

DOSAGE DE L'ACTIVITÉ D'ADAMTS-13 PAR LA MÉTHODE FRET (FLUORESCENCE RESONANCE ENERGY TRANSFERT)

1 INFORMATIONS GÉNÉRALES

1.1 Société, établissement ou organisme demandeur :

Service d'hématologie-oncologie, CHU Sainte-Justine.

1.2 Date de demande d'examen : 14 juin 2012

1.3 Date l'avis : 2 avril 2013

Mise en garde :

Le présent avis est fondé sur les informations scientifiques et commerciales [déposées par le(s) demandeur(s) 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(S)

2.1 Nom de la technologie :

FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfert ou transfert d'énergie de fluorescence par résonance).

2.2 Description brève de la technologie :

L'analyse consiste à prélever du sang sur anticoagulant (citrate de sodium, 3,2 %), à séparer et à récolter le plasma du sang total par centrifugation en deux étapes. Le plasma recueilli du patient est dilué avec un diluant fourni par la compagnie. Des contrôles positifs haut et bas non dilués sont également fournis et prêts pour usage. Un fragment synthétique de la protéine du facteur de von Willebrand est utilisé comme substrat. Ce dernier, fourni par la compagnie sous forme lyophilisée, devra être reconstitué sous forme liquide et ajouté dans les puits d'une plaque contenant les différents échantillons qui sera placée dans un fluoromètre. En présence de la protéase ADAMTS-13, le substrat de synthèse sera clivé entre deux résidus modifiés, libérant un fluorophore qui, après excitation entre 340 nm et 350 nm, émet une fluorescence entre 440 nm et 450 nm. Dans le document de la compagnie GTI DIAGNOSTICS, révisé le 11 août 2010, il est précisé que ce test est utilisé en recherche seulement. La valeur normale de référence du laboratoire d'ADAMTS-13 est $\geq 67\%$ (information fournie par le demandeur).

2.3 Société ou développeur :

Le demandeur utilise le protocole ATS-13 *activity* du système Synergy 4 (trousse de dosage GTI DIAGNOSTICS® édition août 2010).

2.4 Licence(s) :

2.5 Brevet, le cas échéant :

2.6 Statut d'homologation (*Santé Canada, FDA*) :

La trousse GTI n'a pas d'homologation par Santé Canada. La compagnie nous informe qu'elle est identifiée « Research Use Only »¹.

2.7 Valeur pondérée :

Selon le demandeur, la valeur pondérée de la nouvelle analyse est de 304,0.

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

3.1 Patients ciblés :

Patients porteurs de signes cliniques évocateurs du purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), soit anémie hémolytique mécanique avec présence de schizocytes², thrombopénie périphérique, signes d'ischémie multiviscérale (atteintes neurologique et/ou rénale).

3.2 Description de la ou des maladies visée(s) :

ADAMTS-13 est une métalloprotéase³ dont le rôle est de limiter la formation d'un agrégat plaquettaire lors d'une brèche vasculaire en procédant au clivage spécifique des multimères de haut poids moléculaire du facteur von Willebrand⁴. Dans 90 % des cas, un déficit sévère en ADAMTS-13 (activité < 10 %) est responsable du purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), qui fait partie du syndrome de microangiopathie thrombotique⁵ [Coppe, 2011; Veyradier *et al.*, 2011]. Le PTT associe cliniquement une anémie hémolytique mécanique⁶, une thrombopénie périphérique et une atteinte multiviscérale sous forme d'ischémie notamment aux niveaux rénale et cérébrale. Devant un tableau clinique peu spécifique, le diagnostic précoce du PTT est difficile à obtenir et, en absence de traitement, le pronostic est grave [Coppe, 2011; Veyradier *et al.*, 2011] avec un taux de mortalité de 85 % à 100 % [Just, 2010].

¹ Communication par courriel de madame Carole Lamanna, Technical Support Specialist/Conseillère technique, Inter Medico, Ontario, le 30 janvier 2013.

² Globules rouges fragmentés visualisés sur frottis de sang périphérique.

³ ADAMTS-13 : 13^e protéine de la famille ADAMTS (A Disintegrin-like And Metalloprotease with ThromboSpondin-1 repeats).

