12-329-01W.pdf.

Morello J, Rodriguez-Novoa S, Cantillano AL, Gonzalez-Pardo G, Jimenez I, Soriano V. Measurement of ribavirin plasma concentrations by high-performance liquid chromatography using a novel solid-phase extraction method in patients treated for chronic hepatitis C. Ther Drug Monit 2007;29(6):802-6.

Myers RP, Ramji A, Bilodeau M, Wong S, Feld JJ. An update on the management of hepatitis C: consensus guidelines from the Canadian association for the study of the liver. Can J Gastroenterol 2012;26(6):359-75.

National institutes of health (NHI). RIBAJUSTE clinical trial investigating the efficacy and safety of dose adaptation of ribavirin [ressource électronique]. Clinical trials n°NCT00485342 2013. Disponible à : http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00485342?term=ribajuste&cond=%22Hepatitis+C%2C+Chronic%22&rank=1 (consulté le 29 septembre 2013).

Organisation mondiale de la Santé (OMS). Hépatite C [ressource électronique]. Aide-mémoire no164. Genève, Suisse : OMS; 2013. Disponible à : http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/fr/.

Pinette G, Cox J, Heathcote J, Moore L, Adamowski K, Riehl G. Soins primaires de l'hépatite C chronique. Guide de référence professionnel 2009. Ottawa, ON : Agence de la santé publique du Canada : Collège des médecins de famille du Canada; 2009. Disponible à : http://www.liver.ca/files/PDF/HEP_C_Guide(fr).pdf.

Sauvage FL, Stanke-Labesque F, Gagnieu MC, Jourdil JF, Babany G, Marquet P. Feasibility of ribavirin therapeutic drug monitoring in hepatitis C. Ther Drug Monit 2009;31(3):374-81.

Scottish intercollegiate guidelines network (SIGN). Management of hepatitis C. A national clinical guideline. SIGN publication 133. Edinburgh, Écosse : SIGN; 2013. Disponible à : http://www.sign.ac.uk/pdf/sign133.pdf.

Solas C, Pare M, Quaranta S, Stanke-Labesque F. Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique de la ribavirine. Thérapie 2011;66(3):221-30.

Stanke-Labesque F, Loustaud-Ratti V, Babany G, Gagnieu MC, Marquet P. Ribavirin therapeutic drug monitoring: why, when and how? Fundam Clin Pharmacol 2010;24(4):401-6.

Statistique Canada. Les taux de mortalité normalisés selon l'âge, pour certaines causes de décès et le sexe. Mise à jour le 31 mai 2012 [ressource électronique]. 2012. Disponible à : http://www.statcan.gc.ca/tables-tableaux/sum-som/l01/cst01/health30a-eng.htm.

CANCER DU SEIN ET DU PANCRÉAS – RECHERCHE DE L'ALLÈLE Q775X DU GÈNE *PALB2* PAR RFLP ET RECHERCHE DE MUTATIONS DU GÈNE *PALB2* PAR HRM ET SÉQUENÇAGE DIRECT (RÉFÉRENCE – 2013.02.006.1 ET 2013.02.006.2)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeurs : CUSM-Hôpital Général de Montréal (RFLP); Hôpital Juif de Montréal (HRM + séquençage direct)

1.2 Date de transmission de la demande au MSSS : 1er août 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom des technologies

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

High-Resolution Melting Assay (HRM) et séquençage direct

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

Le RFLP est une technique qui permet d'identifier les polymorphismes qui existent entre les individus d'une même espèce pour un gène donné (ici *PALB2*). Le RFLP tire avantage de la spécificité moléculaire des endonucléases de restriction qui coupent l'ADN à des sites précis (p. ex. l'enzyme EcoRI reconnaît la séquence GAATTC). Ainsi, le nombre de sites pour une enzyme de restriction donnée, présents à l'intérieur d'une séquence préalablement amplifiée, peut varier d'un individu à l'autre. La comparaison de la taille des fragments de restriction pour plusieurs enzymes entre des individus malades et des individus sains permet d'associer un polymorphisme à une maladie. La technique comporte les quatre étapes suivantes :

1. Amplification, par PCR, des séquences ciblées (ici un fragment de l'exon 4 de *PALB2*[61]);

61. Le demandeur a confirmé qu'il recherche une seule mutation récurrente : la mutation fondatrice canadienne-française Q775X (communications électroniques personnelles avec le Dr David S Rosenblatt et Mme Maria Galvez, 10 septembre 2013).

2. Digestion des produits d'amplification avec plusieurs enzymes de restriction;
3. Comparaison de la taille des fragments de restriction sur gel d'agarose avec les contrôles appropriés (figure 1);
4. Séquençage du fragment choisi afin de confirmer le polymorphisme.

La deuxième technique employée est l'HRM[62] (*High-resolution melting analysis*) suivie du séquençage direct des fragments dont la courbe de dénaturation diffère de celle d'une séquence témoin. L'HRM dérive de la PCR en temps réel, qui permet de déterminer, à l'aide d'un fluorofore intercalant l'ADN, la température précise à laquelle les deux brins d'ADN se dissocient complètement. Ainsi, les modifications de séquence par rapport à un fragment témoin font varier cette température (figure 2). La technique comporte les trois étapes suivantes :

1. Amplification par PCR en temps réel des séquences ciblées (ici les 13 exons de *PALB2* couverts par plusieurs fragments PCR);
2. Comparaison des températures de dénaturation de chacun des fragments générés avec celles de séquences témoins de type sauvage;
3. Séquençage direct par la méthode de Sanger uniquement pour les amplicons aberrants.

2.3 Société ou développeur : techniques « maison ».

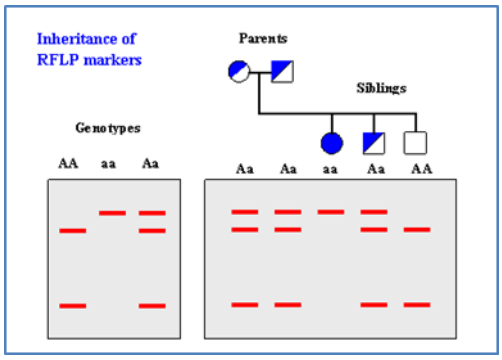
2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA) : ne s'applique pas.

2.7 Valeur pondérée : 167,00 (RFLP); 322,57 (HRM + séquençage direct).

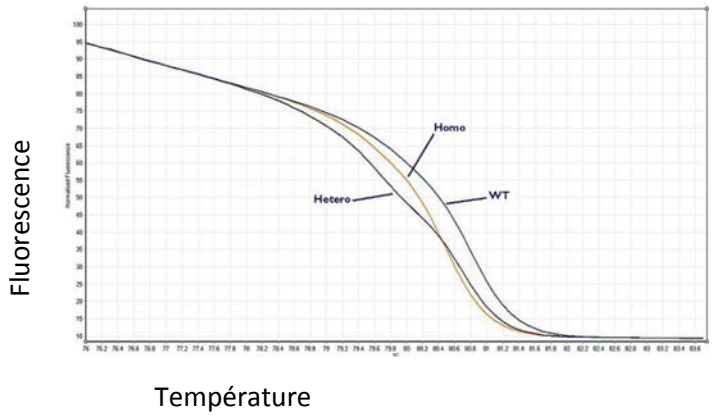
Figure 1 Analyse de variations génétiques par RFLP



Source : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/probe/doc/TechRFLP.shtml (10-09-13)

62. Le demandeur a confirmé qu'il utilise une technique de criblage initial, l'HRM, avant de procéder au séquençage direct ciblé.

Figure 2 Analyse de variations génétiques par HRM



Source : http://www.biorigami.com/?p=1586

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

3.1 Patients ciblés

Les personnes atteintes de cancer du sein (CS) ou du pancréas (CP) chez qui on soupçonne une forme héréditaire et celles qui pourraient être porteuses d'une mutation qui les rendrait à risque élevé de développer la maladie. Une altération des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, reconnus pour leur importance dans le CS et le CP héréditaires, aurait d'abord été écartée.

3.2 Description des maladies visées

Le CS est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué, tous sites et tous sexes confondus, et il représente la deuxième cause de décès par cancer chez les femmes. Les plus récentes statistiques sur le cancer au Canada prévoient 23 800 nouveaux cas et 5100 décès pour 2013 [CCSCC, 2013].

Le risque individuel de cancer héréditaire est évalué en fonction du nombre de cas dans une même famille ou de l'âge au diagnostic [Lalloo et Evans, 2012] . On estime que de 10 à 30 % des cas de CS sont attribuables à des facteurs héréditaires, mais que seulement 5 à 10 % sont associés à des mutations dont la pénétrance est élevée comme celles affectant les gènes *BRCA1* et *BRCA2* [Apostolou et Fostira, 2013]. Au Québec, 40 % des familles canadiennes-françaises (CF) comportant au moins 3 cas de CS ou de l'ovaire (CO) sont porteuses d'une mutation pathogénique dans *BRCA1* ou *BRCA2* [Tischkowitz *et al.,* 2013; Cote *et al.,* 2013; Cavallone *et al.,* 2010]. Bien qu'une quinzaine de mutations dans ces gènes aient été reconnues à ce jour, six d'entre elles sont récurrentes à l'intérieur de la population canadienne-française [Tischkowitz *et al.,* 2013]. Les porteurs d'une mutation *BRCA2* sont également à risque accru de développer d'autres types de cancers comme le CS chez l'homme, le cancer de la prostate, le cancer du pancréas et le mélanome [BCLC, 1999]. Les personnes porteuses d'une mutation hétérozygote dans *BRCA1* ou *BRCA2* ou dans d'autres gènes classés à risque accru comme *TP53*, *PTEN*, *STK11* et *CDH1* possèdent une probabilité de CS à vie cinq fois plus élevée que les personnes qui ne portent pas de mutation dans ces gènes [Maxwell et Domchek, 2013].

D'autres gènes ont été associés à un risque à vie modéré de CS variant entre 2 et 4 fois plus élevé, notamment pour les gènes *ATM*, *BRIP1*, *CHK2* et *PALB2* [Rahman *et al.,* 2007; Seal *et al.,*, 2006; Meijers-Heijboer *et al.,* 2002; Izatt et *et al.,* 1999].

Concernant le CP, 4 700 nouveaux cas sont prévus pour 2013, soit environ 2,5 % de tous les diagnostics de cancer pour la même période. Le CP touche les hommes et les femmes dans des proportions similaires. En ce qui concerne les décès, le CP arrive en quatrième place, autant pour les hommes que pour les femmes, et il compte pour environ 6 % de tous les décès par cancer prévus pour 2013. Le taux de survie à 5 ans pour le CP est parmi les plus faibles, soit 8 % [CCSCC, 2013].

Une prédisposition héréditaire existe dans trois situations cliniques différentes : i) un syndrome héréditaire associé prédisposant au CP, ii) une pancréatite héréditaire, et iii) la présence d'une mutation familiale précise (tableau 1).

Tableau 1 Prédispositions héréditaires au cancer du pancréas

SITUATION CLINIQUE	GÈNE	RISQUE CUMULATIF DE CP À 70 ANS
SYNDROMES HÉRÉDITAIRES DE PRÉDISPOSITION		
Peutz–Jeghers	LKB1	36 %
Mélanomes multiples atypiques (FAMMM)	CDKN2A, CDK4	17 %
Cancer héréditaire du sein et de l'ovaire	BRCA1, BRCA2	3-8 %
Li–Fraumeni	TP53	< 5 %
Lynch	MLH1, MSH2	< 5 %
Polypose adénomateuse familiale	APC	< 5 %
PANCRÉATITE CHRONIQUE		
Pancréatite héréditaire	PRSS1, SPINK1	40 %
Fibrose kystique	CFTR	< 5 %
CANCER DU PANCRÉAS FAMILIAL		
Cancer du pancréas familial	BRCA2, PALB2, ATM	2 PPD : 8-12 % > 3 PPD : 16-38 %

CP : cancer du pancréas; FAMMM : familial atypical multiple mole melanoma; PPD : parent au premier degré.
Source : [Bartsch *et al.,* 2012]

PALB2 (*Partner and localizer of BRCA2*), comme son nom le suggère, interagit directement avec *BRCA2* et contribue au bon fonctionnement de la recombinaison homologue et au maintien de la stabilité du génome [Buisson et Masson, 2013]. *PALB2* est localisé sur le chromosome 16p12.1, contient 13 exons (38 000 paires de bases) et code pour une protéine de 1186 acides aminés. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement de la protéine *PALB2* (très souvent des mutations par troncation) est à l'origine d'une prédisposition familiale au CS et au CP, alors que les mutations homozygotes causent l'anémie de Fanconi [Buisson et Masson, 2013; Tischkowitz *et al.,* 2013].

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Deux techniques indirectes sont présentées ici afin de mettre en évidence des variantes alléliques pathogéniques de *PALB2* sans procéder au séquençage direct du gène en entier. Le RFLP permet de rechercher une mutation précise (génotypage) et le HRM permet de réaliser un criblage de toute la séquence afin de procéder à un séquençage ciblé (si nécessaire). Le RFLP est une méthode bien établie qui a été grandement utilisée depuis la découverte des enzymes de restriction et elle est probablement la plus simple des méthodes pour trouver une mutation connue et récurrente [van der Heiden *et al.,* 2004] . Le séquençage direct permet de déterminer l'ensemble de toutes les variations de la séquence d'un gène et il est considéré comme l'étalon or [Gerhardus *et al.,* 2007].

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Le RFLP et le HRM remplacent le séquençage direct complet de toutes les séquences codantes de *PALB2*.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

La revue de la littérature a permis de recenser 40 articles scientifiques concernant l'évaluation du statut du gène *PALB2* dans le contexte d'un CS (32) ou d'un CP héréditaire (8). Deux études ont utilisé la technique du RFLP afin de déterminer la récurrence de certains variantes de *PALB2* et 8 études ont d'abord procédé à une préanalyse par HRM afin d'éviter le séquençage complet (tableau 3). D'autres techniques de criblage ont également été utilisées comme le dHPLC (7 études), le CSGE (2 études) ou le SSCP (1 étude[63]).
Le séquençage direct complet de *PALB2* sans autre option a été utilisé dans 19 études. D'autres méthodes ont été utilisées et certaines études ont eu recours à plusieurs de celles-ci. Le tableau 2 présente un bref résumé de l'algorithme diagnostique des études repérées.

Fréquence d'identification et association au cancer

La fréquence d'identification d'une mutation pathogénique de *PALB2* varie selon l'origine ethnique, la région géographique et des critères descriptifs du risque héréditaire. En effet, la récurrence de certaines mutations est associée à l'origine ethnique ou à la région géographique de la personne atteinte. Par exemple, les mutations L531fsX et Q775X sont toutes deux des mutations fondatrices décrites chez des familles finnoises et canadiennes-françaises, respectivement [Erkko *et al.,* 2007; Foulkes *et al.,* 2007] . Gunnarsson et ses collaborateurs ont testé en Islande près de 800 cas de CS dont plusieurs répondaient aux critères d'une origine héréditaire et ils n'ont trouvé aucun cas en association avec la mutation finnoise L531fsX [Gunnarsson *et al.,* 2008].

---

63. *DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) :* chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante; *SSCP* (sigle de l'anglais *Single Strand Conformation Polymorphism*) : polymorphisme de conformation des simples brins.

En comparant à une population témoin saine et dans un contexte où les cas familiaux ne présentaient pas de mutations dans *BRCA1* et *BRCA2*, la fréquence d'identification d'une mutation pathogénique de *PALB2* varie entre 0 et 3 %. Quelques études ont démontré une association positive entre la fréquence d'identification d'une variante de *PALB2* et la présence d'un CS ou d'un CP (tableau 2).

Tableau 2 Association positive entre la fréquence d'identification d'une variante de *PALB2* et la présence d'un cancer du sein ou du pancréas

	VARIANTE DE *PALB2*	CS OU CP	TÉMOIN	P
Dansonka-Mieszkowska *et al.*, 2010	R170fsX	4/648 (0,6 %)	1/1310 (0,08 %)	0,044
Cao *et al.*, 2009	Q251X, Q350fsX	3/360 (0,8 %)	0/864 (0 %)	0,025
Erkko *et al.*, 2007	L531fsX	3/113 (2,7 %)	6/2501 (0,6 %)	0,005
Foulkes *et al.*, 2007	Q775X	5/406 (0,7 %)	0/6442 (0 %)	0,003
Rahman *et al.*, 2007	G796X, A995fsX, N1039fsX, W1038X, Y1183X	10/923 (1,1 %)	0/1084 (0 %)	0,0004
Southey *et al.*, 2010	W1038X	5/1 403 (0,4 %)	0/764 (0 %)	< 0,0001
Jones *et al.*, 2009*	R414X, R170fsX, N1039fsX	3/96 CP (3,7 %)	0/1084 (0 %)	0,0006

* Seule étude sur le cancer du pancréas. Les autres études concernent le cancer du sein.

Une étude a également montré une association entre l'incidence d'un deuxième cancer du sein et la présence d'une mutation délétère dans *PALB2*; p = 0,04 [Tischkowitz *et al.,* 2012].

Toutes les mutations pathogéniques associées au CS ou au CP de façon statistiquement significative prédisent une troncation de la protéine. Deux allèles pathogéniques ont été identifiés par la technique MLPA[64] utilisée pour mettre en évidence des délétions ou duplications génomiques : une relativement au CS [Blanco *et al.,* 2012] et une relativement au CP [Tischkowitz *et al.,* 2009]. Aucune variante faux sens (changement d'un seul acide aminé sur une protéine pleine longueur) de *PALB2* n'a pu être associée statistiquement à la présence d'un CS (tableau 3). On constate également au tableau 4 que des mutations pathogéniques de troncation ont été décelées sur toute la longueur de la protéine.

Risque relatif, risque cumulatif et pénétrance des allèles

Les gènes qui prédisposent au cancer peuvent être catégorisés en fonction du risque relatif de développer la maladie qui leur est associé. Pour évaluer le risque de développer la maladie en fonction du temps, l'histoire familiale de même que le suivi médical de plusieurs membres d'une même famille, porteurs ou non, atteints ou non, sont nécessaires. Malgré une prévalence rare des cas de cancer (sein ou pancréas) présentant une mutation de *PALB2* dans un contexte de BRCA1 ou 2 sauvage, quelques études ont rapporté un risque relatif de cancer du sein pour :

64. MLPA : *multiplex ligation-dependent probe amplification* ou recherche de délétions ou de duplications d'exons.

- 5 mutations (G796X, A995fsX, N1039fsX, W1038X, Y1183X) 10 cas, modélisation du risque : 2,3 fois (IC 95 : 1,4 – 3,9); p = 0,0025 [Rahman *et al.,* 2007] .
- mutation particulière L531fsX histoire familiale :
  - rapport de cotes (RC) : 3,9 (IC 95 : 1,5 – 12,1); p = 0,003 [Erkko *et al*., 2007] ;
  - RC : 11 (2,7 – 97,8); p < 0,0001 [Heikkinen *et al.,* 2009].
- risque de développer un cancer du sein controlatéral en présence d'une mutation délétère dans *PALB2*; RC : 5,3 (IC 95 : 1,8 – 13,2); p = 0,04 [Tischkowitz *et al.,* 2012].
- risque relatif (RR) qu'un cas de CS avec *PALB2* muté (vs non muté) ait :
  - un parent atteint du cancer du pancréas : RR : 5,9 (IC 95 : 2,4 – 14,6); p = 0,002 [Casadei *et al*., 2011] ;
  - un parent masculin atteint d'un cancer du sein : RC : 4,1 (IC 95 : 2,3 – 7,6); p = 0,0003 [Casadei *et al*., 2011] .

