

AVIS

Mucopolysaccharides (Glycosaminoglycanes), fractionnement et quantification par LC-MS/MS

(Référence - 2017.02.001)

Transmission au ministre : 10 janvier 2018

Publication officielle : 12 mars 2018

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

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

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CIUSSS de l'Estrie-CHUS

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

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

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Monsieur Guy Fink et madame Suzanne Bédard n'ont pas participé aux délibérations et se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

Aux fins de validation du présent avis, les expertes consultées sont :

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

2 RÉSUMÉ

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

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

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

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

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

3. ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

1.1 Nom et objectif de l'analyse

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

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

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

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

1.2 Description de la méthode

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

La technique comporte trois étapes :

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

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

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

le cas présent, il s'agit d'une chromatographie à interaction hydrophile, HILIC¹, dont la phase stationnaire hydrophile est de type amide.

La MS permet de déterminer la masse des molécules présentes dans l'échantillon à traiter. La mesure de la masse repose sur la déviation des molécules préalablement ionisées par un champ électrique ou magnétique, pour lesquelles les trajectoires sont proportionnelles à leur masse et à leur charge. Le spectromètre de masse est composé : 1) d'une source d'ionisation pour modifier la charge des molécules et les faire passer en phase gazeuse, par exemple : ionisation électro-spray (ESI), ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) ou autre; 2) un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction du rapport masse sur charge (m/z). Les analyseurs peuvent être couplés de façon séquentielle. Il s'agit de la spectrométrie de masse à plusieurs dimensions (en tandem dans le cas présent, donc MS/MS). Un premier analyseur sélectionne les ions selon un certain m/z (purification). L'ion purifié est ensuite fragmenté dans une chambre de collision. Un deuxième analyseur mesure le m/z des fragments selon différents modes d'acquisition (les modes SRM² et MRM³ permettent la quantification des fragments) [Grebe et Singh, 2011]. Le traitement des résultats d'analyse est effectué avec le logiciel MassHunter (Agilent Technologies^{MC})⁴.

1.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

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

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

1.4 Société ou concepteur

il s'agit d'une analyse « maison ».

1.5 Homologation

Analyse maison non homologuée par Santé Canada ou la FDA.

1.6 Valeur pondérée : 19,16

¹ HILIC : de l'anglais, *hydrophilic interaction liquid chromatography*.

² SRM : de l'anglais *selected reaction monitoring*.

³ MRM : de l'anglais *multiple reaction monitoring*.

⁴ Manuel de procédure de laboratoire de génétique biochimique, PRG-8200-MPSMS-01-A, CHUS, fourni par le demandeur, le 14 juillet 2017.

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

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

4.2 Description de la maladie visée

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

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

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

Les traitements thérapeutiques les plus couramment offerts incluent la thérapie de substitution enzymatique (perfusions intraveineuses hebdomadaires à vie), la greffe de cellules souches hématopoïétiques et la greffe de moelle osseuse [G2M, 2016; Zhang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2013; Orphanet]. Ces traitements ont partiellement réussi à alléger les symptômes des patients atteints de MPS [Zhang *et al.*, 2015]. Toutefois, aucune des options thérapeutiques actuellement disponibles ne permet une résolution complète de la morbidité; la gestion des MPS requiert une prise en charge à vie [Coutinho *et al.*, 2012]. Le pronostic est variable d'une maladie à l'autre et d'un patient à l'autre. Il dépend notamment de la gravité et de la progression de la maladie, de la qualité de la prise en charge et de l'âge du patient lors du traitement (annexe A).

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

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

4.4 Situation actuelle

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

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

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

4.5 Données médico-administratives

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

Mucopolysaccharides totaux (code 50562) permettrait :

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

4.7 Assurance qualité

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

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

- CAP⁵ Biochemical Genetics BGL-A : inclut un volet « mucopolysaccharides » avec des aspects qualitatifs (interprétation et diagnostic) et quantitatifs (incluant la quantification des mucopolysaccharides individuels);
- ERNDIM⁶ Urine Mucopolysaccharides Scheme : participation depuis 2016 en tant que « participant académique »⁷. Inscription prévue en tant que « participant régulier » pour l'année 2018. Ce programme est qualitatif (compétence diagnostique).