⁴ Le facteur de von Willebrand (FvW) est une glycoprotéine circulant sous forme de multimères, synthétisée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. Le FvW est présent dans le plasma, les granules α (alpha) des plaquettes, les cellules endothéliales et le sous-endothélium. Son rôle est l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium (hémostase primaire) et l'agrégation des plaquettes.

⁵ Syndrome causé par la présence de microthrombus obstruant la microcirculation.

⁶ Présence de schizocytes (globules rouges fragmentés).

3.3 Nombre de patients visés :

Selon les prévisions du demandeur, une progression rapide du volume provincial annuel permettra d'atteindre environ 200 tests par année au Québec dans trois ans.

3.4 Spécialités médicales concernées (et autres professionnels, le cas échéant) :

Le PTT est pris en charge par l'hématologue et le dosage de l'activité protéolytique du ADAMTS-13 relève de la biologie médicale spécialisée (suprarégionale).

3.5 Modalités d'administration du test :

Lors d'une suspicion clinique de PTT, le dosage de l'activité protéolytique d'ADAMTS-13 est réalisé à partir d'un échantillon plasmatique.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique :

Cette analyse est unique. Le seul dosage quantitatif enregistré dans le répertoire québécois 2012-2013 est celui de l'antigène ADAMTS-13 par méthode ELISA (code 20146).

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle :

La technique actuellement utilisée est la mesure de l'antigène ADAMTS-13 par méthode ELISA utilisant des anticorps anti-ADAMTS-13 polyclonaux ou monoclonaux. Plusieurs essais immunologiques utilisant cette méthode sont disponibles pour quantifier les taux plasmatiques d'ADAMTS-13. Ces essais varient dans leur capacité à faire la distinction entre les différents isoformes d'ADAMTS-13 (molécule entière, mutée). De plus, on ne sait pas comment le dosage quantitatif de ces antigènes peut être affecté par la présence d'auto-anticorps libres et de complexes immuns [Peyvandi, 2010].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie :

Procédure simple ne nécessitant pas de réactifs spécifiques, excepté un équipement de spectrométrie à fluorescence, et les résultats de l'analyse quantitative sont disponibles en une heure [Kokame, 2005].

4.4 Le coût de la technologie et des options : pas analysé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 La pertinence clinique (validité et utilité cliniques) et la validité analytique

5.1.1 Remplacement d'un autre test : aucun.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique :

Le diagnostic du PTT est complexe en raison de l'absence de signes cliniques et biologiques peu spécifiques. Par contre, un déficit sévère de l'activité ADAMTS-13 est dans la majorité des cas (90 %) spécifique du PTT, permettant un diagnostic rapide et un traitement adapté [Veyradier, 2011].

5.1.3 Valeur thérapeutique : s.o.

5.2 Validité clinique

Termes	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	

Sensibilité et spécificité

Parmi les études analysées, une seule précise la sensibilité et la spécificité de la méthode FRET [Groot *et al.*, 2006]. Les résultats indiquent que cette méthode peut détecter l'absence de l'activité d'ADAMTS-13 avec une sensibilité de 89 % (24/27) et une spécificité de 100 %. Des résultats similaires ont été obtenus avec « proteolytic multimer assay » (100 % concordance).

5.3 Validité analytique (ou technique)

Termes	Présence	Absence	Sans objet
Répétabilité	x		
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique		x	
Spécificité analytique		x	
Effet de matrice			x
Concordance	x		
Corrélation	x		
Autres selon le type de test			