En raison du faible nombre d'études qui ont inclus des cas de CS ou de CP non sélectionnés, l'estimation du risque cumulatif selon l'âge des personnes (pénétrance) est limitée.

3 études ont été repérées :

- R414X : 24 % (IC 95 : 17 % - 77 %) CP à 58 ans [Slater *et al.,* 2010] ;
- L531fsX : 40 % (IC 95 : 17 % - 77 %) CS à 70 ans; calculé à partir de l'histoire familiale des cas non sélectionnés pour l'âge [Erkko *et al.,* 2007];
- W1038X : 91 % (IC 95 : 44 % - 100 %) CS à 70 ans; calculé à partir de l'histoire familiale des cas non sélectionnés pour l'âge [Southey *et al.,* 2010] .

L'ensemble des données disponibles à ce jour concernant la capacité de prédire la survenue d'un cancer du sein ou du pancréas pour les cas de porteurs d'une mutation pathogénique connue de *PALB2* permettent d'offrir un suivi plus personnalisé aux personnes atteintes de même qu'une surveillance accrue aux personnes à risque [Southey *et al.,* 2013]. Les thérapies potentielles incluent celles qui ciblent les désordres du système de recombinaison homologue [Buisson *et al.,* 2010]. De plus, comme certains allèles de *PALB2* ont été associés à un risque accru de récidive controlatérale du CS [Tischkowitz *et al.,* 2012], une chirurgie plus radicale ou une chimiothérapie à fortes doses pourraient être envisagées pour les personnes porteuses identifiées. Toutefois, les stratégies thérapeutiques visant les personnes atteintes et porteuses d'une mutation de *PALB2* sont toujours en cours d'étude. Des données prometteuses sont disponibles concernant les inhibiteurs PARP (*poly(ADP ribose) polymerase*) dans le CS [Buisson *et al.,* 2010] et la mitomycine C dans le CP [Villarroel *et al.,* 2011] .

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

ÉTUDE	DÉFINITION DU RISQUE HÉRÉDITAIRE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE PALB2			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION	ALTÉRATION FAUX SENS (ALLÈLE < 1 % SEULEMENT)	
AFRIQUE DU SUD							
Sluiter, 2009	CS sporadiques 35 % histoire familiale	48	40 ans (29-45)	SSCP + séq.	V233fsX; (2,1 %)	0 cas	s. o.
	Personnes en santé	75	s. o.		0 cas	0 cas	
ALLEMAGNE							
Schneider 2011	CP familiaux CP + CS (28/94 fam.)	222	63 ans (31-91)	ND	R414X; R170fsX (4,9 %) Slater *et al* 2010	ND	s. o.
Bogdanova, 2011	CS synchrone (n = 70) CS métachrone (n = 88) 27 % histoire familiale	70 88	59 ans (29-83) 51 ans (27-72)	HRM + séq. PCR allèle spécifique	R170fsX (0,3 %) E545X (0,3 %)	K18R; V932M (0,6 %) L939W (0,3 %)	s. o.
Hellebrand, 2011	CS ou CO familiaux	770	ND	HRM + dHPLC ou séquençage direct complet	48+1G >C; Q60RfsX; S168X; R414X; D715EfsX; R753XQ988X (0,9 %)	L939W (0,4 %);G1043A; L1143P (0,1 %)	s. o.
	Femmes en santé	450	50+ ans		0 cas	L939W (0,2 %)	
AUSTRALIE							
Southey, 2010	Registre national de CS familiaux (cas) Témoins non atteints	695 708 764	< 40 ans > 40 ans ND	HRM + séq. PCR allèle spécifique	2/695 (0,3 %) 3/708 (0,4 %) 0/764 (0 %)	s. o.	W1038X et CS : HR : 30,1; p < 0,0001 Pénétrance < 50 ans (49 %) Pénétrance < 70 ans (91 %)
	CS familiaux	779	ND		W1038X (1,0 %)	s. o.	s. o.
Wong 2011	CS ou CO familiaux	70	41 ans (34-48)	Séquençage direct complet	G66X (1,4 %) W1038X (1,4 %)	0 cas	s. o.
Teo 2013	Série de cas haut risque sélectionnés	747	ND	HRM + séq.	G66X; E650fsX; A995fsX (0,1 %); W1038X (0,9 %)	K30N; L32V; D219G; S319Y; G492V; P864S (0,1 %); G998E (0,9 %)	s. o.

ÉTUDE	DÉFINITION DU RISQUE HÉRÉDITAIRE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE PALB2			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION	ALTÉRATION FAUX SENS (ALLÈLE < 1 % SEULEMENT)	
CANADA							
Foulkes, 2007	CS < 50 ans CS/CO familiaux	50	47 ans (24-65)	Séquençage direct complet et MLPA	Q775X (2,0 %)	0 cas	Q775X et CS; p = 0,003 G115V ou I76 et CS (ns)
	CS < 50 ans	356	43 ans (24-49)	PCR-RFLP + séq.	Q775X (0,56 %)	G115V (0,28 %); I76V (0%)	
	Témoins	6442	s. o.		Q775X (0 %)	ND	
Tischkowitz, 2007	Score BRCAPRO > 0.1*	48	ND	Séquençage direct complet	C77fsX99 (2,1 %)	Variations identifiées par Rahman 2007	ND
Tischkowitz 2009	CP familiaux ≥ 1 parent CS (21)	101	61 ans	HRM + séq. ou séquençage direct complet. MLPA	Délétion exons 12 et 13 (0,4 %)	S285L; P864S; T911I (0,4 %); L939W (0,8 %)	s. o.
	CP sporadique ≥ 1 parent CS (39)	153	49 ans (31-85)				
Grant 2013	CP familiaux	47	ND	Séquençage exome (sur puce)	R1086X (2,1 %)	s. o.	s. o.
Ghadirian, 2009	CS < 50 ans	564	ND	PCR allèle spécifique	Q775X (0,71 %)	s. o.	ND
	Témoins	6433	s. o.		0 cas	s. o.	
Guénard, 2010	CS/CO familiaux	96	49 ans (31-74)	Séquençage direct complet et MLPA	0 cas	D219G, V932M, L939W (0,5 %)	Variants identifiés et CS (ns)
	Femmes en santé	96	49 ans (30-72)		0 cas	0 cas	
Tischkowitz 2013	CS ≤ 65 ans CS/CO familiaux	71	46 ans (25-65)	PCR allèle spécifique	Q775X (1,4 %)	s. o.	ND
CHINE							
Cao, 2009	CS/CO familiaux	360	ND	dHPLC + séq.	Q251X (0,6 %) Q350fsX (0,3%)	V425M; G998E; K1041T; L1150P (0,3 %); Q559R; I813T (0,6 %)	Q251X ou Q350fsX et CS; p = 0,025
	Femmes sans CS	864			0 cas	s. o.	s. o.
CORÉE DU SUD							
Kim 2010	CS < 35 ans CS/CO familiaux	300	41 ans (31-51)	Extension d'amorce**	L531fsX et C77fsX 0 cas	s. o.	s. o.

ÉTUDE	DÉFINITION DU RISQUE HÉRÉDITAIRE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE PALB2			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION	ALTÉRATION FAUX SENS (ALLÈLE < 1 % SEULEMENT)	
ESPAGNE							
Garcia, 2009	CS/CO en bas âge ou familiaux	95	ND	dHPLC + séq. PCR allèle spécifique	K353IfsX (0,1 %)	P210L (0,4 %); V932M; L939W (1,0 %)	s. o.
		702	ND				
Blanco, 2012	CS/CO familiaux et ≥ 1 cas CSH.	43F 88H	55 ans 58 ans	Séquençage direct complet et MLPA	Délétion exon 7 – 11 (0,8 %)	P207R; S955R (0,4 %); P864S (0,8 %)	s. o.
EUROPE (ALL, UK, LET, ITA, GRE, HON ET ESP)							
Slater 2010	CP familiaux	81	ND	Séquençage direct complet	R414X; R170fsX; N1039fsX (3,7 %)	s. o.	R414X Pénétrance < 58 ans (24 %)
ÉTATS-UNIS							
Jones 2009	CP familiaux	96	67 ans	Séquençage direct complet	S58fsX; N1039fsX; R1086X (3,1 %)	s. o.	Troncation et CP; p = 0,0006
	Témoins	1084	48 ans		0 cas		
Casadei, 2011	CS familiaux JA (172); AFA (2/18); BRT (6/225); FRN (2/25); ALL (20/257); IRL (1/116); ECO (2/9)	1144	s. o.	Séquençage direct complet PCR allèle spécifique ou PCR-RFLP	S58fsX; G796X; G853fsX; W906X; K974fsX (0,1 %); Q66X; Y551X; P1009fsX (0,2 %); R414X; S896fsX (0,3 %); L253fsX (0,4 %); p.999-1038 del (0,5 %); R170fsX (0,7 %)	s. o.	RR (PALB2 tronqué vs non muté) : CS 55 ans : 2,3; p = ? 1 cas CSH : 4,1; p = 0,0003 1 cas CP : 5,9; p = 0,002 ≥ 6 cas : 1,6; p = 0,04
Ding, 2011a	CS ≤ 55 ans 73 % histoire familiale	139	45 ans (23-55)	dHPLC + séq. ou séquençage direct complet	0 cas	P8L; T300I (0,4 %); G759K (0,7 %)	Variantes identifiées et CS (ns)
Ding, 2011b	CSH 48 % histoire familiale 18 cas mutés BRCA2.	115	60 ans (28-93)	Séquençage direct complet	Y1183X (0,5 %)	Y28C; V932M (0,5 %)	s. o.
Tischkowitz *et al.*, 2012	CS < 55 ans <u>et</u> 2e CS 1 an+	559	47 ans (43-51)	HRM + séq.	5 cas (0,9%) Voir tableau 3	128 cas	Mutation délétère et incidence d'un 2e CS; p = 0,04
	CS < 55 ans <u>et</u> 2e CS < 1 an	565	47 ans (43-51)		0 cas	116 cas	

ÉTUDE	DÉFINITION DU RISQUE HÉRÉDITAIRE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE PALB2			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION	ALTÉRATION FAUX SENS (ALLÈLE < 1 % SEULEMENT)	
Zheng, 2012	CS/CO familiaux	133	ND	Séquençage direct complet	S254IfsX (0,2 %) T494LfsX (0,2 %) F1016LfsX (0,2 %)	L18R (0,4 %); D134N; S951P; V1019A (0,2 %); L337S; E672Q; P864S;G998E (0,5%)	s. o.
	CS sporadiques	146					
	Femmes sans cancers	262			0 cas	L337S; G998E (0,4 %)	
FINLANDE							
Erkko, 2007-2008	CS/CO familiaux	113	58 ans (23-95)	CSGE + séq. PCR allèle spécifique	L531fsX (2,7 %)	G1145R (0,9 %)	L531fsX : OR (vs ctrl) : 11; p = 0,005 Autres mutations : ns
	CS sporadiques	1918			L531fsX (0,9 %)	s. o.	L531fsX : OR (vs ctrl) : 3,9; p = 0,003 Pénétrance < 70 ans (40 %)
	Contrôles sans cancer	2501	42 ans (18-65)		L531fsX (0,2 %)	0 cas	s. o.
Pylkas, 2008	CS/CO familiaux	61	ND	MLPA	0 cas	s. o.	s. o.
Heikkinen, 2009	CS familiaux	928	55 ans (22-95)	CSGE + séq. PCR allèle spécifique	L531fsX (2,0 %) OR (vs ctrl) : 11; p < 0,0001	s. o.	L531fsX : OR (vs fam) ER- : 3.3; p = 0,0008 PR- : 2.6; p = 0,0095 Triple - : 6.3; p < 0,0001 grades < 2 : 0,4; p = 0,0027
	CS sporadiques	1266	58 ans (28-96)		L531fsX (0,6 %) OR (vs ctrl) : 3,4; ns	s. o.	L531fsX : OR (vs spor.) Triple - : 11.6; p < 0,0001 grades < 2 : 0,34; p = 0,0017
	Femmes saines	1077	s. o.		L531fsX (0,2 %)	s. o.	s. o.
Kuusisto, 2011	CS/CO en bas âge ou familiaux	82	ND	HRM + séq. ou séquençage direct complet	0 cas	0 cas	Variants identifiés et CS : ns
	Femmes saines	384	ND		0 cas	0 cas	s. o.

ÉTUDE	DÉFINITION DU RISQUE HÉRÉDITAIRE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE PALB2			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION	ALTÉRATION FAUX SENS (ALLÈLE < 1 % SEULEMENT)	
PAYS-BAS							
Harinck, 2012	CP familiaux	28	61 ans (± 11,5)	séquençage direct complet et MLPA	0 cas	s. o.	s. o.
	CS familiaux avec CP	33	42 ans (± 9,5)				
IRLANDE							
McInerney, 2010	CS en bas âge ou familiaux	192	42 ans (25-45)	Extension d'amorce**	Mutations UK 0 cas	s. o.	s. o.
ISLANDE							
Gunnarsson, 2008	CS/CO familiaux	111	55 ans (29-88)	PCR allèle spécifique	L531fsX 0 cas	s. o.	s. o.
	CS sporadiques	638	ND				
ITALIE							
Papi, 2010	Score BRCAPRO > 0.05*	132	s. o.	dHPLC + séq. MLPA	R753X (0,8 %)	D219G; P864S;V925L (0,8 %)	s. o.
	Témoins	300			0 cas	s. o.	
Balia, 2010	CS/CO familiaux	95	s. o.	séquençage direct complet	L451fsX (1,1 %)	0 cas	s. o.
	CS sporadiques	217	s. o.	PSQ	L451fsX 0 cas	s. o.	
	Femmes sans cancer	50	45-87	Extension d'amorce**	s. o.	Y334C (0,5 %); L1143H (0 %)	
Silvestri, 2010	CS homme 14 % histoire familiale	97	64 ans (35-90)	Séquençage direct complet	0 cas	I1180T (1 %)	s. o.
	Hommes en santé	90	adultes		0 cas	I1180T (0 %)	
Peterlongo 2011	CS familiaux avec CP	62	ND	dHPLC + séq.	G1166fsX; L24fsX; Q343X (4,8 %)	s. o.	s. o.
Ghiorzo 2012	CP familiaux avec CS ou CO	30	59 ans (29-83)	Séquençage direct complet et MLPA	0 cas	s. o.	s. o.

ÉTUDE	DÉFINITION DU RISQUE HÉRÉDITAIRE	N	ÂGE MOYEN	ANALYSE MUTATIONNELLE DE PALB2			ANALYSE STATISTIQUE
				MÉTHODE	TRONCATION	ALTÉRATION FAUX SENS (ALLÈLE < 1 % SEULEMENT)	
POLOGNE							
Dansonka-Mieszkowska, 2010	CS/CO familiaux	648	48 ans (24-85)	dHLPC + séq.	R170fsX (0,6 %)	s. o.	R170fsX et CS; p = 0,044
	CS sporadiques	334	50 ans (21-81)		0 cas		s. o.
	Femmes sans cancer	1310	32 ans (18-75)		R170fsX (0,08 %)		s. o.
ROYAUME-UNI							
Rahman, 2007	CS familiaux	923	49 ans	Séquençage direct complet	10 cas (1,1 %) Voir tableau 3	Plusieurs mutations faux sens	Troncation et CS; p = 0,0004. Risque de CS (vs non muté) OR : 2,3; p = 0,0025
	Témoins	1084	48 ans		0 cas		
RUSSIE							
Bogdanova, 2011	CS synchrone (n = 16) CS métachrone (n = 29) 44 % histoire familiale	16 29	53 ans (30-77) 47 ans (25-77)	HRM + séq. PCR allèle spécifique	R414X (1,1 %) Q921X (1,1 %)	0 cas	s. o.

Abréviations : CCI : carcinome canalaire infiltrant, CF : canadienne-française, CO : cancer de l'ovaire, CS : cancer du sein, CSGE : *Conformation Sensitive Gel Electrophoresis*[65]; CSH : cancer du sein chez l'homme; FAM. : familial; HRM : *High-resolution melting* (comparaison des courbes de dénaturation thermique des produits d'amplification); MLPA : *Multiplex-ligation-dependent probe amplification* (recherche de délétions ou de duplications d'exons); ND : non disponible; OR : Odds-ratio; PCR : *Polymerase chain reaction*; s. o. : sans objet; Séq. : séquençage.

* BRCAPRO est un programme informatique qui permet de calculer la probabilité individuelle d'être porteur d'une mutation délétère de *BRCA1* et/ou de *BRCA2* sur la base de l'histoire personnelle et familiale (1er et 2e degré) de cancer du sein et de l'ovaire [Parmigiani *et al.,* 1998].

**Extension d'amorce (hybridation d'une amorce en amont de la position à vérifier et mini réaction de séquençage afin de déterminer le nucléotide présent à la position d'intérêt).

65. Technique qui permet de détecter les mutations par la présence de mésappariements qui influent sur la mobilité de l'ADN double brin hétéroduplexe dans des conditions précises d'électrophorèse.