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

5. DONNÉES PUBLIÉES

Six études ont rapporté la valeur diagnostique ou la validité analytique d'analyses des GAG urinaires par la LC-MS/MS ou l'une de ses variantes. Seulement trois d'entre elles ont comparé ces méthodes avec la DMB-spectro⁸. Les caractéristiques des études retenues sont présentées au tableau 3. Les détails techniques de la LC-MS/MS (ou une variante) utilisée dans ces études sont présentés à l'annexe B.

⁵ CAP : College of American Pathologists

⁶ ERNDIM : European Research Network for Evaluation and Improvement of Screening, Diagnosis and Treatment of Inherited Disorders of Metabolism

⁷ La catégorie « participant académique » est conçue spécifiquement pour soutenir les laboratoires qui sont en train de développer un test, mais qui ne l'offrent pas encore officiellement sur une base clinique, contrairement à la catégorie « participant régulier ». Les deux catégories de participants reçoivent les mêmes échantillons à analyser de la même façon (« à l'aveugle » ou en simple insu).

⁸ Dans un souci de concision, la méthode spectrophotométrique au bleu de diméthylméthylène sera nommée DMB-spectro dans le reste du document.

Tableau 3 SOMMAIRE DES ÉTUDES RETENUES

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

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

5.1 Valeur diagnostique

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

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

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

1/2 patients ayant une MPS VII. Par ailleurs, la concentration de GAG urinaires totaux était significativement plus élevée chez les patients atteints d'une MPS comparativement à celle des témoins appariés pour l'âge. Bref, la LC-MS/MS a permis de distinguer la plupart des patients atteints de MPS des sujets témoins en se basant sur une élévation significative des DS, HS et des GAG urinaires totaux.

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

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

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

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

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

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

Tableau 4 Performance clinique de la UPLC-MS/MS

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

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

5.2 Valeur pronostique

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

5.3 Valeur thérapeutique

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

5.4 Validité analytique

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

Sensibilité et spécificité analytique

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

Précision et exactitude

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

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

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

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

*À une concentration de 20 µg/ml

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

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

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

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

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

*Précision en intra-essai

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

5.5 Données fournies par le demandeur

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

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

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

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

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

*Plage : 1 à 1000 µg/ml

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

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

La validation diagnostique a été réalisée sur trois aspects :

- l'analyse des urines de cas confirmés;
- les résultats des patients atteints incluant : des échantillons de nouveaux patients fournis par des médecins généticiens (sur une base de recherche); le dosage par LC-MS/MS de tous les échantillons reçus pour analyse par la méthode DMB-spectro (incluant des cas de MPS suivis avec ou sans traitement);
- la participation aux programmes de contrôles de qualité externes.

Dans toutes ces situations, le demandeur a été capable de bien reconnaître les profils caractéristiques des augmentations de GAG chez les patients atteints de MPS I, II, III et VI. La sensibilité diagnostique reste à être évaluée pour la MPS IVA

et la MPS VII puisqu'aucun échantillon de patients atteints de ces maladies n'a été reçu récemment.

La participation aux programmes de contrôle de qualité externes en 2016 et en 2017 a permis d'identifier des échantillons envoyés par l'ERNDIM.

En 2016, pour 6 échantillons reçus et analysés, le laboratoire du demandeur a obtenu une note parfaite, soit 20/20. En 2017, pour 3 échantillons reçus et analysés, le laboratoire a obtenu une note de 11/12. Un point a été perdu pour un des cas représentant un défi d'identification parce que le résultat obtenu par la méthode DMB-spectro était normal. Cependant, le laboratoire a identifié le cas comme étant une MPS III par la méthode LC-MS/MS qui a permis de constater une augmentation isolée d'HS.