Reproductibilité et précision

Tableau 1 Précision de la méthode FRET exprimée en coefficient de variation

Étude	N	Activité ADAMTS-13 des échantillons testés	CV	
			inter-essai (%)	intra-essai (%)
Palla, 2011	72 volontaires sains	Valeurs normales : 45 %-147 %	9,5	6
Crist et Rodgers, 2009	29 PTT*	Activité : 20,8 %	17,6	30,3
		Activité : 46,9 %	7,6	9,6
		Activité : 70,5 %	5,7	8,0
Tripodi, 2008	2 PTT et 4 volontaires sains†	Activité : 0 %‡	60	NR
		Activité : entre 5 % et 20 %‡	Entre 10 et 30	
		Activité entre 40 % et 100 %‡	≤ 10	
		Activité : 5 %§	Entre 10 et 20	
Kremer Hovinga, 2006	30 PTT acquis et héréditaires	Activité entre 10 % et 20 %	< 10	NR
		Activité : 40 %§	Entre 10 et 20	
Shelat, 2006	40 PTT	Activité : 100 %§	< 10	
Kokame, 2005	3 échantillons¶	Échantillon 3 : 2,3% ± 1,4 %	6,3	NR
		Échantillon 2 : 62,5 % ± 2,1 %	3,4	
		Échantillon 1 : 113,9 % ± 2,4 %	2,1	

Abréviations CV : coefficient de variation; CV intra-essai : valeurs de CV obtenues dans une série de mesures entreprises dans une même expérience; CV inter-essai : valeurs de CV obtenues dans une série de mesures entreprises par différents opérateurs; NR : non rapporté; PTT : purpura thrombotique thrombopénique.

* Six répétitions pour chaque niveau d'activité et séries avec la méthode ADAMTS-13 Activity Assay (GTI, Waukesha, WI).

† Mesures répétées (10 fois) pour chacun des six échantillons (mélange de plasmas de deux frères avec un diagnostic de PTT et quatre volontaires sains) pour chacune des méthodes.

‡ Méthode FRETS-VWF73 celle de Kokame, 2005 utilisée dans deux différents laboratoires et avec des réactifs différents.

§ Méthode FRETS-VWF73 modifiée par Kremer Hovinga, 2006.

|| CV moyen pour les trois mesures.

¶ L'activité ADAMTS-13 de trois échantillons a été mesurée sept fois pour chaque échantillon et l'activité du pool de plasma a été normalisée à 100 %.

La reproductibilité de la méthode FRET semble être meilleure avec les niveaux d'activité élevée (CV intra-essai et inter-essai < 10 %). Dans quelques études, la variation inter-essai est faible (≤ 6 %), quel que soit le substrat utilisé ou le niveau d'activité de ADAMTS-13 [Kremer Hovinga, 2006; Kokame, 2005]. Pour d'autres, comme Shelat et ses collaborateurs [2006] entre autres, la variation est généralement ≤ 20 %, sauf pour les échantillons à faible activité ADAMTS-13 pour lesquelles la variation peut aller jusqu'à 60 %. Ces résultats doivent être interprétés avec prudence en raison de la variabilité des différents niveaux de référence d'activité d'ADAMTS-13 décrits dans les études.

Limite de détection : 3 % [Palla, 2011].

Concordance clinique

La méthode de mesure de l'activité ADAMTS-13 utilisant le principe de la technique FRET présente une concordance clinique satisfaisante pour les niveaux d'activité d'ADAMTS-13 déficiente ou indétectable (tableau 2).

Tableau 2 Résultats des études sur la concordance clinique (%) entre deux méthodes de mesures

Étude	N	Méthodes de mesure	Concordance clinique selon les niveaux d'activité ADAMTS-13	Concordance clinique globale
Palla, 2011	400 MAT	FRET <i>versus</i> CBA full length : capacité de liaison du FVW entier au collagène résiduel	Activité > 10 % : 244 Activité ≤ 10 % : 115 Résultats discordants Activité ≤ 10 % : 41 (38 échantillons par la méthode FRET et 3 par la méthode CBA; p < 0,0001)	72 % 90 % : pour les niveaux d'activité non détectable
Kobayashi, 2007	38 PTT	FRET <i>versus</i> méthode multimétrique	Activité ADAMTS-13 (FRET) sur 37 cas : 0-20 % : 18/18 20-50 % : 4/11 > 50 % : 6/8	
Groot, 2006	79 PTT	FRET <i>versus</i> « proteolytic multimer assay »	Absence d'activité ADAMTS-13 (0 %) chez 24 patients par les 2 méthodes (concordance 100 %)	

Abréviations N : nombre de patients; MAT : microangiopathie thrombotique; PTT : purpura thrombotique thrombopénique.