Tableau 4 Allèles pathogéniques de *PALB2* identifiés dans des cas de cancer du sein ou du pancréas héréditaires

ALLÈLE PALB2	ORIGINE	ÂGE CAS INDEX (ANS)	TYPE DE CANCER	STATUT ER, PR, HER2	AUTRES CANCERS CAS INDEX	HISTOIRE FAMILIALE NOMBRE ET ÂGE	RÉFÉRENCE
L24fsX	ITA	56	CS	s. o.	non	2 CS < 50; 1 CS bi 70; 1 CP 62	Peterlongo 2011
S58fsX	ÉU	60	CP	s. o.	non	3 CS 40, 50, 80 1 CP 40	Jones 2009
Q60RfsX	ALL	46	CCI	++-	non, dcd 51	1 CS+CO 60, 70	Hellebrand 2011
Q66X	AUS	43	CCI	++ND	ND	7 CS	Teo 2013
C77fsX	GBT	39	CCI	++ND	2 CCI 42, 60	2 CS 56, 64	Tischkowitz 2007
S168X	ALL	39	CCIS	--ND	non, dcd 45	1 CS 61	Hellebrand 2011
R170fsX	POL	53	CCI	---	non	2 CS 68, 74	Dansonka-Mieszkowska 2010
		47	Med	---	non	1 CS 36	
		44	CCI bi	++-	non	ND	
		62	CCi	---	non	1 CS 42	
	ALL	63	LOB +CCI	++ND	non	non	Bogdanova 2011
	EUR	58	CP	s. o.	non	1 CP 68, 1CS 65	Slater 2010
V233fsX	GBT	42	CCI	---	non	non	Sluiter 2009
S254IfsX	AFA	45	CCI	+++/-	non	1 CS 50	Zheng 2012
Q251X	CHN	34	CCI	+++	non	non	Cao 2009
		32	CCI	+++	non	non	
Q343fsX	ITA	33	CS bi	ND	CS 49	4 CS 47 (2), 77, ND 1 CP 73	Peterlongo 2011
Q350fsX	CHN	44	LOB	-++	non	1 CS 44	Cao 2009
K353IfsX	ESP	54	CCI	---	non	1 CS 49; 1 CSH 78	Garcia 2009
R414X	EUR	70	CP	s. o.	non	3 CP 39, 54, 65 2 CS 39, 53	Slater 2010
	RUS	66	CCI	++ND	Paget 70	1 CS ND	Bogdanova 2011
	ALL	43	CCSI	--ND	non, dcd 60	2 CS 64, 75 CS bi 42 + CO 50	Hellebrand 2011
L451fsX	ITA	52	CCI	++ND	non	1 CS 39	Balia 2010
T494LfsX	AFA	36	CCI	++ND	non	4 CS ≤ 50, 1 CS 68 1 CS+CO 58+72	Zheng 2012

ALLÈLE PALB2	ORIGINE	ÂGE CAS INDEX (ANS)	TYPE DE CANCER	STATUT ER, PR, HER2	AUTRES CANCERS CAS INDEX	HISTOIRE FAMILIALE NOMBRE ET ÂGE	RÉFÉRENCE
L531fsX	FIN	41	CS	++-	non	1 CS 80	Erkko 2007
		44	CS	---	non	1 CS 56	
		56	CS	+++	non	1 CS 40	
		48	CS	++-	non	2 CS 39, 46	
		63	CS bi	+++	CS 64	2 CS 44, 73	
		39	CS	++-	non	1 CS 69	
		41	CS	++-	non	1 CS 70	
L531CfsX	ND	47	CCI Med	--ND	ND	2 CS 63, 70	Tischkowitz 2012
E545X	ALL	83	Bi, CCI	--ND	non	non	Bogdanova 2011
E650fsX	AUS	42	LOB	++-	ND	7 CS ND	Teo 2013
D715EfsX	ALL	44	CCI	++ND	non, dcd 58	2 CS 38, 58 1 CO 46	Hellebrand 2011
R753X	ITA	60	CS	ND	non	4 CS 31, 46, 60, 64	Papi 2010
	ALL	33	CS	--ND	non, dcd 35	2 CS 43, 63	Hellebrand 2011
Q775X	CNF	54	CCI	++-	ND	6 CS (3 ≤ 50)	Foulkes 2007
	CNF	49	CCI	---	CCIS 49	2 CS ≤ 60 ans	Foulkes 2007
	CNF	36	CCI	---	ND	1 CS 62	Foulkes 2007
	CNF	45	CCI	ND	ND	6 CS (tous ≤ 55)	Foulkes 2007
	CNF	39	CCI	ND	CCI 42	4 CS 41, 52, 77, 82	Tischkowitz 2013
G796X	GBT	32	CS	ND	non	2 CS 51, 72	Rahman 2007
T841fsX	ND	29	CCI	++ND	CLI bi 46	7 CS (tous > 20)	Tischkowitz 2007
Q921X	RUS	48	Bi, CCI	+-ND	non	1 CS ND	Bogdanova 2011
Q988X	ALL	45 47[1]	CCIS CS	ND --ND	non, dcd 50 non, dcd 50	1 CS bi 57 et 60 1 CS 66	Hellebrand 2011
A995fsX	AUS	45	CCI	ND	ND	2 CS bi et 3 CS	Teo 2013
	GBT	51	CS	ND	non	2 CS 49, ND 1 CSH 37	Rahman 2007
F1016LfsX	AFA	60	CCI	--ND	non, dcd 64	non	Zheng 2012
N1039fsX	EUR	ND	CP	s. o.	ND	2 CP 56, 64 2 CS 56, 60	Slater 2010

ALLÈLE PALB2	ORIGINE	ÂGE CAS INDEX (ANS)	TYPE DE CANCER	STATUT ER, PR, HER2	AUTRES CANCERS CAS INDEX	HISTOIRE FAMILIALE NOMBRE ET ÂGE	RÉFÉRENCE
	ÉU	60	CP	s. o.	Prostate 60	1CP 70; 1CS 60; 1 CS+CP 50, 70	Jones 2009
	GBT	28	CS	ND	non	2 CS 29, ?	Rahman 2007
		50	CS	ND	non	2 CS 55, 57	
		55	CS	ND	non	3 CS 50, 59, 67	
W1038X	ND	46	CCI	++ND	non	1 CS 55	Tischkowitz 2012
	AUS	37	CCI	ND	non	5 CS 40-55; 2 CS > 65; 1 CS bi 36 + 45	Southey 2010
		27	CCI	ND	ND	4 CS 34, 35, 50, 75	
	GBT	43	CS	ND	non	3 CS 56 (2), 70	Rahman 2007
		49	CS	ND	non	4 CS 35, 61, 81, 83	
R1086X	CAN	74	CP	s. o.	non	2 CP 59, 69	Grant 2013
G1166fsX	ITA	39	CS	ND	non	3 CS 48-60; 1 CS bi 39 et 44; 1 CP 62	Peterlongo 2011
Y1183X	ND	53	CCI	++ND	ND	2 CS 65, 68	Tischkowitz 2012
	GBT	42	CS	ND	non	3 CS 33 (2), 38	Rahman 2007
		56	CS	ND	Mélanome 47	3 CS 25, 28, 63	
		40	CS	ND	non	3 CS 32, 47, 54	
48 + 1G > C	ALL	63	CS	++-	non, dcd 70	2 CS 64, 90	Hellebrand 2011
2835 - 1G > C	ND	46	CCI	--ND	ND	1 CS 78	Tischkowitz 2012
3202 + 1G > C	ND	38	CLI	++ND	ND	2 CS 75, 78	Tischkowitz 2012
Δ ex. 7-11	ESP	70	CS bi	ND	ND	3 CS > 55;1 CSH 75	Blanco 2012
Δ ex. 12-13	CAN	61	CP	s. o.	CS 47	1 CP 83	Tischkowitz 2009

Abréviations : AFA : afro-américain; ALL : Allemagne; AUS : Australie; bi : bilatérale; CAN : Canada; CCI : carcinome canalaire infiltrant; CHN : Chine; CNF : canadien-français; CLI : carcinome lobulaire infiltrant; CLIS : carcinome lobulaire in situ; CO : cancer de l'ovaire; CP : cancer du pancréas; CS : cancer du sein; CSH : cancer du sein chez l'homme; dcd : décédé; ESP : Espagne; ÉU : États-Unis; EUR : Europe; FIN : Finlande; GBT : Grande-Bretagne; ITA : Italie; Med : médullaire; ND : non disponible; POL : Pologne; RUS : Russie; s. o.: sans objet.

1 Sœurs jumelles.

5.2 Validité clinique

Le concept de validité clinique repose sur la comparaison des résultats du test avec la présence ou non d'un cancer, c'est-à-dire l'expression clinique d'une mutation de *PALB2*.

Dans le cas des analyses moléculaires présentées ici, l'origine ethnique, le nombre de cas atteints dans une même famille et les méthodes employées pour sélectionner les cas sont trop différents pour extrapoler des données classiques de validité clinique, qui reposent davantage sur la validité analytique des méthodes [AÉTMIS, 2006]. De plus, la distribution des mutations sur toute la longueur de la séquence de *PALB2* de même que la nature de celles-ci (troncation, délétion, faux sens, etc.) font en sorte que chacune des mutations devrait être étudiée indépendamment. Toutefois, tel que présenté à la section précédente, l'association clinique entre certaines mutations récurrentes à l'intérieur de populations précises est bien documentée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

Aucune étude visant directement *PALB2* n'a été repérée concernant la validité technique du RFLP ou du HRM. Le RFLP est une méthode de génotypage établie. Le HRM est une méthode nouvelle qui tend à démontrer certains avantages par rapport au RFLP (tableau 4). Les deux méthodes sont largement utilisées relativement à l'étude d'autres gènes associés au cancer du sein comme *BRCA1/2* [Berzina *et al.,* 2013].

Tableau 5 Exemples d'études ayant comparé le HRM et le RFLP comme méthodes de génotypage

ÉTUDE	CONTEXTE	GÈNE (ALLÈLE)	COMPARAISON HRM VS RFLP		
			MÉTHODE EXPÉRIMENTALE	RÉFÉRENCE	CONCLUSION
Ono, 2012	Sensibilité et limite de détection dans un mélange complexe	JAK2 (V617F)	RFLP HRM	s. o.	Sensibilité et limite de détection comparables (1 à 5 %). Spécificité meilleure pour RFLP HRM plus rapide.
He, 2012	Mise au point d'un essai HRM (n = 12)	FGFR3	HRM	RFLP	Concordance parfaite. HRM plus rapide, plus simple et moins coûteux
Pereyra, 2012	Recherche de polymorphismes de gènes de l'inflammation associés à la naissance prématurée (n = 109)	TLR4, IL6, IL1 beta et IL12RB	HRM	RFLP	Précision du HRM 107/109. HRM plus rapide et moins coûteux que RFLP
Cao, 2011	Mise au point d'un essai HRM	JAK2 (V617F)	HRM	RFLP	Concordance élevée
Maltese, 2009	Recherche de polymorphismes du récepteur des glucocorticoïdes	ER22/23EK BclI, N363S	HRM	RFLP	Concordance parfaite. HRM plus rapide, plus simple, moins coûteux et utilisable en haut débit.

Nguyen-Dumont, 2009	Recherche de polymorphismes rares (cancer du sein, n = 1356)	ATM	HRM +séq. SSCP ou dHPLC + séq.	Séq. direct complet	Le HRM améliore significativement la sensibilité pour les allèles rares et réduit les coûts de séquençage.

Reproductibilité

Génotypage par RFLP de 10 souches cliniques de *M. tuberculosis*. La reproductibilité varie entre 94 et 100 % selon les gènes [Kremer *et al.,* 1999] .

Sensibilité analytique

Détection de mutations dans *BRCA1* et *BRCA2* (revue systématique) : sensibilité de 100 % (16 échantillons) pour les techniques dérivant de l'activité des enzymes de restriction [Gerhardus *et al*., 2007].

Spécificité analytique

Détection de mutations dans *BRCA1* et *BRCA2* (revue systématique). Spécificité de 100 % (4 échantillons) pour les techniques dérivant de l'activité des enzymes de restriction [Gerhardus *et al*., 2007]..

Concordance

Recherche de la mutation G20210 gène de la prothrombine par RFLP sur 205 échantillons. Concordance avec PCR en temps réel : 100 % confirmée par séquençage [Huber *et al.,* 2000].

Recherche de mutations dans KRAS par HRM et séquençage direct; concordance de 94,8 % entre les deux méthodes [Akiyoshi *et al.,* 2013].

5.4 Recommandations d'autres organismes

National Institute for Health and Care Excellence (*Familial Breast Cancer*, juin 2013)

Aucune mention concernant *PALB2*. Par contre, les personnes à risque d'être porteuses d'une mutation dans *BRCA1* ou *BRCA2* devraient être orientées à une clinique spécialisée en génétique.

La recherche d'une mutation ou le criblage d'un gène (p. ex. : *BRCA1*, *BRCA2* ou *TP53*) devraient être réalisés par une méthode se rapprochant le plus possible d'une sensibilité de 100 % pour la mise en évidence des altérations de la séquence codante. Tout le gène devrait être criblé.

National Comprehensive Cancer Network (Genetic/Familial High-Risk Assessment : Breast and Ovarian; V4. 2013)

PALB2 est mentionné comme un gène faisant partie des possibilités d'évaluation en clinique spécialisée de génétique. Toutefois, le comité ne s'est pas penché sur l'importance de ce gène en raison du risque et de la pénétrance modéré.

National Comprehensive Cancer Network (Pancreatic Adenocarcinoma V1. 2013)

Le groupe recommande l'utilisation de la gemcitabine + cisplatin pour les patients atteints d'un cancer du pancréas héréditaire métastatique et chez qui une mutation de *PALB2* a été démontrée (recommandation 2A).

European Society for Medical Oncology

Aucune recommandation de prise en charge spécifique aux mutations touchant *PALB2* [Balmana *et al.,* 2011]

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

La recherche de mutations par la méthode HRM suivie d'un séquençage ciblé comparativement à la recherche d'un seul allèle par RFLP permet un meilleur balayage mutationnel de *PALB2*. Une méthode de criblage comme le HRM est recommandée lorsque le coût du séquençage direct est excessif.

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

Faibles conséquences en raison de la rareté des cas. Au Québec, l'incidence du cancer du sein est estimée à 6000 cas par année. Environ 20 % de ces cas sont considérés comme ayant une origine héréditaire (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53* et autres), soit environ 1200 cas). Selon les données présentées ici, 1 % des cas seraient attribuables à une mutation de *PALB2*, soit environ 120 analyses par année.

Concernant le cancer du pancréas, on prévoit environ 1250 nouveaux diagnostics par année, dont une centaine de cas auraient une histoire familiale de cancer du pancréas, soit 5 à 10 % des cas.

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

Les mutations pathogéniques de *PALB2* ont une pénétrance variable. Hormis quelques mutations dont la pathogénie est sans équivoque, il est difficile, en ce qui concerne certains allèles rares, d'établir le lien causal sans étudier l'histoire familiale d'un cas identifié et de rechercher la même variante parmi les autres cas atteints et parmi les personnes à risque. De plus, relativement aux cas de cancer (sein, ovaire, pancréas) pour lesquels la suspicion d'un lien héréditaire est élevée, l'exclusion d'une mutation fondatrice pour *PALB2* (Q775X, par exemple) n'exclut ni la présence d'une mutation autre du même gène ni la présence d'une mutation pathogénique dans un autre gène (*BRCA1/2*, *ATM*, *RAD51*, *TP53*, *CHK2*, etc.).

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique : pour les cas familiaux où *BRCA1/2* ne sont pas en cause.

7.2 Validité clinique : mutations pathogéniques bien décrites (pénétrance des allèles variables).

7.3 Validité analytique

RFLP est une technique établie. Le HRM est validé et permet une meilleure couverture du gène.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Pas encore établie; consultations génétiques spécialisées recommandées.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

a) Cancer du sein et du pancréas – Recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2* par RFLP

Le statut de la technologie diagnostique

- ☐ Établie
- ☒ Innovatrice : la RFLP est une technique établie, mais elle est innovatrice pour la recherche de l'allèle Q775X du gène *PALB2*.
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie_____qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

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

L'utilité clinique et les conséquences des résultats sur le suivi des patients ne sont pas assez documentées. Les données disponibles sur la performance analytique sont minimales.

Une réévaluation sera faite lorsque le requérant aura fourni :

- *des données additionnelles sur les résultats de validité technique obtenus dans son laboratoire*
- *plus de détails sur la technique*
- *un algorithme décisionnel.*

Recommandation additionnelle

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

b) Cancer du sein et du pancréas – Recherche de mutations du gène *PALB2* par HRM et séquençage direct

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

  La validité analytique pour la recherche de mutations du gène PALB2 par HRM et séquençage direct n'est pas documentée.
  Le séquençage permet d'identifier de nouvelles mutations. Or, il n'y a pas de données sur l'importance clinique (pénétrance) pour la majorité des nouvelles mutations répertoriées.

- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

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

RÉFÉRENCES

Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé et en services sociaux (AÉTMIS). Contribution des analyses moléculaires des gènes BRCA1/2 à l'évaluation du risque de prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire : rapport sommaire. Rapport rédigé par Julie Tranchemontagne, Lucy Boothroyd et Ingeborg Blancquaert. Montréal, Qc : AÉTMIS; 2006.

Akiyoshi K, Yamada Y, Honma Y, Iwasa S, Kato K, Hamaguchi T, et al. KRAS mutations in patients with colorectal cancer as detected by high-resolution melting analysis and direct sequencing. Anticancer Res 2013;33(5):2129-34.

Apostolou P et Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. Biomed Res Int 2013;2013:747318.

Balia C, Sensi E, Lombardi G, Roncella M, Bevilacqua G, Caligo MA. PALB2: A novel inactivating mutation in a Italian breast cancer family. Fam Cancer 2010;9(4):531-6.

Balmaña J, Diez O, Rubio IT, Cardoso F. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical practice guidelines. Ann Oncol 2011;22(Suppl 6):vi31-4.

Bartsch DK, Gress TM, Langer P. Familial pancreatic cancer--current knowledge. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2012;9(8):445-53.

Berzina D, Nakazawa-Miklasevica M, Zestkova J, Aksenoka K, Irmejs A, Gardovskis A, et al. BRCA1/2 mutation screening in high-risk breast/ovarian cancer families and sporadic cancer patient surveilling for hidden high-risk families. BMC Med Genet 2013;14:61.

Blanco A, de la Hoya M, Balmana J, Ramon y Cajal T, Teule A, Miramar MD, et al. Detection of a large rearrangement in PALB2 in spanish breast cancer families with male breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2012;132(1):307-15.

Bogdanova N, Sokolenko AP, Iyevleva AG, Abysheva SN, Blaut M, Bremer M, et al. PALB2 mutations in german and russian patients with bilateral breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2011;126(2):545-50.

Breast cancer linkage consortium (BCLC). Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. J Natl Cancer Inst 1999;91(15):1310-6.

Buisson R, Dion-Cote AM, Coulombe Y, Launay H, Cai H, Stasiak AZ, et al. Cooperation of breast cancer proteins PALB2 and piccolo BRCA2 in stimulating homologous recombination. Nat Struct Mol Biol 2010;17(10):1247-54.

Buisson R et Masson JY. Fonction des suppresseurs de tumeur PALB2 et BRCA2 dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN. Med Sci (Paris) 2013;29(3):301-7.