En 2016-2017, il y a eu 640 analyses réalisées pour doser les GAG totaux. Bien qu'il n'y ait pas de documentation systématique sur le nombre d'échantillons reçus dans le cadre d'un suivi thérapeutique, l'estimation globale est d'environ 10 % du total, et donc, environ 90 % des analyses sont faites pour des patients sans diagnostic connu⁹.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes, GAG) par LC-MS/MS. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 8. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée cible les patients avec suspicion d'une mucopolysaccharidose à la suite de manifestations cliniques ou ayant un risque accru d'en être atteints;
- L'analyse serait réalisée en remplacement du test permettant de doser les GAG totaux. Ce test figure actuellement au *Répertoire* (code 50562);
- En plus du demandeur, un autre établissement du réseau est aussi désigné pour effectuer l'analyse des GAG totaux. Il est toutefois estimé que le demandeur effectue 90 % de ces tests et qu'advenant l'ajout de l'analyse proposée, le second centre continuerait à effectuer l'analyse des GAG totaux;

⁹ Communication avec le demandeur le 10 octobre 2017.

- En 2016-2017, le demandeur a effectué 640 analyses des GAG totaux;
- L'analyse proposée a fait l'objet d'un envoi hors Québec au cours de l'année 2015-2016 pour un coût de 97 \$. Le rapatriement des éventuels envois hors Québec est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*;
- Ainsi, il est anticipé que 700, 750 et 800 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement;
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 19,16;
- Les coûts liés à une modification de la prise en charge des patients à la suite de cette analyse n'ont pas été considérés par manque de données probantes.

Tableau 8 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : <u>sans</u> l'ajout de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS au <i>Répertoire</i>				
Analyses GAG totaux et analyses hors Québec	700	750	800	2 250
Coûts	49 726 \$	53 276 \$	56 826 \$	159 828 \$
Nouveau scénario : <u>avec</u> l'ajout de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS au <i>Répertoire</i>				
Analyses LC-MS/MS	700	750	800	2 250
Coûts	13 412 \$	14 370 \$	15 328 \$	43 110 \$
Impact net	-36 314 \$	-38 906 \$	-41 498 \$	- 116 718 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus élevée			- 125 894 \$
	Pour 3 ans, réduction de coûts la plus faible			- 108 424 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le fractionnement et la quantification des GAG par LC-MS/MS pourrait générer une réduction de coûts d'environ 117 000 \$ pour le total des trois premières années, selon un scénario dans lequel 90 % des tests sont effectués par cette méthode et 10 % par la méthode traditionnelle, soit l'analyse des GAG totaux par la DMB-spectro.

Advenant que l'analyse du demandeur soit celle utilisée en première ligne pour l'ensemble des besoins du Québec (100 % des tests effectués par cette méthode), une réduction de coûts plus importante, soit d'environ 129 000 \$, pourrait être réalisée.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le CHUS est actuellement l'un des deux centres désignés pour le dosage des GAG totaux (code 50562) grâce à leur expérience et leur expertise dans les domaines des maladies métaboliques héréditaires et de la spectrométrie de masse. La présente demande permet d'avoir un dosage individuel des GAG.

Un diagnostic précoce permet d'offrir aux patients un traitement adapté au type de MPS avant l'apparition de manifestations cliniques graves ou de limiter les séquelles de la maladie. Pour les MPS non traitables à ce jour (mais qui le seront à moyen terme), une prise en charge précoce des patients pour une maladie dégénérative permet de réduire les complications et par conséquent, nécessite moins d'investigations et d'hospitalisations.

Bien que la méthode LC-MS/MS permette de diminuer le taux de faux négatifs de façon importante, celui-ci n'est pas nul. Un résultat normal n'exclut pas une mucopolysaccharidose de façon absolue chez un patient avec un tableau clinique fortement évocateur ou chez qui la forme atténuée est recherchée. En cas de suspicion clinique, le dosage enzymatique doit être considéré puisqu'il demeure l'étalon-or du diagnostic.

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

Aucun guide de pratique clinique n'a été répertorié relativement à cette analyse.

Un comité d'experts provenant de différents pays (États-Unis, Brésil, Australie, Royaume-Uni, Taiwan (Chine), Allemagne, Argentine, Pays-Bas) a émis des recommandations relatives au diagnostic de la MPS IVA et de la MPS VI [Wood *et al.*, 2013; Wood *et al.*, 2012]. Ils suggèrent de réaliser l'analyse quantitative des GAG urinaires conjointement avec une analyse qualitative afin d'identifier les GAG impliqués dans les sous-types de MPS et d'orienter ainsi les analyses enzymatiques appropriées pour la confirmation du diagnostic. Ces recommandations ont été formulées afin d'éviter des résultats de faux négatifs dans le contexte technologique où le test quantitatif est réalisé par une méthode spectrophotométrique combinée à un colorant bleu cationique (DMB, bleu alcian, bleu toluidine) et le test qualitatif, par une électrophorèse ou une chromatographie liquide sur couche mince.