La méthode de mesure de l'activité ADAMTS-13 utilisant la technique FRET présente une concordance satisfaisante avec d'autres méthodes pour les niveaux d'activité d'ADAMTS-13 déficiente ou indétectable (tableau 3).

Concordance technique

Une étude indique une surestimation des niveaux d'activité ADAMTS-13 par les deux kits commerciaux de 10,5 % à 16,5 % [Crist et Rodgers, 2009], ce qui n'est pas le cas pour Palla et ses collaborateurs [2011], qui obtiennent une sous-estimation de 8,9 %. Toutefois, ces différences moyennes doivent être interprétées pour les différents niveaux d'activité ADAMTS-13, ce qui n'est pas le cas dans ces études (tableau 3). En résumé, les données ne sont pas suffisantes pour se prononcer sur la concordance technique de la méthode FRET.

Tableau 3 Résultats des études sur la concordance technique (méthode de Bland-Altman)

Étude	N	Méthode de mesure	Différence moyenne (limites de la concordance)
Palla, 2011	400 MAT	FRET CBA full-length	-8,9 % (IC à 95 % de -11,2 % à -6,7 %) Limite de la concordance (-54,1 % à 36,2 %)
Crist et Rodgers, 2009	29 PTT probable	Kit GTI (FRET) Kit Technoclone LR	GTI <i>versus</i> LR : 10,5 Technoclone <i>versus</i> LR : 16,5

Abréviations : CBA : capacité de liaison du facteur von Willebrand entier (full-length); LR : Laboratoire de référence; MAT : microangiopathie thrombotique; n : nombre de patients; PTT : purpura thrombotique.

Corrélation entre la méthode FRET et les autres méthodes de mesure de l'activité ADAMTS-13

Globalement, une bonne corrélation entre les méthodes de mesure est observée dans sept études (tableau 4).

Tableau 4 Corrélation de la méthode FRETS-VWF73 avec les autres méthodes de mesure

Étude	N	Méthodes de mesure	Analyse de corrélation	Résultat	Valeur de <i>p</i>
Palla, 2011	400	FRET <i>versus</i> CBA full-length	Coefficient de Spearman	0,90	0,00001
Crist et Rodgers, 2009	29	Kit GTI* <i>versus</i> LR† Kit Technoclone‡ <i>versus</i> LR† Kit Technoclone‡ <i>versus</i> Kit GTI*	Coefficient de corrélation	0,82 0,91 0,82	< 0,0001 < 0,0001 n.d.
Tripodi, 2008	2 PTT et 4 VS	FRET§ FRET§ FRET (modifiée)¶	Coefficient de corrélation (<i>r</i> ²)	0,978 0,992 0,984	
Kobayashi, 2007	38	FRET <i>versus</i> méthode multimétrique	Coefficient de Pearson	0,816	< 0,001
Kremer Hovinga, 2006	30	FRET <i>versus</i> IRA FRET <i>versus</i> ALCoR FRET <i>versus</i> ALCR 1 FRET <i>versus</i> ALCR 2 FRET <i>versus</i> IMBA	Coefficient de Spearman	Entre 0,898 et 0,971	< 0,001
Mahdian, 2006	74¶	FRET <i>versus</i> IRA	Coefficient de corrélation	0,97	n.d.
Shelat, 2006	40	FRET <i>versus</i> CBA FRET <i>versus</i> GST-VWF73 assay	Coefficient de Pearson	0,83 0,73	n.d.

Abréviations : ALCR : activité de liaison au collagène résiduel; ALCoR : activité de liaison au cofacteur de la ristocétine résiduelle ; CBA full length : capacité de liaison du FVW entier (*full length*) au collagène résiduel; IMBA : immunoblotting assay IRA : immunoradiometric assay; VS : volontaires sains.

* ADAMTS-13 Activity Assay (GTI, Waukesha, WI) : méthode FRET.

† Laboratoire du *blood Center of Wisconsin* : méthode FRET.

‡ Technozym ADAMTS-13 ELISA kit (Technolone, Vienna, Austria) : méthode FRET.

§ Méthode FRETS-VWF73 de Kokame, 2005 utilisée dans deux différents laboratoires et avec des réactifs différents.