Cao AY, Huang J, Hu Z, Li WF, Ma ZL, Tang LL, et al. The prevalence of PALB2 germline mutations in BRCA1/BRCA2 negative chinese women with early onset breast cancer or affected relatives. Breast Cancer Res Treat 2009;114(3):457-62.

Cao HC, Lin J, Qian J, Yao DM, Li Y, Yang J, et al. Detection of the JAK2 mutation in myeloproliferative neoplasms by asymmetric PCR with unlabeled probe and high-resolution melt analysis. J Clin Lab Anal 2011;25(4):300-4.

Casadei S, Norquist BM, Walsh T, Stray S, Mandell JB, Lee MK, et al. Contribution of inherited mutations in the BRCA2-interacting protein PALB2 to familial breast cancer. Cancer Res 2011;71(6):2222-9.

Cavallone L, Arcand SL, Maugard CM, Nolet S, Gaboury LA, Mes-Masson AM, et al. Comprehensive BRCA1 and BRCA2 mutation analyses and review of French Canadian families with at least three cases of breast cancer. Fam Cancer 2010;9(4):507-17.

Comité consultatif de la Société canadienne du cancer (CSSCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2013. Toronto, ON : CSSCC; 2013. Disponible à : http://www.cancer.ca/~/media/cancer.ca/CW/publications/Canadian%20Cancer%20Statistics/canadian-cancer-statistics-2013_FR.pdf.

Cote S, Arcand SL, Royer R, Nolet S, Mes-Masson AM, Ghadirian P, et al. The BRCA2 c.9004G>A (E2002K) [corrected] variant is likely pathogenic and recurs in breast and/or ovarian cancer families of french canadian descent. Breast Cancer Res Treat 2012;131(1):333-40.

Dansonka-Mieszkowska A, Kluska A, Moes J, Dabrowska M, Nowakowska D, Niwinska A, et al. A novel germline PALB2 deletion in polish breast and ovarian cancer patients. BMC Med Genet 2010;11:20.

Ding YC, Steele L, Chu LH, Kelley K, Davis H, John EM, et al. Germline mutations in PALB2 in african-american breast cancer cases. Breast Cancer Res Treat 2011;126(1):227-30.

Ding YC, Steele L, Kuan CJ, Greilac S, Neuhausen SL. Mutations in BRCA2 and PALB2 in male breast cancer cases from the United States. Breast Cancer Res Treat 2011;126(3):771-8.

Erkko H, Dowty JG, Nikkila J, Syrjakoski K, Mannermaa A, Pylkas K, et al. Penetrance analysis of the PALB2 c.1592delT founder mutation. Clin Cancer Res 2008;14(14):4667-71.

Erkko H, Xia B, Nikkila J, Schleutker J, Syrjakoski K, Mannermaa A, et al. A recurrent mutation in PALB2 in Finnish cancer families. Nature 2007;446(7133):316-9.

Foulkes WD, Ghadirian P, Akbari MR, Hamel N, Giroux S, Sabbaghian N, et al. Identification of a novel truncating PALB2 mutation and analysis of its contribution to early-onset breast cancer in french-canadian women. Breast Cancer Res 2007;9(6):R83.

Garcia MJ, Fernandez V, Osorio A, Barroso A, Llort G, Lazaro C, et al. Analysis of FANCB and FANCN/PALB2 fanconi anemia genes in BRCA1/2-negative Spanish breast cancer families. Breast Cancer Res Treat 2009;113(3):545-51.

Gerhardus A, Schleberger H, Schlegelberger B, Gadzicki D. Diagnostic accuracy of methods for the detection of BRCA1 and BRCA2 mutations: A systematic review. Eur J Hum Genet 2007;15(6):619-27.

Ghadirian P, Robidoux A, Zhang P, Royer R, Akbari M, Zhang S, et al. The contribution of founder mutations to early-onset breast cancer in french-canadian women. Clin Genet 2009;76(5):421-6.

Ghiorzo P, Pensotti V, Fornarini G, Sciallero S, Battistuzzi L, Belli F, et al. Contribution of germline mutations in the BRCA and PALB2 genes to pancreatic cancer in Italy. Fam Cancer 2012;11(1):41-7.

Grant RC, Al-Sukhni W, Borgida AE, Holter S, Kanji ZS, McPherson T, et al. Exome sequencing identifies nonsegregating nonsense ATM and PALB2 variants in familial pancreatic cancer. Hum Genomics 2013;7:11.

Guenard F, Pedneault CS, Ouellette G, Labrie Y, Simard J, Durocher F. Evaluation of the contribution of the three breast cancer susceptibility genes CHEK2, STK11, and PALB2 in non-BRCA1/2 french canadian families with high risk of breast cancer. Genet Test Mol Biomarkers 2010;14(4):515-26.

Gunnarsson H, Arason A, Gillanders EM, Agnarsson BA, Johannesdottir G, Johannsson OT, Barkardottir RB. Evidence against PALB2 involvement in Icelandic breast cancer susceptibility. J Negat Results Biomed 2008;7:5.

Harinck F, Kluijt I, van Mil SE, Waisfisz Q, van Os TA, Aalfs CM, et al. Routine testing for PALB2 mutations in familial pancreatic cancer families and breast cancer families with pancreatic cancer is not indicated. Eur J Hum Genet 2012;20(5):577-9.

He X, Xie F, Ren ZR. Rapid detection of G1138A and G1138C mutations of the FGFR3 gene in patients with achondroplasia using high-resolution melting analysis. Genet Test Mol Biomarkers 2012;16(4):297-301.

Heikkinen T, Karkkainen H, Aaltonen K, Milne RL, Heikkila P, Aittomaki K, et al. The breast cancer susceptibility mutation PALB2 1592delT is associated with an aggressive tumor phenotype. Clin Cancer Res 2009;15(9):3214-22.

Hellebrand H, Sutter C, Honisch E, Gross E, Wappenschmidt B, Schem C, et al. Germline mutations in the PALB2 gene are population specific and occur with low frequencies in familial breast cancer. Hum Mutat 2011;32(6):E2176-88.

Huber S, McMaster KJ, Voelkerding KV. Analytical evaluation of primer engineered multiplex polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism for detection of factor V Leiden and prothrombin G20210A. J Mol Diagn 2000;2(3):153-7.

Izatt L, Greenman J, Hodgson S, Ellis D, Watts S, Scott G, et al. Identification of germline missense mutations and rare allelic variants in the ATM gene in early-onset breast cancer. Genes Chromosomes Cancer 1999;26(4):286-94.

Jones S, Hruban RH, Kamiyama M, Borges M, Zhang X, Parsons DW, et al. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. Science 2009;324(5924):217.

Kim JH, Choi DH, Cho DY, Ahn SH, Son BH, Haffty BG. PALB2 mutations 1592delT and 229delT are not present in korean breast cancer patients negative for BRCA1 and BRCA2 mutations. Breast Cancer Res Treat 2010;122(1):303-6.

Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, Haas WH, Hermans PW, Martin C, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of Mycobacterium tuberculosis complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. J Clin Microbiol 1999;37(8):2607-18.

Kuusisto KM, Bebel A, Vihinen M, Schleutker J, Sallinen SL. Screening for BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, and CDH1 mutations in high-risk finnish BRCA1/2-founder mutation-negative breast and/or ovarian cancer individuals. Breast Cancer Res 2011;13(1):R20.

Lalloo F et Evans DG. Familial breast cancer. Clin Genet 2012;82(2):105-14.

Maltese P, Canestrari E, Palma L, Ruzzo A, Corini F, Menotta M, et al. High resolution melting (HRM) analysis for the detection of ER22/23EK, BclI, and N363S polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene. J Steroid Biochem Mol Biol 2009;113(3-5):269-74.

Maxwell KN et Domchek SM. Familial breast cancer risk. Curr Breast Cancer Rep 2013;5(3):170-82.

McInerney NM, Miller N, Rowan A, Colleran G, Barclay E, Curran C, et al. Evaluation of variants in the CHEK2, BRIP1 and PALB2 genes in an Irish breast cancer cohort. Breast Cancer Res Treat 2010;121(1):203-10.

Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, Wasielewski M, de Snoo A, Oldenburg R, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*) 1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. Nat Genet 2002;31(1):55-9.

Nguyen-Dumont T, Calvez-Kelm FL, Forey N, McKay-Chopin S, Garritano S, Gioia-Patricola L, et al. Description and validation of high-throughput simultaneous genotyping and mutation scanning by high-resolution melting curve analysis. Hum Mutat 2009;30(6):884-90.

Ono A, Okuhashi Y, Takahashi Y, Itoh M, Nara N, Tohda S. Advantages of the quenching probe method over other PCR-based methods for detection of the JAK2 V617F mutation. Oncol Lett 2012;4(2):205-8.

Papi L, Putignano AL, Congregati C, Piaceri I, Zanna I, Sera F, et al. A PALB2 germline mutation associated with hereditary breast cancer in Italy. Fam Cancer 2010;9(2):181-5.

Parmigiani G, Berry D, Aguilar O. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. Am J Hum Genet 1998;62(1):145-58.

Pereyra S, Velazquez T, Bertoni B, Sapiro R. Rapid multiplex high resolution melting method to analyze inflammatory related SNPs in preterm birth. BMC Res Notes 2012;5:69.

Peterlongo P, Catucci I, Pasquini G, Verderio P, Peissel B, Barile M, et al. PALB2 germline mutations in familial breast cancer cases with personal and family history of pancreatic cancer. Breast Cancer Res Treat 2011;126(3):825-8.

Pylkas K, Erkko H, Nikkila J, Solyom S, Winqvist R. Analysis of large deletions in BRCA1, BRCA2 and PALB2 genes in Finnish breast and ovarian cancer families. BMC Cancer 2008;8:146.

Rahman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A, Elliott A, et al. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. Nat Genet 2007;39(2):165-7.

Schneider R, Slater EP, Sina M, Habbe N, Fendrich V, Matthai E, et al. German national case collection for familial pancreatic cancer (FaPaCa): ten years experience. Fam Cancer 2011;10(2):323-30.

Seal S, Thompson D, Renwick A, Elliott A, Kelly P, Barfoot R, et al. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. Nat Genet 2006;38(11):1239-41.

Silvestri V, Rizzolo P, Zanna I, Falchetti M, Masala G, Bianchi S, et al. PALB2 mutations in male breast cancer: a population-based study in Central Italy. Breast Cancer Res Treat 2010;122(1):299-301.

Slater EP, Langer P, Niemczyk E, Strauch K, Butler J, Habbe N, et al. PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families. Clin Genet 2010;78(5):490-4.

Sluiter M, Mew S, van Rensburg EJ. PALB2 sequence variants in young south african breast cancer patients. Fam Cancer 2009;8(4):347-53.

Southey MC, Teo ZL, Dowty JG, Odefrey FA, Park DJ, Tischkowitz M, et al. A PALB2 mutation associated with high risk of breast cancer. Breast Cancer Res 2010;12(6):R109.

Southey MC, Teo ZL, Winship I. PALB2 and breast cancer: ready for clinical translation! Appl Clin Genet 2013;6:43-52.

Teo ZL, Park DJ, Provenzano E, Chatfield CA, Odefrey FA, Nguyen-Dumont T, et al. Prevalence of PALB2 mutations in Australasian multiple-case breast cancer families. Breast Cancer Res 2013;15(1):R17.

Tischkowitz M, Capanu M, Sabbaghian N, Li L, Liang X, Vallee MP, et al. Rare germline mutations in PALB2 and breast cancer risk: a population-based study. Hum Mutat 2012;33(4):674-80.

Tischkowitz M, Sabbaghian N, Hamel N, Pouchet C, Foulkes WD, Mes-Masson AM, et al. Contribution of the PALB2 c.2323C>T [p.Q775X] founder mutation in well-defined breast and/or ovarian cancer families and unselected ovarian cancer cases of French Canadian descent. BMC Med Genet 2013;14:5.

Tischkowitz M, Xia B, Sabbaghian N, Reis-Filho JS, Hamel N, Li G, et al. Analysis of PALB2/FANCN-associated breast cancer families. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104(16):6788-93.

Tischkowitz MD, Sabbaghian N, Hamel N, Borgida A, Rosner C, Taherian N, et al. Analysis of the gene coding for the BRCA2-interacting protein PALB2 in familial and sporadic pancreatic cancer. Gastroenterology 2009;137(3):1183-6.

van der Heiden IP, van der Werf M, Lindemans J, van Schaik RH. Sequencing: not always the "gold standard". Clin Chem 2004;50(1):248-9.

Villarroel MC, Rajeshkumar NV, Garrido-Laguna I, De Jesus-Acosta A, Jones S, Maitra A, et al. Personalizing cancer treatment in the age of global genomic analyses: PALB2 gene mutations and the response to DNA damaging agents in pancreatic cancer. Mol Cancer Ther 2011;10(1):3-8.

Wong MW, Nordfors C, Mossman D, Pecenpetelovska G, Avery-Kiejda KA, Talseth-Palmer B, et al. BRIP1, PALB2, and RAD51C mutation analysis reveals their relative importance as genetic susceptibility factors for breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2011;127(3):853-9.

Zheng Y, Zhang J, Niu Q, Huo D, Olopade OI. Novel germline PALB2 truncating mutations in African American breast cancer patients. Cancer 2012;118(5):1362-70.

TYPAGE DES KIRS PAR RÉACTION EN CHAÎNE PAR POLYMÉRASE (PCR) (RÉFÉRENCE - 2013.02.007)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital Maisonneuve-Rosemont

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 6 juin 2011

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Typage des KIRs (Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor) par réaction en chaîne de polymérase (PCR) avec des amorces spécifiques de séquences (SSP).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

Présentement, deux trousses sont utilisées pour effectuer l'analyse. L'une sert à valider les résultats de l'autre. Par contre, après la validation, une seule trousse sera nécessaire pour faire l'analyse.

Une des trousses se nomme KIR Genotyping SSP (n° cat : 78930-3) de la compagnie Invitrogen (Life Technologies). Elle se conserve à - 20°ºC et elle comporte 12 tests. Elle inclue le tampon de la PCR. L'échantillon à tester a déjà été extrait pour d'autres analyses (typages HLA aux loci A, B, C, DRB1 ou DQB1). Pour commencer l'analyse, le matériel est sorti du congélateur et amené à la température ambiante. À l'aide de pipettes et d'embouts stériles, le mélange réactionnel est préparé et distribué sur des plaques multipuits. Un scellant est appliqué sur la plaque avant l'amplification par PCR-SSP. Les thermocycleurs utilisés sont l'appareil Biometra® TProfessional standard (Montréal Biotech, n° cat : 070-951) ou encore l'ABI 9700 (Life Technologies n° cat : N8050001). Lorsque l'amplification est terminée, l'ADN est déposé sur gel d'agarose avec bromure d'éthidium, puis le patron de migration est visualisé et analysé afin de déterminer quels sont les KIRs exprimés par le sujet.

La deuxième trousse utilisée pour la validation est la trousse KIR typing (n° cat : 130-092-584) de la compagnie Miltenyi Biotec. Cette trousse compte 24 tests et se conserve à 4°ºC. Le processus analytique est similaire à celui décrit ci-dessus.

2.3 Société ou développeur : selon la méthode publiée par Gómez-Lozano et Vilches (2002).

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Selon le demandeur, la trousse KIR Genotyping SSP de la compagnie Invitrogen (Life Technologies) est homologuée par Santé Canada, mais une recherche sur la base de données des instruments médicaux homologués MDALL [Santé Canada, 2013] n'a pas permis de la repérer.

La trousse KIR typing de la compagnie Miltenyi Biotec n'était pas non plus dans la base de données MDALL. Les renseignements obtenus des fabricants de ces trousses indiquent que leur usage est réservé à la recherche.

2.7 Valeur pondérée : 111,66. Cette estimation a été calculée en juillet 2009.

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

3.1 Patients ciblés

Patients présentant une malignité hématologique (leucémie, lymphome et myélome) qui nécessite une greffe de cellules souches hématopoïétiques afin de trouver un donneur haplo-identique.

3.2 Description des maladies visées

Les malignités hématologiques sont un ensemble de conditions hétérogènes provenant des cellules de la moelle osseuse et du système lymphatique [Rodriguez-Abreu *et al.*, 2007]. Les trois groupes principaux sont la leucémie (y compris la leucémie myéloïde aiguë et chronique, la leucémie lymphoblastique aiguë et la leucémie lymphoïde chronique à cellules B), le lymphome (lymphome de Hodgkin et non hodgkinien) et les tumeurs des cellules plasmatiques (myélome multiple). Le pronostic dépend du type de cancer hématologique. Concernant l'incidence et la mortalité au Canada, le lymphome non hodgkinien, le lymphome de Hodgkin, la leucémie et le myélome multiple ensemble comptent pour 9,12 % (n = 17 110) de tous les nouveaux cancers, et trois de ces conditions (à l'exception du lymphome de Hodgkin) représentent 9,14 % (n = 6897) de tous les décès attribuables au cancer entre 2003 et 2007 [CCSCC, 2013]. L'extrapolation de ces données à la population du Québec suggère 855 nouveaux cas et 345 décès par an. L'incidence des types de cancers hématologiques varie selon l'âge. La leucémie en particulier est une cause majeure de décès par cancer chez les personnes de moins de 30 ans (27 % des décès par cancer chez les 0-14 ans, et 17 % des décès par cancer chez les 15-29 ans) [CCSCC, 2013].

3.3 Nombre de patients visés

Le demandeur estime que le nombre d'analyses est d'environ 48 par année pour les 3 prochaines années pour le Québec.

Selon le demandeur, il est techniquement possible que d'autres centres puissent procéder à ce test s'il est inclus dans le répertoire. Il s'agit d'une technique facile à mettre en place dans les laboratoires qui font déjà la PCR. Toutefois, l'interprétation du résultat est très complexe.

De plus, d'un point de vue règlementaire, il est exigé que les typages HLA soient réalisés dans un laboratoire accrédité par l'American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI) tel que le laboratoire de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (HMR). Les typages des KIRs devraient également être faits dans des laboratoires accrédités ASHI afin d'assurer le respect des normes de qualité. Pour l'instant, l'HMR est le seul centre de greffe désigné à offrir ce type d'analyse à ses patients, et l'admissibilité des patients à ce traitement sera déterminée par leurs médecins. Le test pourra être offert par les laboratoires de l'HMR à tous les médecins et centres qui le désirent.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hémato-oncologie, génétique.