Le Hunter Syndrome European Expert Council (HSEEC), un groupe de cliniciens européens, a émis des recommandations relatives au diagnostic et à la gestion de la MPS II [Scarpa *et al.*, 2011]. Leurs recommandations rejoignent celles du groupe précédent. Toutefois, aucune technique n'a été mentionnée.

En outre, la LC-MS/MS est mentionnée comme étant une méthode prometteuse qui permet de fournir des informations à la fois quantitatives et qualitatives sur les irrégularités d'un GAG spécifique. L'analyse des GAG urinaires devrait être utilisée comme test préliminaire et nécessiter la confirmation du diagnostic spécifique d'une MPS par une analyse enzymatique ou moléculaire [Wood *et al.*, 2012].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Mucopolysaccharides (glycosaminoglycanes), fractionnement et quantification par LC-MS/MS

La recommandation de l'INESSS

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

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ Changement technologique pour une technique moins dispendieuse et plus performante.

ANNEXE A : CARACTÉRISTIQUES DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES VISÉES PAR LA PRÉSENTE ANALYSE

Tableau A-1 PRÉVALENCE, MANIFESTATIONS CLINIQUES ET PRONOSTIC DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS I Maladie de Hurler ou de Scheie α-L-iduronidase	Transmission autosomique récessive 1/100 000 Tout âge	3 formes de gravité très variable : syndrome de Hurler (forme la plus grave), syndrome de Hurler-Scheie (phénotype intermédiaire) et syndrome de Scheie (forme la plus légère) - Syndrome de Hurler : déformations squelettiques, dysostose multiple, retard moteur et déficit intellectuel. La maladie apparaît entre 6 et 8 mois après la naissance. D'autres manifestations incluent : opacité cornéenne, hépatosplénomégalie, maladie cardiaque, petite taille, hernie, dysmorphie faciale (faciès grossier) et hirsutisme - Syndrome de Hurler-Scheie : intelligence normale ou presque normale, mais avec divers degrés de détérioration physique, symptômes survenant vers l'adolescence - Syndrome de Scheie : taille presque normale, intelligence normale, raideurs articulaires, opacité cornéenne, syndrome du canal carpien, légers changements squelettiques, valvulopathie aortique, pachyméningite cervicale	- Syndrome de Hurler : espérance de vie réduite avec décès survenant avant l'adolescence (complications cardiovasculaires et respiratoires) - Syndrome de Scheie : espérance de vie normale ou légèrement affectée