¶ Méthode FRETS-VWF73 modifiée par Kremer Hovinga, 2006

¶ 64 patients avec MAT et 10 volontaires sains.

5.4 Les recommandations favorables d'introduction dans les autres juridictions

Pas de littérature recensée.

6 RÉPERCUSSIONS À ANTICIPER DE L'INTRODUCTION ÉVENTUELLE DE L'ANALYSE

6.1 Impact sur les ressources matérielles et humaines : pas analysé.

6.2 Conséquences économiques d'une introduction dans le système de santé et de services sociaux québécois : pas analysées.

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

7 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage de l'activité d'ADAMTS-13 par la méthode FRET
(Fluorescence Resonance Energy Transfert)

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 :*

Dans un centre universitaire désigné avec **évaluation périodique de la méthode.**

☐ *Avis de refus d'introduction*

☐ *Avis de réévaluation*

La décision de l'INESSS quant aux travaux indiqués, le cas échéant :

☐ *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*

☐ *Aucun*

NOTE :

- Il s'agit de la méthode la plus sensible qui existe; il n'y a pas de meilleur test.
- Le besoin clinique est tellement important qu'il est justifié de l'introduire même si la validité clinique n'est pas complètement prouvée.

RÉFÉRENCES

- Coppo P. Microangiopathies thrombotiques : de la physiopathologie aux applications thérapeutiques. Centre de référence des microangiopathies thrombotiques Département d'Hématologie, Université Pierre et Marie Curie, Centre de Référence des Microangiopathies thrombotiques (CNR-MAT). Actualités néphrologiques 2011 (www.medecine.lavoisier.fr).
- Crist RA, Rodgers GM. A comparison of two commercial ADAMTS13 activity assays with a reference laboratory method. *Lab Medicine* 2009;40(4):232-5.
- Garizio DG, Wilgen U, Williams BA, Kennedy GA. Clinical utility of ADAMTS-13 testing in suspected thrombotic microangiopathy: an audit of ADAMTS-13 activity assay requests in routine practice from a tertiary hospital. *Pathology* 2012;44(7):638-41.
- Groot E, Hulstein JJ, et al. FRET-S-VWF73: a rapid and predictive tool for thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2006;4(3):698-9.
- Just S. Methodologies and Clinical Utility of ADAMTS-13 Activity Testing. *Semin Thromb Hemost* 2010;36(1):82-90.
- Kobayashi T, Wada H, Kamikura Y, Matsumoto T, Mori Y, Kaneko T, Nobori T, et al. Decreased ADAMTS13 activity in plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res* 2007;119(4):447-52.
- Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T. FRET-S-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* 2005;129(1):93-100.
- Kremer Hovinga JA, Mottini M, Lammle B. Measurement of ADAMTS-13 activity in plasma by the FRET-S-VWF73 assay: comparison with other assay methods. *J Thromb Haemost* 2006;4:1146-8.
- Mahdian R, Rayes J, Girma JP, Houllier A, Obert D, Meyer D, Veyradier A.. Comparison of FRET-S-VWF73 to full-length VWF as a substrate for ADAMTS13 activity measurement in human plasma samples. *Thromb Haemost* 2006;95(6):1049-51.
- Palla R, Valsecchi C, Bajetta M, Spreafico M, De Cristofaro R, Peyvandi F. Evaluation of assay methods to measure plasma ADAMTS13 activity in thrombotic microangiopathies. *Thromb Haemost* 2011;105(2):381-5.
- Shelat SG, Smith P, Ai J, Zheng XL. Inhibitory autoantibodies against ADAMTS-13 in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura bind ADAMTS-13 protease and may accelerate its clearance in vivo. *J Thromb Haemost* 2006;4(8):1707-17.
- Tripodi A, Peyvandi F, Chantarangkul V, Palla R, Afrasiabi A, Canciani MT et al. Second international collaborative study evaluating performance characteristics of methods measuring the von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13). *J Thromb Haemost* 2008;6(9):1534-41.
- Veyradier A, Wolf M, Stepanian A, Coppo P. ADAMTS13, la protéase spécifique de clivage du facteur von Willebrand. Education Médicale Continue (EMC), 2011 France, Elsevier Masson SAS