3.5 Modalités d'administration du test

Des échantillons de sang sont obtenus du patient et du donneur potentiel à l'aide d'une ponction veineuse pratiquée à l'hôpital.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

La moitié des patients avec des malignités hématologiques et qui ont besoin d'immunothérapie adoptive[66] ne peuvent pas bénéficier de l'allotransplantation hématopoïétique en raison des difficultés et des retards inhérents à l'identification de donneurs compatibles, au typage HLA du donneur, au prélèvement de la moelle osseuse, etc. [Velardi, 2008]. Dans le passé, les transplantations de cellules souches à partir de donneurs de type HLA discordant ont souvent donné lieu à des taux élevés de complications, comme la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) et le rejet de greffe [Fuchs, 2012; Reisner *et al.*, 2011; Velardi, 2008].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Le typage des KIRs augmente le nombre de donneurs potentiels parce qu'il permet de choisir un donneur haplo-identique (p. ex. apparié à 5/10 ou plus au HLA, par comparaison avec un donneur identique apparié à 10/10). Le principe de l'alloréactivité des cellules tueuses naturelles (NK) (donneur contre receveur) implique une sous-population des cellules NK chez un donneur. Ces cellules expriment un récepteur inhibiteur KIR qui ne reconnaît pas les ligands de classe I (HLA-I) sur les cellules tumorales du receveur, qui agissent comme médiateurs des alloréactions [Velardi, 2008; Nguyen, 2007]. Ainsi, l'usage de cette méthode entraîne moins de complications de GvHD [Negrin 2013; Reisner *et al.,* 2011; Olson *et al.*, 2010].

66. Immunothérapie adoptive : méthode qui consiste à stimuler hors de l'organisme (*in vitro*) des cellules anticancéreuses du malade pour les réinjecter ensuite au même malade [*Termium*, 2012] Disponible à : http://www.btb.termiumplus.gc.ca/tpv2alpha/alpha-fra.html?lang=fra&i=&index=alt&__index=alt&srchtxt=adoptive+immunotherapy&comencsrch.x=9&comencsrch.y=1.

4.4 Coût de la technologie et des options

Selon l'information fournie par le demandeur, la valeur pondérée de l'analyse était estimée à 111,66 en 2009. Le laboratoire du demandeur possède déjà tout l'équipement nécessaire pour effectuer ce test.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Ce test est nouveau et il ne remplace pas une analyse existante.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

L'étude de Kanga et ses collaborateurs [2012] a évalué l'influence des KIRs des donneurs et des HLA ligands des receveurs sur les résultats de la greffe de cellules souches hématopoïétiques parmi les membres de la fratrie. L'étude a inclus 26 patients présentant des malignités hématologiques diverses, qui avaient reçu une transplantation des cellules souches du sang périphérique de donneurs familiaux. Les patients ont été suivis 4,5 ans et les taux de GvHD, la rechute et la survie globale ont été évalués. L'absence des ligands était observée dans 88,5 % des cas. Parmi les cas discordants, 39 % des sujets ont développé le GvHD. La présence de C1 et C2 et de l'allèle Bw4-80(T) a montré un effet protecteur contre le GvHD. Les auteurs ont conclu que le rôle des KIRs peut dépendre notamment du type de greffe et du régime de conditionnement.

L'étude de Ruggeri et ses collaborateurs [2007] a analysé les cas de 112 patients atteints de leucémie myéloïde aiguë à risque élevé, qui ont reçu des greffes HLA haploidentiques des donneurs NK alloréactifs (n = 51) ou non NK alloréactifs (n = 61). Les transplantations provenant de donneurs NK alloréactifs ont été associées à un taux de rechute significativement plus faible chez les patients qui ont eu une rémission complète (3 % versus 47 %, p > 0,003), à une meilleure survie sans événement chez les patients qui ont reçu une transplantation après 10 ans de suivi, à un taux inférieur de rechute (34 % contre 6 %, p = 0,04) et à une réduction du risque de rechute ou de décès (RR = 0,48; IC à 95 % : de 0,29 à 0,78; p > 0,001). Les auteurs ont conclu que seule la transplantation provenant de donneurs NK alloréactifs est associée à un avantage de survie.

Elmaagacli et ses collaborateurs [2005] ont examiné comment les incompatibilités de ligands KIRs entraînent la rechute chez 236 patients atteints de leucémie myéloïde chronique. Les taux de récidive, de GvHD, de mortalité, de survie globale, de survie sans événement et d'insuffisance primaire du greffon ont été évalués dans trois groupes qui avaient reçu des greffes de cellules souches hématopoïétiques (HLA-identique [groupe 1 : n = 158], HLA de classe I antigène discordant et KIR-ligand compatible [groupe 2 : n = 49], et HLA de classe I antigène discordant et KIR-ligand incompatible [groupe 3 : n = 29]). La rechute moléculaire dans les groupes 1, 2 et 3 était de 39 %, 22 % et 3 %, respectivement (p < 0,001). La rechute hématologique dans les groupes 1, 2 et 3 était de 13 %, 4 % et 0 %, respectivement (p < 0,05). Le GvHD aigu était plus faible dans le groupe de greffes HLA-identiques (p < 0,05), mais le GvHD chronique était similaire dans les trois groupes. Il n'y avait pas de différences importantes entre les groupes relativement à l'échec de la greffe ou à la survie. Bien que cet auteur ait utilisé le typage des KIRs, sa méthodologie était la PCR en temps réel avec transcription inverse et analyse chimérique, et non la PCR avec SSP.

Plusieurs études cliniques ont rapporté un succès relatif avec les greffes qui utilisent le sang et la moelle osseuse HLA-incompatible/haploidentique chez les patients souffrant des maladies hématologiques malignes [Bashey *et al.*, 2013; Di Bartolomeo *et al.*, 2013; Guo *et al.*, 2012; Brunstein *et al.*, 2011; Lu *et al.,* 2006], mais ces études ne spécifient pas si le typage des KIRs a été utilisé pour sélectionner les donneurs.

5.1.3 Valeur thérapeutique

Le typage des KIRs permettrait de trouver des donneurs potentiels additionnels et d'offrir la transplantation dans les cas où l'appariement identique n'est pas possible.

5.2 Validité clinique : aucune étude sur la validité clinique du typage des KIRs n'a été repérée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

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

Une seule étude de validation analytique [Abalos *et al.*, 2010] a comparé dix échantillons de référence d'ADN de KIRs-typés obtenus de donneurs sains par l'Institut national du cancer (États-Unis), avec les résultats tirés de ces échantillons à l'aide de la trousse KIR Genotyping SSP et avec le génotypage des KIRs par PCR-SSP proposé par les auteurs. Une concordance de 100 % a été observée entre les trois méthodes de génotypage.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Les guides de pratique recensés n'abordent pas la question du typage des KIRs dans les cancers hématologiques.

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

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

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

Les cellules souches obtenues pour ces transplantations proviennent généralement de la moelle osseuse ou ont été obtenues par aphérèse sanguine. Certaines des études ont aussi utilisé du sang du cordon ombilical [Brunstein *et al.*, 2011 ; Reisner *et al.*, 2011].

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Permet le traitement, avec des cellules souches, de patients qui n'ont pas la chance de trouver un donneur compatible.

7.2 Validité clinique

Aucune étude clinique utilisant cette technique de typage particulière, mais des données limitées suggèrent qu'elle peut être relativement efficace.

7.3 Validité analytique

Des données très limitées suggèrent une bonne concordance avec d'autres méthodes de génotypage des KIRs.

7.4 Recommandations d’autres organismes

Aucune ligne directrice clinique concernant le typage des KIRs dans les cas de malignité hématologique n'a été trouvée.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Typage des KIRs (*Killer cell immunoglobulin-like receptor*) par réaction en chaîne de polymérase (PCR)

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

  Il s'agit d'une analyse qui est en mesure de sauver des vies.
  Le centre demandeur est le seul centre au Canada à faire cette analyse.
  Des données de validité clinique sont nécessaires pour compléter l'évaluation.
  Une réévaluation sera faite lorsque le requérant aura fourni des données sur les résultats obtenus dans son laboratoire.

Recommandation additionnelle

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

RÉFÉRENCES

Abalos AT, Eggers R, Hogan M, Nielson CM, Giuliano AR, Harris RB, Thompson PA. Design and validation of a multiplex specific primer-directed polymerase chain reaction assay for killer-cell immunoglobulin-like receptor genetic profiling. Tissue Antigens 2011;77(2):143-8.

Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, Manion K, Brown S, Holland HK, et al. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. J Clin Oncol 2013;31(10):1310-6.

Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, Karanes C, Costa LJ, Wu J, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. Blood 2011;118(2):282-8.

Comité consultatif de la Société canadienne du cancer (CCSCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2013. Toronto, ON : CCSCC; 2013. Disponible à : http://www.cancer.ca/~/media/cancer.ca/CW/publications/Canadian%20Cancer%20Statistics/canadian-cancer-statistics-2013_FR.pdf.

Di Bartolomeo P, Santarone S, De Angelis G, Picardi A, Cudillo L, Cerretti R, et al. Haploidentical, unmanipulated, G-CSF-primed bone marrow transplantation for patients with high-risk hematologic malignancies. Blood 2013;121(5):849-57.

Elmaagacli AH, Ottinger H, Koldehoff M, Peceny R, Steckel NK, Trenschel R, et al. Reduced risk for molecular disease in patients with chronic myeloid leukemia after transplantation from a KIR-mismatched donor. Transplantation 2005;79(12):1741-7.

Fuchs EJ. Haploidentical transplantation for hematologic malignancies: where do we stand? Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2012;2012:230-6.

Gomez-Lozano N et Vilches C. Genotyping of human killer-cell immunoglobulin-like receptor genes by polymerase chain reaction with sequence-specific primers: an update. Tissue Antigens 2002;59(3):184-93.

Guo M, Hu KX, Liu GX, Yu CL, Qiao JH, Sun QY, et al. HLA-mismatched stem-cell microtransplantation as postremission therapy for acute myeloid leukemia: long-term follow-up. J Clin Oncol 2012;30(33):4084-90.

Kanga U, Mourya M, Seth T, George J, Sood P, Sharma R, et al. Role of killer immunoglobulin-like receptor-ligand interactions in human leukocyte antigen-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation. Transplant Proc 2012;44(4):919-21.

Lu DP, Dong L, Wu T, Huang XJ, Zhang MJ, Han W, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. Blood 2006;107(8):3065-73.

Negrin RS. Donor selection for hematopoietic cell transplantation. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Nguyen S. Cellules NK en thérapie cellulaire. Hématologie 2007;13(1):60-3.

Olson JA, Leveson-Gower DB, Gill S, Baker J, Beilhack A, Negrin RS. NK cells mediate reduction of GVHD by inhibiting activated, alloreactive T cells while retaining GVT effects. Blood 2010;115(21):4293-301.

Reisner Y, Hagin D, Martelli MF. Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives. Blood 2011;118(23):6006-17.

Rodriguez-Abreu D, Bordoni A, Zucca E. Epidemiology of hematologic malignancies. Ann Oncol 2007;18(Suppl 1):s13-8.

Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, Urbani E, Carotti A, Aloisi T, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. Blood 2007;110(1):433-40.

Santé Canada. MDALL - Votre outil de référence concernant les instruments médicaux homologués au Canada [ressource électronique]. Ottawa, ON : Santé Canada. Disponible à : http://webprod5.hc-sc.gc.ca/mdll-limh.

Velardi A. Role of KIRs and KIR ligands in hematopoietic transplantation. Curr Opin Immunol 2008;20(5):581-7.

DÉTECTION DE *S. PNEUMONIAE*, *N. MENINGITIDIS*, *S. AGALACTIAE*, *L. MONOCYTOGENES* ET *H. INFLUENZAE* DU TYPE B PAR TAAN DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN (RÉFÉRENCE - 2013.02.008)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU de Québec - CHUL

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 18 juin 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Détection par TAAN multiplexe d'un panel de bactéries présentes dans le LCR.

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

Il s'agit d'un test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) des agents responsables de la méningite bactérienne dont *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae* (un streptocoque du groupe B), *Listeria monocytogenes* et *Haemophilus influenzae* du type B. La technologie utilisée est la réaction en chaîne par polymérase [en anglais *Polymerase Chain Reaction* (PCR)] à partir d'un échantillon de liquide céphalo-rachidien (LCR[67]).

La PCR faite à l'aide des trois composants de la trousse multiplexe Seeplex® Meningitis ACE Detection de Seegene permet la détection, en 6 heures, de ces 5 bactéries en plus de 7 virus également responsables de la méningite. Plus précisément, le composant Seeplex® Meningitis-B ACE Detection, qui permet de détecter ces cinq bactéries, comporte trois étapes majeures : isolement des acides nucléiques des bactéries; amplification de l'ADN bactérien visé à l'aide d'amorces faisant appel à la technologie DPO™[68]; et détection qualitative, par un système automatisé ou par électrophorèse en gel d'agarose, des différents produits de l'amplification [Seegene 2010]. D'après Shin et ses collaborateurs

67. LCR : liquide qui circule autour du cerveau et de la moelle épinière [Gray et Fedorko, 1992].
68. DPO™ : *Dual Priming Oligonucleotide*. Cette technologie de Seegene Inc. permet de maximiser la spécificité et la sensibilité de la PCR.

[2012], les gènes ainsi visés sont : *gyrB* de *S. pneumoniae*, *ctrA* de *N. meningitidis*, *Cfb* de *S. agalactiae, Hly* de *L. monocytogenes* et *P6* de *H. influenzae* du type b[69].

2.3 Société ou développeur

Seegene Inc., Séoul (Corée du Sud) fabrique la trousse Seeplex ®Meningitis ACE Detection qui a trois composants : Seeplex® Meningitis-B ACE Detection (5 bactéries); Seeplex® Meningitis-V1 ACE Detection (6 virus); et Seeplex® Meningitis-V2 ACE Detection (1 virus).

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Selon l'information fournie dans la demande, aucune trousse sur le sujet qui nous occupe n'est homologuée sur le marché canadien. La trousse Seeplex® Meningitis ACE Detection de Seegene est homologuée pour le diagnostic sur le territoire de l'Union européenne, mais elle est réservée à la recherche dans les autres pays comme le Canada [Seegene, 2010].

2.7 Valeur pondérée : 185,00 selon les renseignements fournis dans la demande.

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

3.1 Patients ciblés

Selon l'information fournie dans la demande, l'analyse sera prescrite aux patients ayant une méningite clinique avec leucorachie[70] et elle sera faite en cas de culture de LCR négative après plus de 48 heures d'incubation.

3.2 Description de la maladie visée

La méningite est une inflammation des tissus entourant le cerveau et la moelle épinière [Tunkel, 2012a].

Les manifestations cliniques de la méningite bactérienne sont variables et non spécifiques (fièvre, nausées, vomissements, maux de tête, confusion, etc.) [Curtis *et al*., 2010]. L'évolution de la maladie peut se faire en quelques jours ou être fulminante et se produire en quelques heures [PHE, 2012]. Le taux de mortalité d'une méningite bactérienne non traitée approche les 100 %. Même avec une thérapie optimale, la méningite bactérienne peut laisser des séquelles neurologiques ou autres ou provoquer le décès du patient. La majeure partie des dommages serait attribuable à l'action des cytokines[71] qui sont relâchées dans le LCR quand le corps déploie une réponse contre les bactéries [Tunkel, 2012a].

69. *gyrB* : *DNA gyrase, subunit B*; *ctrA* : *capsule polysaccharide export outer membrane protein CtrA*; *Cfb* : *cAMP-factor* (cfb); *Hly* : *Pore-forming cytolysin listeriolysin*; *P6* : *outer membraneprotein* (OMP) P6.
70. Leucorachie : présence anormale de globules blancs dans le liquide céphalo-rachidien [Site Web de l'Académie de Créteil. Disponible à : www.ac-creteil.fr/lycees/77/jferrycoulommiers/svt/pages/pages_st2s/terminologie_medicale_st2s/Racines/L/leuc(o)1-.htm].
71. Protéine de faible poids moléculaire qui stimule ou inhibe la différenciation, la prolifération ou les fonctions des cellules immunitaires [Delves *et al*., 2011].

Les principales causes des méningites bactériennes acquises dans la communauté (par opposition aux infections nosocomiales) chez les adultes des pays industrialisés sont *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*, ou surtout *L. monocytogenes* chez les patients âgés de 50 à 60 ans ou ceux qui ont une défaillance de l'immunité cellulaire [Tunkel, 2012b]. La vaccination contre *N. meningitidis* et *H. influenzae* a permis de freiner la maladie [Favaro *et al*., 2012].

L'incidence de la méningite bactérienne varie entre 0,56 et 80,69 pour 100 000 selon la bactérie et le groupe d'âge chez les enfants [Kaplan, 2012]. Selon l'information fournie dans la demande, cette maladie contagieuse survient aussi en éclosion.

3.3 Nombre de patients visés

Selon l'information fournie par le demandeur, le volume annuel attendu pour les trois prochaines années est approximativement de 30 PCR pour la clientèle pédiatrique du CHUL.

3.4 Spécialités médicales concernées (et autres professionnels, le cas échéant)

Microbiologie infectiologie, médecine d'urgence, médecine des soins intensifs, neurologie.

3.5 Modalités d'administration du test

Le demandeur est d'avis que le composant Seeplex® Meningitis-B ACE Detection doit être prescrit individuellement, selon la présentation clinique, au même titre que les deux autres composants de la trousse Seeplex ®Meningitis ACE Detection de Seegene. Selon l'information fournie dans la demande, cette analyse à court délai sera offerte et exécutée sept jours par semaine. Elle doit être pratiquée à partir d'un échantillon de LCR prélevé par ponction lombaire. Afin d'assurer la plus haute qualité des échantillons, ces derniers doivent être transportés avec grande précaution pour analyse et le plus rapidement possible, en dedans de 4 h à 19-25 ºC ou en dedans de 3 jours entre 2 et 8 ºC [Seegene, 2010]. L'échantillon de LCR doit être centrifugé et le culot doit être utilisé afin de procéder à l'extraction de l'ADN des bactéries qui s'y trouvent.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Elle serait substitutive à l'analyse nommée Liquide céphalo-rachidien (LCR) (Antigène bactérien[72]) (code 40163) et complémentaire à l'analyse nommée Liquide céphalo-rachidien (LCR) (culture) (code 40164). Elle serait suivie, en cas de résultat positif, d'une analyse de typage effectuée au Laboratoire de santé publique du Québec ou au Laboratoire national de microbiologie (Manitoba).

72. Selon des renseignements obtenus du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS), l'analyse sous le code 40163 Liquide céphalo-rachidien (LCR) (antigène bactérien) se faisait par un test d'agglutination avec une trousse qui n'est plus commercialisée. Cette analyse permettait la détection des antigènes de *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* et *H. influenzae* du type B et l'indication classique était les méningites décapitées par une antibiothérapie orale. Elle manquait toutefois de sensibilité; c'est pourquoi les sociétés savantes recommandaient de ne pas l'offrir. Au lieu de cette analyse, certains utilisent un essai immuno-enzymatique ou *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) pour détecter les antigènes de *S. pneumoniae* dans un échantillon d'urine ou de LCR.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Une ponction lombaire est pratiquée, à moins d'une contre-indication (p. ex. un patient instable, une infection de la peau au site de ponction, etc.), et ce, afin d'obtenir un échantillon de LCR à examiner. L'antibiothérapie commence le plus tôt possible [Kaplan, 2012].