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS II Maladie de Hunter Iduronate 2-sulfatase	Transmission récessive liée à l'X 1/166 000 en Europe Enfance (à partir de 18 mois); très peu de cas chez les femmes	▪ Premiers symptômes apparaissant entre l'âge de 18 mois et 4 ans ▪ Éventail de symptômes incluant : macrocéphalie, faciès grossier, petite taille, atteintes cardio-respiratoires, anomalies squelettiques, dysostose, infections fréquentes des voies respiratoires, hernie ombilicale et inguinale, diarrhée résistante aux traitements, hépatosplénomégalie et lésions cutanées ressemblant à la peau d'orange (épaules, dos et cuisses) ▪ Forme grave (MP IIA) avec régression psychomotrice précoce ▪ Forme atténuée (MP IIB) sans atteinte cognitive	▪ Pronostic très variable ▪ Chez les patients atteints de la forme grave (60 % à 80 % des cas), l'espérance de vie est réduite de manière significative (décès avant l'âge de 15 ans), la maladie étant fatale avant l'âge de 25 ans (complications cardio-respiratoires) ▪ Avec la forme atténuée, les patients peuvent survivre jusqu'à l'âge adulte (parfois jusqu'à plus de 60 ans)
MPS III, sous-type A, B, C et D Maladie de Sanfilippo ▪ Héparan-N-sulfatase (MPS IIIA) ▪ α-N-acétylglucosaminidase (MPS IIIB) ▪ Acétyl-CoA: α-glucosamide N-acétyltransférase (MPS IIIC) ▪ N-acétylglucosamine - 6-sulfatase (MPS IIID)	Transmission autosomique récessive 1/53 000 (Pays-Bas), 1/67 000 (Australie) 1/147 000 (France) ▪ MPS IIIA fréquente au Royaume-Uni, Pays-Bas, Australie et France ▪ MPS IIIB fréquente en Grèce et Portugal ▪ MPS IIIC et MPS IIID sont plus rares Enfance (à partir de 2 ans)	▪ Premiers symptômes apparaissant entre 2 et 6 ans : troubles du comportement (hyperactivité, agressivité) et dégradation intellectuelle, troubles du sommeil avec des signes dysmorphiques modérés ▪ Dégénération grave du système nerveux central associée à des maladies somatiques de formes légères ▪ Dégénération neurologique grave apparaissant entre 6 et 10 ans avec perte des acquisitions psychomotrices et de la communication avec l'entourage ▪ Épilepsie souvent après l'âge de 10 ans ▪ Forme atténuée possible dans quelques cas	▪ Pronostic généralement sombre : décès survenant entre la vingtaine et la trentaine dans la plupart des cas de sous-type A ▪ Une survie prolongée (30 à 40 ans) a été rapportée dans les cas sous-types B et D

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS IV, sous-type A Maladie de Morquio Galactosamine -6-sulfatase (MPS IVA)	Transmission autosomique récessive 1/250 000 pour MPS IVA avec incidences très variables selon les pays Enfance	▪ Formes graves (premiers signes avant 1 an), formes intermédiaires (entre 1 et 5 ans) et formes à progression lente (premiers signes tardifs, parfois après 20 ans) ▪ Dysplasie spondylo-épimétaphysaire durant la deuxième année de vie après l'acquisition de la marche ▪ Déformations squelettiques (platyspondylie, cyphose, scoliose, pectus carinatum, genu valgum, déformation des os longs) s'accroissant avec la croissance de l'enfant ▪ L'hyperlaxité ligamentaire s'accompagne de fréquentes luxations (hanches, genoux) ▪ Douleurs, difficultés pour la marche et les gestes quotidiens ▪ Atteinte squelettique : arrêt de croissance vers l'âge de 8 ans (petite taille) ▪ Complications neurologiques possibles secondaires aux anomalies squelettiques ▪ Manifestations pulmonaires et respiratoires ▪ Complications ophtalmologiques (opacités cornéennes), auditives (perte d'audition) et cardiaques (valvulopathies) modérées et tardives ▪ Intelligence normale	▪ Le pronostic dépend de la gravité et de la qualité de la prise en charge qui peuvent permettre une survie jusqu'à plus de 50 ans ▪ Avec les formes rapidement progressives, décès entre 20 et 30 ans

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS VI Maladie de Maroteaux-Lamy N-acétylgalactosamine-4-sulfatase (arylsulfatase B ou ASB)	Transmission autosomique récessive Prévalence à la naissance entre 1/43 000 et 1/1 505 000 naissances vivantes Enfance (dès la naissance)	▪ Atteinte systémique progressive ▪ Large éventail de symptômes allant des formes lentement aux formes rapidement progressives ▪ Dysplasie squelettique caractéristique : petite taille, dysostose multiple et arthropathie dégénérative ▪ Formes rapidement progressives (peuvent apparaître dès la naissance) : excrétion urinaire élevée des GAG, dysostose multiple grave, petite taille; le décès survient avant la vingtaine ou la trentaine ▪ Forme lentement progressive (avec début tardif) : une excrétion urinaire peu élevée des GAG, une dysostose multiple légère; le décès survient dans la quarantaine ou la cinquante. ▪ D'autres manifestations cliniques : valvulopathie, syndrome pulmonaire mixte, obstructif et restrictif, hépatosplénomégalie, sinusite, otite moyenne, surdité, apnée du sommeil, opacification cornéenne, syndrome du canal carpien et hernie inguinale ou ombilicale, raideur articulaire et dysmorphisme facial ▪ Intelligence normale ▪ Déficit intellectuel généralement absent, mais des manifestations neurologiques sont possibles : compression médullaire par instabilité rachidienne, pachyméningite cervicale ou sténose canalaire, hydrocéphalie communicante, atrophie optique et cécité	▪ Le pronostic est variable et dépend de l'âge d'apparition de la maladie, de sa rapidité de progression, de l'âge à l'instauration de la thérapie de substitution enzymatique et de la qualité de la prise en charge