La culture de bactéries présentes dans le LCR est l'étalon or pour le diagnostic des méningites bactériennes et pour l'évaluation de la susceptibilité des bactéries aux antibiotiques [Favaro *et al*., 2012]. Toutefois, cette analyse nécessite des jours d'incubation. C'est pourquoi les premières décisions doivent être prises en bonne partie sur la base de l'examen immédiat du LCR (qui inclut notamment la coloration de Gram[73] [Bonadio, 1992; Gray et Fedorko, 1992]. Le test d'agglutination de particules de latex sensibilisé[74] peut également être utilisé. Toutefois, la sensibilité et la spécificité de la culture et de l'examen du LCR à l'aide de ces analyses sont limitées [Shin *et al*., 2012].

De l'avis du demandeur, la seule option en ce moment en matière de biologie moléculaire est le recours à cinq PCR simplexes (distinctes) faites à Montréal ou à Winnipeg (selon le pathogène), ce qui engendre des délais évidemment trop longs pour avoir un effet clinique utile pour le patient ou pour la prise en charge des personnes qui sont en contact rapproché.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La trousse Seeplex®Meningitis ACE Detection peut être utile pour l'identification rapide de l'un ou l'autre des 12 principaux pathogènes (dont 5 bactéries) qui causent la méningite [Shin *et al*., 2012]. De l'avis du demandeur, le composant Seeplex® Meningitis-B ACE Detection de cette trousse permettra l'identification de bactéries dans les cultures décapitées par une antibiothérapie et dans les cultures dont le résultat est autrement négatif à cause d'un faible nombre de bactéries en début de maladie ou en raison de la lyse des bactéries. Selon des renseignements fournis dans la demande, le fait de pouvoir identifier des bactéries avec cette analyse, même après le début d'une antibiothérapie empirique, permet d'améliorer la prise en charge du patient, d'affecter positivement la gestion des maladies à déclaration obligatoire (MADO[75]) par la santé publique et d'accélérer le retour du patient à son domicile.

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

---

73. Coloration de Gram : technique communément utilisée afin de différencier, sur la base des constituants de leur paroi, les bactéries d'un échantillon clinique qui ont été fixées sur une lame et qui seront observées au microscope. D'une part, les bactéries Gram positives sont colorées en violet à cause de la présence d'une épaisse couche de peptidoglycane dans leur paroi, qui retient, après décoloration, la teinture au violet de gentiane. D'autre part, les bactéries Gram négatives sont colorées en rouge car leur mince couche de peptidoglycane ne retient pas le violet de gentiane, mais seulement la teinture à la safranine [Site Web du Science Education Resource Center at Carleton College, Minnesota. Disponible à : http://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/microscopy/gramstain.html]. Cette technique permet l'examen au microscope de la morphologie des bactéries ainsi colorées.
74. Test d'agglutination de particules de latex sensibilisé : technique qui consiste à mettre en contact un échantillon clinique avec des particules de latex recouvertes d'anticorps dirigés contre des antigènes en particulier. Si des bactéries contenues dans l'échantillon possèdent ces antigènes, elles se lieront aux anticorps sur les billes de latex et ces dernières formeront des amas visibles.
75. Les infections invasives à *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ou *H. influenzae* et la listériose (*L. monocytogenes*), mais pas les infections invasives à streptocoques du groupe B, sont des MADO au Québec [MSSS, 2012].

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

L'analyse remplacerait celle nommée Liquide céphalo-rachidien (LCR) (Antigène bactérien) (code 40163) (voir la section 4.1).

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Comme mentionné à la section 4.3, la trousse Seeplex® Meningitis ACE Detection peut être utile pour l'identification rapide de l'un ou l'autre des 12 principaux pathogènes (dont 5 bactéries) qui causent la méningite [Shin *et al*., 2012]. De plus, le fait de pouvoir identifier les bactéries visées, et ce, même après avoir commencé une antibiothérapie empirique, permet d'améliorer le traitement du patient, d'affecter positivement la gestion des MADO par la santé publique et d'accélérer le retour du patient à son domicile.

5.1.3 Valeur thérapeutique : aucune donnée n'a été répertoriée.

5.2 Validité clinique : aucune donnée n'a été répertoriée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

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

Des tests ont été menés à cinq moments distincts, au cours de deux semaines, par trois chercheurs différents, et les résultats ont été les mêmes, confirmant la **reproductibilité** de la trousse [Seegene, 2010]. Selon les résultats non publiés d'une validation, faite par le demandeur, du composant Seeplex® Meningitis-B ACE Detection de la trousse Seeplex ®Meningitis ACE Detection de Seegene, un seul échantillon (faiblement positif) était discordant sur le total des 18 échantillons dont l'analyse a été faite en duplicata, répétée sur des jours différents et pratiquée par deux chercheurs indépendants.

La **sensibilité analytique** de la trousse est bonne car la limite de détection pour *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* et *H. influenzae* était respectivement de 19, 13, 5, 51 et 57 génomes/ml [Shin *et al*., 2012]. Selon les résultats non publiés de la validation mentionnée ci-dessus, la sensibilité du composant Seeplex® Meningitis-B ACE Detection de la trousse Seeplex®Meningitis ACE Detection de Seegene était de 100 % à une limite de détection de 600 unités formant colonie (UFC)/réaction ou 3 000 UFC/ml) et la **concordance** avec la culture de LCR était excellente.

La **spécificité analytique** est bonne car différents pathogènes ont été testés et il n'y a eu aucune amplification d'acides nucléiques autres que ceux ciblés par la trousse [Shin *et al*., 2012; Seegene, 2010]. Selon les résultats non publiés de la validation mentionnée ci-dessus, il n'y a pas eu d'interférence entre les souches de bactéries ni avec des liquides qui dénotent une hémorragie ou une xantochromie[76].

5.4 Recommandations d'autres organismes

Aucune information n'a été répertoriée.

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

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

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

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

L'analyse permet l'identification rapide de l'un ou l'autre des 12 principaux pathogènes (dont 5 bactéries) qui causent la méningite, même après le début d'une antibiothérapie empirique. Ce faisant, elle permet d'améliorer la prise en charge du patient, d'affecter positivement la gestion des MADO par la santé publique et d'accélérer le retour du patient à son domicile.

7.2 Validité clinique : aucune donnée disponible.

7.3 Validité analytique

Quoique rares, les données disponibles sur la trousse Seeplex® Meningitis ACE Detection de Seegene montrent qu'elle est reproductible, que sa sensibilité et sa spécificité analytiques sont bonnes et que les résultats qui en sont issus concordent avec ceux de la culture de LCR.

7.4 Recommandation d'autres organismes : aucune information n'a été répertoriée.

76. Xantochromie : coloration jaune du LCR ou de la peau [Site Web de l'Académie de Créteil. Disponible à : www.ac-creteil.fr/lycees/77/jferrycoulommiers/svt/pages/pages_st2s/terminologie_medicale_st2s/Racines/L/leuc(o)1-.htm].

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Détection de *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* et *H. influenzae* du type B par TAAN dans le liquide céphalo-rachidien

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction

  Cette analyse est essentielle au Québec et elle permettrait de réduire le temps de réponse. Actuellement, les échantillons de LCR sont envoyés au LSPQ qui les transmet à Winnipeg pour identification de trois bactéries.
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☒ Introduction conditionnelle au suivi de l'utilité clinique (nombre de tests, nombre de méningites diagnostiquées, changement thérapeutique à la suite du résultat, issue clinique, coûts comprenant celui des analyses supplémentaires nécessaires pour le typage de *N. meningitidis* au Laboratoire national de microbiologie (LNM) à Winnipeg).

NOTE

Cette analyse ne remplacera pas les cultures, mais elle pourrait remplacer l'analyse 40163.

RÉFÉRENCES

Bonadio WA. The cerebrospinal fluid: physiologic aspects and alterations associated with bacterial meningitis. Pediatr Infect Dis J 1992;11(6):423-31.

Curtis S, Stobart K, Vandermeer B, Simel DL, Klassen T. Clinical features suggestive of meningitis in children: a systematic review of prospective data. Pediatrics 2010;126(5):952-60.

Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's essential immunology. 12e éd. Chichester, Royaume-Uni : Wiley-Blackwell; 2011.

Favaro M, Savini V, Favalli C, Fontana C. A multi-target real-time PCR assay for rapid identification of meningitis-associated microorganisms. Mol Biotechnol 2013;53(1):74-9.

Gray LD et Fedorko DP. Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev 1992;5(2):130-45.

Kaplan SL. Clinical features and diagnosis of acute bacterial meningitis in children older than one month of age. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Ministère de la santé et des services sociaux (MSSS). Surveillance des maladies à déclaration obligatoire au Québec - Définitions nosologiques - Maladies d'origine infectieuse. 9e éd. Québec, Qc : MSSS; 2012. Disponible à : http://publications.msss.gouv.qc.ca/acrobat/f/documentation/2012/12-268-03W.pdf.

Public Health England (PHE). UK Standards for microbiolgy investigations. Investigation of cerebrospinal fluid Bacteriology B27/5-1. Londres, Angleterre : PHE; 2012. Disponible à : http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317132861004.

Seegene. Seeplex Meningitis ACE Detection. Corée : Seegene; 2010. Disponible à : http://www.seegene.co.kr/en/download/Meningitis.pdf.

Shin SY, Kwon KC, Park JW, Kim JM, Koo SH. Evaluation of the Seeplex(R) meningitis ACE detection kit for the detection of 12 common bacterial and viral pathogens of acute meningitis. Ann Lab Med 2012;32(1):44-9.

Tunkel AR. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial meningitis Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2012. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Tunkel AR. Clinical features and diagnostic of acute bacterial meningitis in adults Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2012. Disponible à : http://www.uptodate.com.

DÉTECTION DU PENTOBARBITAL PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (RÉFÉRENCE - 2013.02.009)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 7 janvier 2013

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Chromatographie liquide à haute performance (*High performance liquid chromatography*, HPLC) avec réaction photochimique postcolonne et détection par barrette de diodes.

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

La HPLC est une technique chromatographique utilisée pour séparer, identifier et quantifier les constituants d'un mélange. La méthode consiste à faire passer un échantillon liquide à travers un matériau adsorbant solide, en le poussant dans une colonne avec un liquide, à un débit élevé. Les composants (analytes) de l'échantillon interagissent avec le matériau adsorbant, ce qui permet leur séparation. La réaction photochimique en HPLC peut améliorer à la fois la sensibilité et la spécificité. Elle provoque un déplacement important de plusieurs barbituriques dans le spectre ultraviolet (UV), y compris le pentobarbital [Wolf et Schmid, 1990; Schmid et Wolf, 1989. Sans irradiation, le pentobarbital est détecté à une longueur d'onde de < 220 nm (nanomètres), et avec une irradiation maximale de 25 à 35 sec on observe une réaction photochimique du pentobarbital à une longueur d'onde de 270 nm [Wolf et Schmid, 1990; Schmid et Wolf, 1989].

Le pentobarbital est un sédatif utilisé dans le cas de non-réponse à la pharmacothérapie de première et de deuxième ligne chez les enfants [Friedman, 2012] et les adultes [Stecker, 2013] souffrant d'état de mal épileptique réfractaire. Il est également utilisé chez les patients présentant un traumatisme crânien grave, pour provoquer un coma et pour soulager la pression intracrânienne. Le suivi thérapeutique du pentobarbital offre un moyen pour titrer et surveiller les concentrations plasmatiques du médicament pendant son utilisation étant donné sa toxicité potentielle et le risque de surdosage [Kochanek *et al.*,

2012; Molina *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2008] et considérant la variabilité des niveaux plasmatiques de pentobarbital chez le patient pendant la durée du traitement [Wermerling *et al.*, 1987; Heinemeyer *et al.*, 1986; Bayliff *et al.*, 1985].

2.3 Société ou développeur : selon la méthode publiée par Wolf et Schmid [1990] et Schmid et Wolf [1989].

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

L'analyse ne repose pas sur des réactifs/trousses homologués par Santé Canada.

Les réactifs analytiques sont certifiés pour HPLC et des certificats sont produits pour chaque lot.

2.7 Valeur pondérée : 87,08 (estimée en 2012).

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

3.1 Patients ciblés

Enfants atteints d'épilepsie rebelle ou ceux souffrant d'un traumatisme crânien sévère ou d'hypertension crânienne, qui reçoivent des fortes doses de pentobarbital pour prévenir les lésions cérébrales.

3.2 Description des maladies visées

L'état de mal épileptique convulsif est défini comme une activité épileptique tonico-clonique généralisée et continue avec perte de la conscience pendant plus de 30 minutes, ou deux ou plusieurs crises successives sans reprise de conscience [Friedman, 2012].
On estime qu'un cas d'état de mal épileptique sur trois est réfractaire au traitement avec deux médicaments antiépileptiques différents, p. ex. une benzodiazépine (première ligne) et la phénytoïne (deuxième ligne) [Friedman *et al.*, 2012; Fisher, 2009]. Dans ces cas, le pentobarbital est indiqué [Friedman *et al.*, 2012]. Chez ces enfants, la morbidité globale (p. ex. désordres neurologiques nouvellement diagnostiqués) est estimée entre 10 % et 20 %, et la mortalité est rapportée entre 2,7 % et 8 % [Friedman *et al.*, 2012]. L'incidence annuelle estimée de l'état de mal épileptique chez les enfants varie entre 10 et 73 épisodes par 100 000 enfants [Friedman *et al.*, 2012], ce qui suggère 175 à 1278 épisodes au Québec annuellement (estimations basées sur les données du recensement de 2011).

Le traumatisme crânien est une cause majeure de décès chez les enfants et les adolescents en Amérique du Nord et il est souvent associé à des traumatismes multiples et des lésions du rachis cervical [Vavilala *et al.*, 2013]. L'incapacité qui en résulte est significative et elle est liée à la gravité des blessures [Vavilala *et al.*, 2013; Michaud *et al.*, 1992].
La physiopathologie de traumatismes crâniens sévères implique un dommage direct au cerveau et un œdème cérébral qui se produit généralement de 24 à 72 heures après le traumatisme [Vavilala *et al.*, 2013]. Des convulsions peuvent également survenir après le traumatisme. Les barbituriques sont indiqués dans certains cas pour réduire la pression intracrânienne. Les directives pédiatriques canadiennes pour le traumatisme crânien aigu

[Farrell *et al.*, 2013] renvoient à celles indiquées pour le traitement de l'état de mal épileptique convulsif dans le cas de convulsions post-traumatiques. L'estimation actuelle sur l'incidence des traumatismes crâniens pédiatriques sévères au Québec n'est pas précise. Selon le Dr Gilles Bourgeois (médecin-conseil, équipe de traumatologie, INESSS[77]), on recense entre 275 et 300 traumatismes crâniens sévères par année au Québec (enfants, adolescents et adultes).

3.3 Nombre de patients visés

Selon le demandeur, le nombre de patients visés pour le Québec varie entre 30 et 50 par an.

Puisque cette analyse sera utilisée pour le suivi thérapeutique, il est probable que plus d'une analyse sera faite pour chaque patient. Une étude datant de 1986 décrit la surveillance des concentrations plasmatiques de pentobarbital chez 16 patients hospitalisés en soins intensifs et souffrant d'hypertension intracrânienne [Heinemeyer *et al.*, 1986]. En moyenne, ces patients ont été testés douze fois pendant leur traitement. Si le suivi pour l'épilepsie est le même, le nombre d'analyses attendu variera entre 360 et 600 par an.

Puisque le centre demandeur n'est pas le seul établissement qui traite l'épilepsie rebelle et le traumatisme crânien et que le pentobarbital peut être utilisé aussi dans ces indications chez les adultes, il existe une possibilité que cette analyse puisse être réalisée par d'autres centres si elle est incluse dans le répertoire.

L'utilisation du pentobarbital au Québec n'est pas connue. À l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal[78], on n'a pas fait ce test depuis plus de cinq ans; les échantillons sont envoyés au CHU Sainte-Justine pour analyse. Les seuls autres centres qui pourraient potentiellement utiliser les dosages de pentobarbital sont l'Hôpital de l'Enfant-Jésus du CHU de Québec, l'Hôpital général de Montréal et l'Institut et hôpital neurologiques de Montréal.

Chez les enfants, la majorité des cas d'hypertension crânienne sont associés à un traumatisme crânien [Brasher et Tasker, 2013]. Chez les adultes, il existe de multiples causes d'hypertension crânienne, y compris les lésions intracrâniennes (p. ex. tumeur, hématome), l'œdème cérébral, l'augmentation du liquide céphalorachidien, la diminution de l'absorption du liquide céphalorachidien, l'hydrocéphalie obstructive, l'obstruction de l'écoulement veineux, ou la condition peut être idiopathique [Smith et Amin-Hanjani, 2013].

3.4 Spécialités médicales concernées (et autres professionnels, le cas échéant)

Intensivistes, traumatologues, neurologues, neurochirurgiens, anesthésistes, pharmaciens, inhalothérapeutes.

3.5 Modalités d'administration du test

Le prélèvement est effectué à l'hôpital à l'aide d'une ponction veineuse.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

77. Communication personnelle le 5 septembre 2013.
78. Dr François Bédard, communication personnelle le 15 septembre 2013.

Au Québec, la fréquence d'utilisation du dosage du pentobarbital pour traiter les patients souffrant d'un traumatisme crânien ou d'épilepsie réfractaire n'est pas connue.
Le médicament ne se trouve pas sur la liste des médicaments couverts par le régime public du Québec ni dans les formulaires de couverture publique des provinces canadiennes. En outre, le médicament n'est pas approuvé par Santé Canada et il est disponible uniquement par le Programme d'accès spécial [Santé Canada]. Ce programme ne fournit pas de données sur l'utilisation des médicaments à accès spécial.

La prise de position de l'Association canadienne de pédiatrie (ACP) pour la gestion de l'état de mal épileptique convulsif [Friedman *et al.*, 2012] indique que le pentobarbital peut être utilisé dans les cas réfractaires, mais l'auteur note qu'il n'y a pas d'études randomisées publiées sur le sujet. Des dosages spécifiques de pentobarbital sont recommandés, mais les valeurs de référence ne sont pas mentionnées.

Les guides de pratique de l'ACP pour le traitement des enfants atteints d'un traumatisme crânien aigu [Farrell *et al.*, 2013] sont en accord avec les guides de pratique internationaux [Kochanek *et al.*, 2012] qui indiquent que les barbituriques à haute dose peuvent être considérés chez les patients ayant une hypertension intracrânienne réfractaire et qui sont hémodynamiquement stables (niveau de preuve faible : deux études de séries de cas).
La surveillance des concentrations de pentobarbital n'est mentionnée dans aucun guide de pratique clinique consulté.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Une étude de cas rapporte un cas de toxicité du propylène glycol (un véhicule dans la formulation de plusieurs médicaments intraveineux, dont le pentobarbital) [Miller *et al.,* 2008]. La surveillance du pentobarbital dans le plasma peut prévenir la toxicité ou le surdosage qui peuvent causer la mort [Molina *et al.*, 2009].

4.4 Coût de la technologie et des options

Selon l'information fournie par le demandeur, la valeur pondérée de l'analyse serait de 87,08. On ne sait pas si le demandeur possède l'équipement pour réaliser le test HPLC. Selon sur une recherche non systématique sur Internet, le coût de cet équipement varie approximativement de 5 000 $ à 30 000 $ l'unité.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Ce test remplace le dosage du thiopenthal (code 30772). Le thiopenthal a été retiré du marché nord-américain en 2011 et il n'est pas approuvé par Santé Canada.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

La recherche documentaire n'a pas trouvé d'études qui ont évalué l'effet de ce test sur les patients en termes de morbidité, de mortalité ou de qualité de vie.

5.1.3 Valeur thérapeutique

Le test est destiné au suivi thérapeutique d'un médicament dont le surdosage peut avoir des conséquences graves pour le patient.

5.2 Validité clinique : aucune étude de la validité clinique n'été trouvée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

Une seule étude publiée par les chercheurs qui ont développé l'analyse fournit de l'information sur la validité analytique [Schmid et Wolf, 1989].

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

Coefficient de variation (CV)

Au cours d'une journée : < 3,7 % (8 échantillons; concentration de 20 µm ml^{-1}).

D'une journée à l'autre : 4,4 % (8 échantillons; concentration de 20 µm ml^{-1}).

Sensibilité et spécificité analytique

Sans la réaction photochimique, la longueur d'onde UV nécessaire pour la détection du pentobarbital est < 220 nm (nanomètres). Selon Schmid et Wolf [1989], l'absorbance induite photochimiquement permet de détecter le pentobarbital à une longueur d'onde de 270 nm avec une sensibilité 100 fois plus grande (0,2 µg ml^{-1}) et plus de spécificité en raison d'un effet de matrice moindre (détails non présentés) [Schmid et Wolf, 1989].

Aire versus concentrations

Le calcul de régression pour l'aire versus les concentrations de pentobarbital indique : intercept : - 0,02 µg ml^{-1}, pente : 1,572. Celui du thiopenthal était : intercept : - 0, 01 µg ml^{1}, pente : 4,439.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Les guides de pratique recensés n'abordent pas la question du suivi thérapeutique du pentobarbital par HPLC.

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

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

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

Le pentobarbital est un métabolite du thiopental. Le thiopental a été utilisé pour les mêmes indications au Canada jusqu'en 2011, quand il a été retiré du marché en raison de la controverse concernant son utilisation dans les exécutions aux États-Unis. Le pentobarbital n'est pas approuvé par Santé Canada, et son utilisation thérapeutique est actuellement contrôlée par le Programme d'accès spécial de Santé Canada.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Analyse utile pour le suivi thérapeutique d'un traitement de dernier recours, qui est potentiellement toxique, dans des cas d'épilepsie réfractaire et de traumatisme crânien sévère.

7.2 Validité clinique : pas de données.

7.3 Validité analytique : très peu d'information qui suggère une bonne sensibilité et spécificité analytiques.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Aucune ligne directrice sur l'utilisation du test dans la surveillance du traitement avec le pentobarbital n'a été trouvée.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Détection du pentobarbital par chromatographie liquide à haute performance

Le statut de la technologie diagnostique

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

La recommandation de l'INESSS

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

  Il n'y a pas des données sur la validité clinique et peu d'information est disponible sur la validité analytique.

  L'analyse « Barbituriques (Autre que bandelette) (Quantitatif) » *est déjà dans le Répertoire (code 30620). Cette analyse inclut le pentobarbital et sa valeur pondérée est 6,6.*

  Il est difficile de justifier une nouvelle analyse dont la valeur pondérée est 87,08.
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

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

NOTE

Il faudrait enlever du Répertoire le code 30772 Thiopenthal (Penthotal®). Ce médicament n'est plus sur le marché.

RÉFÉRENCES

Bayliff CD, Schwartz ML, Hardy BG. Pharmacokinetics of high-dose pentobarbital in severe head trauma. Clin Pharmacol Ther 1985;38(4):457-61.

Brasher WK et Tasker RC. Elevated intracranial pressur (ICP) in children Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Farrell CA. Management of the paediatric patient with acute head trauma. Paediatr Child Health 2013;18(5):253-8.

Fisher RS. Refractory seizures. Epilepsy.com spotlight newsletter, april 2009. Disponible à : http://www.epilepsy.com/epilepsy/newsletter/apr09_refractory.

Friedman JN. Emergency management of the paediatric patient with generalized convulsive status epilepticus. Paediatr Child Health 2013;16(2):91-7.

Heinemeyer G, Roots I, Dennhardt R. Monitoring of pentobarbital plasma levels in critical care patients suffering from increased intracranial pressure. Ther Drug Monit 1986;8(2):145-50.

Kochanek PM, Carney N, Adelson PD, Ashwal S, Bell MJ, Bratton S, et al. Guidelines for the acute medical management of severe traumatic brain injury in infants, children, and adolescents--second edition. Pediatr Crit Care Med 2012;13(Suppl 1):S1-82.

Michaud LJ, Rivara FP, Grady MS, Reay DT. Predictors of survival and severity of disability after severe brain injury in children. Neurosurgery 1992;31(2):254-64.

Miller MA, Forni A, Yogaratnam D. Propylene glycol-induced lactic acidosis in a patient receiving continuous infusion pentobarbital. Ann Pharmacother 2008;42(10):1502-6.

Molina DK, McCutcheon JR, Rulon JJ. Head injuries, pentobarbital, and the determination of death. Am J Forensic Med Pathol 2009;30(1):75-7.

Santé Canada. Programme d'accès spécial. Ottawa, ON : Santé Canada; 2005. Disponible à : http://www.blood.ca/CentreApps/Internet/UW_V502_MainEngine.nsf/resources/Customer+Letters/$file/CL-2005-14_SAP-Table_(2006-06-12)_fr.pdf.

Schmid RW et Wolf C. Simultaneous determination of thiopental and its metabolite, pentobarbital, in blood by high-performance liquid chromatography and post-column photochemical reaction. J Pharm Biomed Anal 1989;7(12):1749-55.

Smith ER et Amin-Hanjani S. Evaluation and management of elevated intra-cranial pressure in adults. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Stecker MM. Status epilpeticus in adults. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Vavilala MS, Waitayawinyu P, Dooney NM. Initial approach to severe traumatic brain injury in children. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : http://www.uptodate.com.

Ward JD, Becker DP, Miller JD, Choi SC, Marmarou A, Wood C, et al. Failure of prophylactic barbiturate coma in the treatment of severe head injury. J Neurosurg 1985;62(3):383-8.

Wermeling DP, Blouin RA, Porter WH, Rapp RP, Tibbs PA. Pentobarbital pharmacokinetics in patients with severe head injury. Drug Intell Clin Pharm 1987;21(5):459-63.

Wolf C et Schmid RW. Enhanced UV-detection of barbituates in HPLC analysis by on-line photochemical reaction. Journal of Liquid Chromatography 1990;13(1):2207-16.

DOSAGE DE L'ACTIVITE ANTI-IIA DIRECT DU DABIGATRAN (RÉFÉRENCE - 2013.02.010)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 18 juin 2012

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1er juillet 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 31 octobre 2013

Mise en garde

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

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Le demandeur utilise la trousse commerciale Hemoclot® Thrombin Inhibitors. Cette technologie permet le dosage quantitatif du dabigatran et d'autres inhibiteurs directs de la thrombine (DTI) (hirudine et argatroban) par inhibition d'une quantité constante et définie de thrombine.

De plus, le demandeur utilise les trousses assorties Dabigatran Plasma Calibrator et Dabigatran Control Plasma conçues respectivement pour l'étalonnage et le contrôle de la qualité.

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

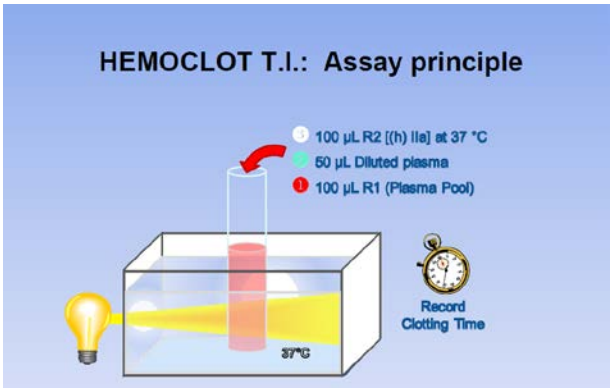
Le dabigatran est un anticoagulant oral approuvé par Santé Canada en octobre 2010 pour la prévention de l'accident vasculaire cérébral et de l'embolie systémique chez les adultes souffrant de fibrillation auriculaire et pour qui l'anticoagulation systémique est indiquée . Il est aussi indiqué [APhC, 2013], depuis 2008, pour la prévention de la thromboembolie veineuse chez les patients ayant subi une arthroplastie élective totale de la hanche ou du genou [APhC, 2013]. Le dabigatran est un puissant inhibiteur direct, compétitif et réversible de la thrombine [APhC, 2013; Stangier et Clemens, 2009],. Comme tous les anticoagulants, le dabigatran est associé à des hémorragies : 2 367 notifications d'hémorragies graves et 542 décès en 2011, d'après les statistiques de la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis. On peut limiter le risque d'hémorragie en surveillant certaines situations comme l'insuffisance rénale, même légère, l'âge avancé ou le poids extrême [Prescrire, 2013; ISMP, 2012]. L'usage concomitant d'antiagrégants plaquettaires, dont l'aspirine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et de nombreux médicaments indiqués en cardiologie, augmente aussi le risque d'hémorragie [Prescrire, 2013]. Quoi qu'il en soit, le dosage du dabigatran n'est généralement pas requis, sauf dans des situations précises comme en préparation d'une chirurgie ou d'une intervention invasive [Garcia *et al.,* 2013]. Les

cliniciens pourraient être tentés de monitorer l'effet du dabigatran dans d'autres situations. Le niveau d'adhésion au traitement, la détection du surdosage ou du sous-dosage, l'accumulation ou l'identification de la cause de saignement en sont des exemples [Chin *et al*., 2013; Fawole *et al.,* 2013; Garcia *et al.,* 2013; Tripodi, 2013].

La technologie Hemoclot® Thrombin Inhibitors est une version modifiée du temps de thrombine impliquant une dilution des échantillons de plasma [Stangier et Feuring, 2012; van Ryn *et al.,* 2010] . Le temps de coagulation obtenu est fonction de la concentration du DTI à doser dans le plasma testé [HYPHEN , 2010] . La méthode peut être automatisée pour divers analyseurs présents sur le marché. Une adaptation de la méthode est d'ailleurs proposée sur le site du grossiste ANIARA pour l'analyseur automatisé BCSxP utilisé par le demandeur.

Des plasmas de calibration avec des concentrations croissantes en dabigatran doivent être utilisés pour étalonner la méthode de dosage (trousse Dabigatran Plasma Calibrator) [HYPHEN, 2012a] . L'utilisation de plasmas témoins adaptés, titrés en DTI à doser, permet de valider la courbe d'étalonnage et la réactivité homogène du dosage dans les différentes séries, pour un même lot de réactifs (trousse Dabigatran Control Plasma) [HYPHEN, 2012b] .

Figure 1 Dosage au moyen de la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors



Source: http://www.aniara.com/pdf/SS-ANIARA-HowtotestforDabigatran.pdf

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

2.4 Licence : ne s'applique pas.

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

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors a reçu l'homologation (numéro 84966) de Santé Canada le 24 janvier 2011. Cette trousse est pour usage diagnostic *in vitro* exclusivement.

2.7 Valeur pondérée : 20,0.

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

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par le requérant sont ceux présentant un saignement grave tel qu'un saignement intracérébral ou lorsqu'une chirurgie urgente est envisagée chez un patient qui reçoit l'anticoagulant dabigatran.

3.2 Description de la maladie visée

L'analyse à l'étude ne vise pas une maladie spécifique, mais le suivi thérapeutique du dabigatran chez des patients qui répondent aux critères énoncés en 3.1.
La pharmacocinétique et la pharmacodynamique prévisibles du dabigatran font de ce médicament une solution alternative à la warfarine. Cependant, la rareté des preuves sur la méthode d'intervention à privilégier pour gérer un saignement majeur ou cliniquement important chez une personne sous dabigatran et l'absence d'antidote spécifique pour renverser son effet anticoagulant rendent plusieurs médecins réticents à le prescrire [Fawole *et al.,* 2013; Miyares et Davis, 2012].

3.3 Nombre de patients visés

Le requérant anticipait, en juin 2012, un volume provincial attendu d'environ 200 tests pour les 3 prochaines années. Ce nombre pourrait augmenter avec la croissance prévue de la prescription du dabigatran. D'après des analyses réalisées à l'INESSS, le nombre d'utilisateurs distincts de dabigatran chez les personnes assurées par le Régime public d'assurance médicaments était de 13 191 et de 20 206 respectivement en 2011 et en 2012 (résultats non publiés). Ce nombre atteint 19 321 pour les 7 premiers mois de 2013.
Le nombre d'analyses réalisées pourrait être plus élevé que celui envisagé par le demandeur en raison de l'augmentation de la prescription du dabigatran et d'un usage qui n'est pas limité qu'à des situations particulières comme en préparation d'une chirurgie ou d'une intervention invasive.

3.4 Spécialités médicales concernées (et autres professionnels, le cas échéant)

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

3.5 Modalités d'administration du test

Le sang (9 volumes) prélevé doit être collecté sur du citrate trisodique 0,109 mol/L (1 volume) [HYPHEN, 2010]. Le plasma est obtenu après 20 minutes de centrifugation à 2 500 g[79]. Le plasma citraté doit être utilisé dans les 8 heures s'il est maintenu à la température ambiante du laboratoire (18-25°ºC). On peut l'utiliser dans les 24 heures s'il est à 2-8°ºC. On peut attendre jusqu'à 6 mois pour utiliser le plasma citraté lorsqu'il a été

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

congelé à - 20 ºC ou moins. Les prélèvements suspects doivent tous être rejetés (ictérique, hémolysé, lipémique, etc.). Stangier et ses collaborateurs [2012] ont montré que les échantillons de plasma contenant du dabigatran étaient stables durant 24 heures à la température ambiante et à 4°ºC. De plus, ces échantillons ne montraient pas de variation du temps de coagulation après un à quatre cycles gel-dégel [Stangier et Feurig, 2012].

Le dosage est calibré avec le DTI à doser [HYPHEN, 2012a, 2010]. À ce jour, la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors est validée pour le dosage de l'Hirudine (Lépirudine/Refludan®), le dabigatran et l'Argatroban®. La zone de mesure pour le dabigatran est de 0,05 à 0,50 µg/ml en protocole gamme basse (usuelle). Les plasmas de calibration de la trousse Dabigatran Plasma Calibrator permettent de réaliser une courbe d'étalonnage pour la mesure des taux de dabigatran dans le plasma par méthode anti-IIa : lorsque la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors est utilisée selon le protocole gamme basse, le test est linéaire jusqu'à environ 500 ng/ml en méthode manuelle et sur STA-R. La courbe de calibration obtenue couvre les concentrations usuellement observées dans les cas des traitements avec dabigatran.

Les plasmas témoins de la trousse Dabigatran Control Plasma (niveaux 1 et 2) sont proposés pour le contrôle de la qualité de la courbe d'étalonnage établie pour les dosages de dabigatran dans le plasma [HYPHEN, 2012b, 2010]. Ils permettent la validation de la courbe d'étalonnage pour chaque série de dosages effectuée avec un même lot de réactifs. Si les résultats des contrôles sont en dehors de la marge acceptable, la série de dosages doit alors être invalidée et les analyses doivent être recommencées. Il faut bien contrôler tous les paramètres du système avant de recommencer la série.

La concentration du DTI mesurée doit être analysée par rapport à la posologie utilisée et au contexte clinique du patient [HYPHEN, 2012a]. En cas de résultat inattendu, il faut revérifier la concentration par un nouveau dosage et, si nécessaire, utiliser une autre méthode pour évaluer le degré d'hypocoagulabilité du patient.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

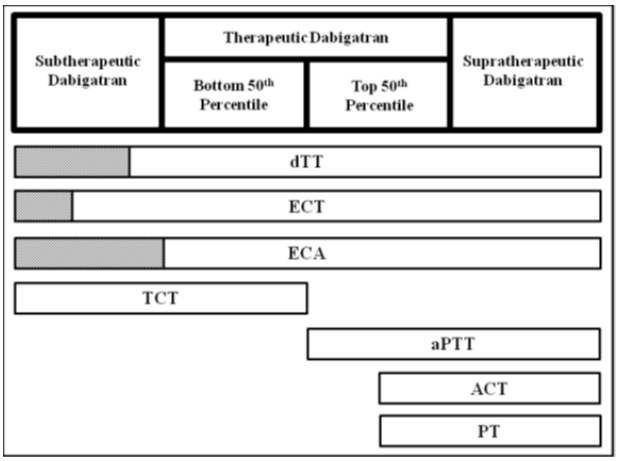
Divers tests de coagulation ont été évalués chez des volontaires jeunes et plus âgés et chez des personnes subissant une arthroplastie de la hanche ou souffrant de fibrillation auriculaire [Antovic *et al*., 2013; Hapgood *et al.,* 2013; Samama *et al.,* 2013; Stangier et Clemens, 2009]. Ces évaluations montrent que le dabigatran interfère avec les paramètres des tests de coagulation de routine [Garcia *et al.,* 2013; Tripodi, 2013; Douxfils *et al.,* 2012; Girard-Desbiens *et al.,* 2013]. Le ratio international normalisé (RIN), qui répresente le résultat standardisé du temps de prothrombine (PT), est trop peu sensible et par conséquent inutile pour évaluer l'activité anticoagulante du dabigatran [APhC, 2013; Garcia *et al.,* 2013; Douxfils *et al.,* 2012] . La variation de la sensibilité observée entre les laboratoires pour le temps de céphaline activée (TCA, équivalent anglais d'aPTT) et la trop grande sensibilité du temps de thrombine (TT) au dabigatran rendent difficile la formulation de recommandations générales pour ces deux tests de routine [Girard-Desbiens *et al.,* 2013]. Le TCA et le TT ont néanmoins une certaine utilité clinique pour le dosage qualitatif du dabigatran [Garcia *et al.,* 2013; Hawes *et al.,* 2013; Miyares et Davis, 2012; Stangier et

Clemens, 2009]. Le TCA est utile pour détecter des concentrations élevées et le TT peut détecter des concentrations faibles de dabigatran, tel que schématisé à la page suivante.