MALADIE, ÉPONYME ET ENZYME DÉFICITAIRE	HÉRÉDITÉ, PRÉVALENCE ET ÂGE D'APPARITION	MANIFESTATIONS CLINIQUES	PRONOSTIC
MPS VII Maladie de Sly β-D-glucuronidase	Transmission autosomique récessive <1 / 1 000 000 Enfance (dès la naissance ou avant)	▪ Symptômes extrêmement hétérogènes ▪ Formes anténatales : anasarque fœto-placentaire non immune ▪ Formes néonatales sévères : dysmorphie, hernies, hépatosplénomégalie, pieds bots, dysostose, hypotonie importante, troubles neurologiques évoluant vers un retard statural et un déficit intellectuel profond (en cas de survie), anomalies squelettiques, faciès grossier ▪ Formes modérées découvertes à l'adolescence voire à l'âge adulte : cyphose thoracique	▪ Pronostic sombre pour les formes à présentation anténatale qui aboutissent le plus souvent à une mort fœtale <i>in utero</i> ▪ Les formes néonatales et infantiles ont une espérance de vie très limitée tandis que les formes atténuées ont une survie plus prolongée

Sources : Baujat et Valayannopoulos, 2014; Hendriksz *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Coutinho *et al.*, 2012; Orphanet.

Abréviations : GAG : glycosaminoglycanes; MPS : mucopolysaccharidose

Tableau A-2 MÉTHODE DIAGNOSTIQUE, BIOMARQUEURS, PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENTS DES MUCOPOLYSACCHARIDOSES

MALADIE	MÉTHODE DIAGNOSTIQUE	BIOMARQUEURS				PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENT
		CS	DS	HS	KS*	
MPS I	- Augmentation des excréctions urinaires de DS ou d'HS - Mise en évidence d'une déficience enzymatique (plasma, leucocytes, fibroblastes, cellules trophoblastiques ou amniocytes)		x	x		- Grefe de cellules souches hématopoïétiques chez certains patients (syndrome de Hurler ou forme grave avant l'âge de 2 ans) - Thérapie de substitution enzymatique (laronidase, i.e. α-L-iduronidase recombinante humaine) - Traitement symptomatique (prise en charge multidisciplinaire).
MPS II	- Diagnostic basé sur le tableau clinique et la détection de taux élevés de DS et de HS dans l'urine - Confirmation du diagnostic avec la mise en évidence d'une déficience enzymatique (sérum, leucocytes, fibroblastes ou échantillons de tache de sang séché) - Activité enzymatique d'une autre sulfatase doit aussi être mesurée		x	x		- Thérapie de substitution enzymatique (idursulfase, i.e. iduronate sulfatase recombinante humaine). - Une dérivation crânienne est nécessaire pour soulager les cas d'hydrocéphalie. - Une réparation herniaire, une amygdalectomie et une adénoïdectomie (pour libérer les voies respiratoires supérieures) peuvent être requises, et dans certains cas une ventilation en pression positive ou une trachéotomie. - Le remplacement d'une valve cardiaque ou de la hanche, et la libération du canal carpien peuvent être requis avec le temps. - Un soin palliatif étendu est nécessaire.
MPS III, sous-type A, B, C et D	- Excrétion urinaire accrue de HS - Afin de préciser le type : mise en évidence du déficit de l'une des enzymes responsables (leucocytes ou fibroblastes cultivés) - Pour les sous-types IIIA et IIID, la mesure d'une autre sulfatase est indispensable pour exclure un déficit multiple en sulfatases (mucosulfatidose ou maladie d'Austin)			x		- Dégradation neurologique avec complications multiples : traitement symptomatique (prise en charge multidisciplinaire). - L'allogreffe de moelle osseuse est déconseillée, car elle ne ralentit pas la détérioration mentale même chez les patients greffés à la période présymptomatique.
MPS IV, sous-type A	- Excrétion urinaire de KS (inconstante) - Mise en évidence du déficit enzymatique (leucocytes ou les	x			x	- Thérapie de substitution enzymatique (élosulfase alfa) - Traitement uniquement symptomatique, essentiellement orthopédique (appareillage, chirurgie, notamment