Présentement, l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors est parmi les tests les plus sensibles pour évaluer la concentration du dabigatran [Douxfils *et al.,* 2012] . De plus, ce test d'usage simple et automatisable montre une excellente reproductibilité et une corrélation linéaire à toutes les doses [Douxfils *et al.,* 2012 ; Stangier et Feuring, 2012]. Pour toutes ces raisons, certains le considèrent comme le test de référence pour le dosage du dabigatran [Hapgood *et al.,* 2013 ; Douxfils *et al.,* 2012] . Certains auteurs suggèrent d'utiliser le TCA avant l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors comme test de détection pour évaluer le risque de surdosage [Douxfils *et al.,* 2012 ; Messier et Lapierre, 2011] , par exemple chez un patient qui fait une hémorragie [Miyares et Davis, 2012 ; Australia Government, 2011]. Un TCA de plus de 80 secondes tout juste avant la prochaine dose serait alors associé à un risque plus élevé de saignement [Messier et Lapierre, 2011]. Par ailleurs, l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors performe mal à moins de 50 ng/ml. Les limites précisées par le fabricant pour la quantification (100 ng/ml) et la détection (30 ng/ml) sont supérieures à celles obtenues à l'occasion d'une récente étude, soit respectivement de 53 et 22 ng/ml [Douxfils *et al.,* 2013].

Deux autres tests permettent de mesurer l'effet du dabigatran. Le temps d'écarine (ECT ou test de coagulation à l'écarine) est un test spécifique pour la formation de la thrombine. Ce test permet une mesure directe de l'activité des DTI [van Ryn *et al.,* 2010]. Quoique l'ECT ait été recommandé par certains auteurs pour doser le dabigatran [Tripodi, 2013; Miyares et Davis, 2012], ses résultats sont influencés par le niveau de fibrinogène et de thrombine dans le plasma [Fawole *et al.,* 2013]. Le dosage de l'écarine par la méthode chromogène (*ecarin chromogenic assay* ou ECA) est une amélioration du temps d'écarine (méthode courante). Ce test n'est pas influencé par le niveau de fibrinogène et de prothrombine et il a aussi l'avantage d'être automatisable [Fawole *et al.,* 2013]. Le dosage de l'écarine par la méthode chromogène n'est habituellement pas utilisé en milieu clinique pour évaluer l'effet des DTI . La trousse commerciale Biophen® DTI d'HYPHEN BioMed permettant le dosage des DTI par méthode chromogène n'a d'ailleurs qu'un usage réservé pour la recherche *in vitro* [HYPHEN, 2008]. De plus, aucune trousse n'est proposée de préférence par le grossiste ANIARA pour calibrer le test Biophen® DTI, contrairement à ce qui est fait pour l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors [HYPHEN, 2010, 2008].

Figure 2 Utilisation possible des tests selon la situation clinique



Source: [Hawes *et al.,* 2013]

Abréviations : dTT = *diluted thrombin time* (dTT = HTI), ECT = *ecarin clotting time*, ECA = *ecarin chromogenic assay*, TCT = TT, aPTT = *activated partial thromboblastin time*, ACT = *activated clotting time*, PT = *prothrombin time*.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La nouvelle analyse permet le dosage du dabigatran en situation d'urgence, comme une chirurgie urgente qui ne peut pas être retardée ou dans le cas d'une hémorragie, afin de déterminer la quantité résiduelle du dabigatran.

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

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

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Aucun autre test commercialement disponible actuellement ne permet le dosage quantitatif du dabigatran de façon valide et précise en milieu clinique.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique : ne s'applique pas.

5.1.3 Valeur thérapeutique

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

5.2 Validité clinique

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

5.3 Validité analytique (ou technique)

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

Précision

Le fabricant de la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors estime la variabilité intraessai à 2,2 % et interessai à 5,3 % selon la mesure de dispersion appelée coefficient de variation (CV) [HYPHEN, 2010].

À des concentrations de dabigatran de 100, 500 et 1500 nmol/l, la précision du dosage total (*total assay precision, within device or laboratory*) en termes de CV variait de 4,7 % à 12,0 % [Stangier et Feuring, 2012]. Ces pourcentages satisfont au critère d'acceptation de 15 % ou moins qui est appliqué lors de la validation de méthodes bioanalytiques vouées aux analyses pharmacocinétiques [Stangier et Feuring, 2012]. La précision entre deux essais (*between-run precision*) évaluée au moyen de la mesure du CV fluctuait de 4,0 % à 10,0 % [Stangier et Feuring, 2012]. Quant à la précision interessai (*between day*), le CV était de 8,3 % ou moins [Stangier et Feuring, 2012].

La répétabilité (*within-run precision*) mesurée par Stangier et ses collaborateurs à l'aide du CV était de 2,6 %, 3,1 % et 1,2 % respectivement à des concentrations de dabigatran de 100, 500 et 1500 nmol/l [Stangier et Feuring, 2012]. En comparaison, Douxfils et ses collaborateurs ont obtenu des valeurs inférieures pour la reproductibilité (1,0 %) de même que pour la variabilité intra (0,9 %) et inter (2,5 %) essai [Douxfils *et al.,* 2012] .

Sensibilité analytique

La méthode Hemoclot® Thrombin Inhibitors, utilisée en gamme basse pour mesurer le dabigatran dans le plasma, a une sensibilité d'environ ≤ 20 ng/ml [HYPHEN, 2012a]. Douxfils et ses collaborateurs ont estimé la sensibilité de ce test à 8 ng/ml .

Intervalle de concentrations

La trousse commerciale Dabigatran Plasma Calibrator permet d'obtenir une courbe de calibration allant de < 50 à 500 ng/ml [HYPHEN, 2012a]. La courbe de calibration obtenue couvre les concentrations usuellement observées au cours des traitements avec dabigatran. L'intervalle de concentration testé par Douxfils et ses collaborateurs incluait les valeurs de 53 ng/ml à 941 ng/ml [Douxfils *et al.,* 2012]. Les évaluations par Stangier et ses collaborateurs [2012] impliquaient des concentrations s'échelonnant de 50 nmol/l à 4000 nmol/l (23,58-1886 ng/ml). Il est peu probable que la concentration plasmatique des utilisateurs de dabigatran dépasse 2000 nmol/l [Stangier et Feuring, 2012].

Interférence et autres limites

L'activation du sang durant le prélèvement et la préparation du plasma peuvent être source d'interférence dans le dosage [HYPHEN, 2010]. Le fabricant suggère de rejeter tout prélèvement suspect (ictérique, hémolysé, lipémique, etc.). Aucune interférence significative (déficit ou excès des autres facteurs de la coagulation) n'a été décelée, ce qui est conforme au principe du test utilisant le plasma à tester dilué et un plasma substrat en excès. Une vigilance particulière est recommandée en présence de plasma présentant une hypocoagulabilité constitutionnelle ou acquise. Pour obtenir les performances optimales de la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors, il faut suivre scrupuleusement les instructions techniques. Chaque laboratoire doit établir et vérifier ses propres zones de travail, valeurs attendues et intervalles d'acceptation, dans les conditions exactes de travail (combinaison de DTI dosé, lots de réactifs et instruments utilisés) et pour son application spécifique.

Ni l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors ni l'ECA n'ont détecté de dabigatran chez 35 patients non traités avec le dabigatran ou traités avec un autre anticoagulant [Antovic *et al.,* 2013]. De plus, les résultats de ces deux tests n'ont pas été affectés par la déficience en facteur VIII, vWF, lupus anticoagulant, la warfarine à niveau thérapeutique (RIN 2-3) ou suprathérapeutique (RIN > 3), par l'héparine ou par les héparines de faible poids moléculaire [Antovic *et al.,* 2013].

Effet de matrice (*matrix effect*)

Le temps moyen de coagulation était de 36,2 s (35,6-37,0), 63,8 s (62,1-65,1) et de 110 s (100,9-117,3) à des concentrations de dabigatran respectivement de 100, 500 et 1500 nmol/l [Stangier et Feuring, 2012]. Le CV correspondant aux précédentes mesures était de 1,6 % à des concentrations de dabigatran de 100 et 500 nmol/l et de 5,2 % à 1500 nmol/l [Stangier et Feuring, 2012].

Méthode de Bland-Altman

Globalement, l'écart rapporté entre les dosages faits par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC-MS/MS) et l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors selon la méthode de Bland et Altman était en moyenne de 9 ng/ml avec un intervalle de confiance à 95 % de ± 20 ng/ml [Douxfils *et al.,* 2013]. Ces statistiques étaient moins bonnes à une concentration ≤ 100 ng/ml de dabigatran (différence moyenne de - 12 ng/ml (écart type de 9 ng/ml et intervalle de confiance à 95 % de - 29 à 4 ng/ml).

Corrélation entre le test et le comparateur

La courbe d'étalonnage de la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors est valide lorsque la linéarité (coefficient de détermination $r^2 \geq 0,98$) et les concentrations obtenues pour les contrôles entrent dans la zone d'acceptation [HYPHEN, 2010]. À partir de l'équation de la droite de régression[80], le calcul à rebours de la concentration des échantillons de dabigatran de 100, 500 et 1500 nmol/l était respectivement, en moyenne, de 79,3 nmol/l (IC à 95 % : de 68,1 à 90,5), 568,3 nmol/l (IC à 95 % : de 508,6 à 628,0) et 1583,3 nmol/l (IC à 95 % : de 1488,6 à 1678,0) [Stangier et Feuring, 2012]. Par conséquent, le biais moyen en pourcentage (%) était de - 20,7 à 100 nmol/l, + 13,7 à 500 nmol/l et + 5,6 à 1500 nmol/l .

80. Concentration de dabigatran (nmol/l) = - 538,6 + 18,55 x temps de coagulation en secondes
Le r^2 de cette équation est de 0,99.

La LC-MS/MS a été utilisée comme étalon or pour valider les résultats de la trousse Hemoclot® Thrombin Inhibitors et du test ECA . La corrélation entre la concentration de dabigatran déterminée par LC-MS/MS et celle par Hemoclot® Thrombin Inhibitors (r^2 = 0,97) ou ECA (r^2 = 0,96) était excellente. L'ECA avait tendance à surestimer la concentration de dabigatran. À basse concentration (30-50 ng/l), l'ECA performait mieux que l'Hemoclot® Thrombin Inhibitors. Douxfils et ses collaborateurs ont obtenu la même corrélation entre la concentration de dabigatran déterminée par LC-MS/MS et celle par Hemoclot® Thrombin Inhibitors (r^2 = 0,97) .

Stangier et ses collaborateurs [2011]ont aussi évalué la validité du test *HEMOCLOT Thrombin Inhibitors* en utilisant la LC-MS/MS comme étalon or . À l'occasion de cette étude, 100 échantillons à une concentration faible ou élevée de dabigatran ont été testés. L'écart moyen de la mesure par Hemoclot® Thrombin Inhibitors par rapport à l'étalon or était de 14 % à 122 ng/ml. Cet écart diminuait à - 0,08 % à 285 ng/ml. Selon ces résultats, la validité du test Hemoclot® Thrombin Inhibitors n'est acceptable que pour les concentrations élevées de dabigatran [Stangier *et al.,* 2011].

5.4 Recommandations d'autres organismes

En 2012, Douxfils et ses collaborateurs rapportaient qu'aucun guide clinique n'avait encore statué sur la méthode de dosage du dabigatran à privilégier [Douxfils *et al.,* 2012].
Les autorités australiennes ont néanmoins recommandé en 2011 l'utilisation du test TCA pour exclure le risque de saignement associé à l'usage du dabigatran [Douxfils *et al.,* 2012 ; Australian Government, 2011]].

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

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

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

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

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Seul test valide et précis disponible commercialement, facilement étalonnable et conçu pour le dosage quantitatif du dabigatran en milieu clinique.

7.2 Validité clinique : aucune étude disponible, à notre connaissance.

7.3 Validité analytique : très bonne.

7.4 Recommandation d'autres organismes

Aucun guide clinique n'a statué sur la méthode à privilégier pour le dosage du dabigatran.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage de l'activité anti-iia direct du dabigatran

Le statut de la technologie diagnostique

- ☐ Établie
- ☒ Innovatrice : la technique est établie, son application au dabigatran est innovatrice.
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie_____qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction

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

  La production des données cliniques prendra du temps. Le besoin de contrôler les effets secondaires graves du dabigatran est impératif, et il s'agit du seul test valide et précis disponible commercialement, facilement étalonnable et conçu pour le dosage quantitatif du dabigatran en milieu clinique.

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

Recommandation additionnelle

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

RÉFÉRENCES

Antovic JP, Skeppholm M, Eintrei J, Boija EE, Soderblom L, Norberg EM, et al. Evaluation of coagulation assays versus LC-MS/MS for determinations of dabigatran concentrations in plasma. Eur J Clin Pharmacol 2013;69(11):1875-81.

Association des pharmaciens du Canada (APhC). Pradaxa[MC] dabigatran etexilate [ressource électronique]. Dans : e-CPS : Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques. Ottawa, ON : APhC; 2013. Disponible à : http://www.e-therapeutics.ca (consulté le 9 septembre 2013).

Australia Government. Australian public assessment report for dabigatran etexilate mesilate. Woden, Australie : Therapeutic goods administration; 2011. Disponible à : http://tga.gov.au/pdf/auspar//auspar-pradaxa.pdf (consulté le 31 juillet 2013).

Chin PKL, Barclay ML, Begg EJ. Rifampicin and dabigatran etexilate: A place for laboratory coagulation monitoring. Br J Clin Pharmacol 2013;75(2):569-70.

Douxfils J, Dogne JM, Mullier F, Chatelain B, Ronquist-Nii Y, Malmstrom RE, Hjemdahl P. Comparison of calibrated dilute thrombin time and aPTT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with dabigatran etexilate. Thromb Haemost 2013;110(3):543-9.

Douxfils J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogne JM. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. Laboratory recommendations for monitoring of dabigatran etexilate. Thromb Haemost 2012;107(5):985-97.

Fawole A, Daw HA, Crowther MA. Practical management of bleeding due to the anticoagulants dabigatran, rivaroxaban, and apixaban. Cleve Clin J Med 2013;80(7):443-51.

Garcia D, Barrett YC, Ramacciotti E, Weitz JI. Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the next generation of oral anticoagulants. J Thromb Haemost 2013;11(2):245-52.

Girard-Desbiens C, Nadeau C, Blais N. Can common coagulation assays be used to estimate dabigatran or rivaroxaban concentration? An interlaboratory comparison of 41 hospitals in Quebec. 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, ASH. Blood 2012;120(21):abstract 2271.

Hapgood G, Butler J, Malan E, Chunilal S, Tran H. The effect of dabigatran on the activated partial thromboplastin time and thrombin time as determined by the Hemoclot thrombin inhibitor assay in patient plasma samples. Thromb Haemost 2013;110(2):308-15.

Hawes EM, Deal AM, Funk-Adcock D, Gosselin R, Jeanneret C, Cook AM, et al. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran: A cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels. J Thromb Haemost 2013;11(8):1493-502.

HYPHEN BioMed. Dabigatran plasma calibrator. Ref A222801. Calibration plasmas for the assay of dabigatran with anti-IIa method West Chester, OH : Aniara; 2012. Disponible à : http://www.aniara.com/pdf/INS-A222801.pdf (consulté le 27 juillet 2013).

HYPHEN BioMed. Dabigatran control plasma. Ref A224701. Human plasmas at two levels of dabigatran for the quality control of dabigatran measurements with anti-IIa method West Chester, OH : Aniara; 2012. Disponible à : http://www.aniara.com/pdf/INS-A224701.pdf (consulté le 27 juillet 2012).

HYPHEN BioMed. HEMOCLOT thrombin inhibitors ACK002L. Clotting assay for the quantitative measurement of hirudin and other direct thrombin inhibitors in plasma West Chester, OH : Aniara; 2010. Disponible à : http://www.aniara.com/pdf/INS-ACK002L.pdf (consulté le 27 juillet 2013).

HYPHEN BioMed. BIOPHEN DTI. Ref. A220202. Quantitative determination of direct thrombin inhibitors (DTI) with a chromogenic method. West Chester, OH : Aniara; 2008. Disponible à : http://www.aniara.com/pdf/INS-A220202.pdf (consulté le 27 juillet 2013).

Institute for safe medication practices (ISMP). Anticoagulants the leading reported drug risk in 2011. Horsham, PA : ISMP; 2012. Disponible à : http://www.ismp.org/quarterwatch/pdfs/2011Q4.pdf (consulté le 31 juillet 2013).

Messier K et Lapierre M. Le dabigatran (Pradax) une question de bon sang!. Le Médecin du Québec 2011;46(7):59-63.

Miyares MA et Davis K. Newer oral anticoagulants: a review of laboratory monitoring options and reversal agents in the hemorrhagic patient. Am J Health Syst Pharm 2012;69(17):1473-84.

Revue Prescrire. Saignement sous dabigatran, rivaroxaban ou apixaban. La Revue Prescrire 2013;33(353):202-6.

Samama MM, Guinet C, Le Flem L, Ninin E, Debue JM. Measurement of dabigatran and rivaroxaban in primary prevention of venous thromboembolism in 106 patients, who have undergone major orthopedic surgery: an observational study. J Thromb Thrombolysis 2013;35(2):140-6.

Stangier J et Clemens A. Pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of dabigatran etexilate, an oral direct thrombin inhibitor. Clin Appl Thromb Hemost 2009;15(Suppl 1):9S-16S.

Stangier J, Eriksson BI, Huo MH, Friedman RJ, Dahl OE, Feuring M. Validation of the HEMOCLOT direct thrombin inhibitor assay for dabigatran by comparison with a validated LC-MS/MS method in plasma samples from patients after major orthopaedic surgery. Conference: 53rd Annual Meeting of the American Society of Hematology, ASH. Blood 2011;118(21):abstract 2307.

Stangier J et Feuring M. Using the HEMOCLOT direct thrombin inhibitor assay to determine plasma concentrations of dabigatran. Blood Coagul Fibrinolysis 2012;23(2):138-43.

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

van Ryn J, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld KH, Wienen W, Feuring M, Clemens A. Dabigatran etexilate--a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. Thromb Haemost 2010;103(6):1116-27.