MALADIE	MÉTHODE DIAGNOSTIQUE	BIOMARQUEURS				PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENT
		CS	DS	HS	KS*	
	fibroblastes cultivés)					consolidation du cou par fusion vertébrale) et kinésithérapique. - En développement (essais cliniques) : enzyme recombinante humaine (GALNS) a pour but de favoriser la clairance du kératane sulfate du lysosome et d'améliorer les principaux symptômes - Grefe de moelle osseuse allogénique peu efficace pour les problèmes osseux
MPS VI	- Tableau clinique et la mesure de l'activité ASB inférieure à 10 % de la normale (fibroblastes cultivés ou leucocytes isolés) - Mise en évidence d'activité normale d'une autre enzyme sulfatase (pour exclure une mucosulfatidose, un déficit multiple en sulfatase ou maladie d'Austin) - L'excrétion urinaire élevée en DS en l'absence de HS		x			- Thérapie de substitution enzymatique (galsulfase, i.e. arylsulfatase B recombinante humaine) - Grefe de cellules souches hématopoïétiques
MPS VII	- Excrétion urinaire accrue de GAG (parfois non retrouvée dans les formes tardives) : CS seulement ou CS+DS+HS - Mise en évidence du déficit en β-D-glucuronidase (leucocytes ou fibroblastes cultivés)	x	x	x		- Traitement symptomatique adapté (prise en charge multidisciplinaire) - Traitement orthopédique dans les formes tardives - En développement : thérapie de substitution enzymatique

Sources : Giugliani *et al.*, 2016; G2M, 2016; Langereis *et al.*, 2015; Wood *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Coutinho *et al.*, 2012; Wood *et al.*, 2012; Lehman *et al.*, 2011; Orphanet.

Abréviations : ASB : arylsulfatase B; CS : chondroïtine sulfate; DS : dermatane sulfate; GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; KS : kératane sulfate, MPS : mucopolysaccharidose

*Le biomarqueur KS ne fait pas l'objet de la présente analyse.

ANNEXE B : CARACTÉRISTIQUES DES ÉTUDES RETENUES

Tableau B CARACTÉRISTIQUES TECHNIQUES DE LA LC-MS/MS (OU UNE VARIANTE) UTILISÉE POUR L'ANALYSE DES GAG URINAIRES

ÉTUDE (MÉTHODE)	MÉTHODE					ANALYSE	
	CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE		SPECTROMÉTRIE DE MASSE			STANDARD INTERNE	GAG DÉTECTÉ
	VOLUME INJECTÉ	COLONNE / SYSTÈME	SYSTÈME	PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	IONISATION ET DÉTECTION		
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2016 (UPLC-MS/MS)	2 µl	Acquity UPLC BEH Amide / Acquity I-Class UPLC system (Waters)	Xevo TQ-S (Waters)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode SRM	Standards internes deut. de CS, DS et HS	CS, DS, HS
Auray-Blais <i>et al.</i> , 2011 (LC-MS/MS)	20 µl	Atlantis T3 / Alliance 2795XE system (Waters)	Quattro micro tandem quadrupole (Waters)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode MRM	Dermatane sulfate-d ₆ Héparane sulfate-d ₆	DS, HS
Chuang <i>et al.</i> , 2014 (LC-MS/MS)	5 µl	Atlantis dC18 (Waters) / Agilent 1260 Infinity HPLC (Agilent Technologies)	4000 QTRAP triple- quadrupole MS sytem (AB Sciex)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode MRM	Standards internes deut. de CS, DS et HS	CS, DS, HS
Langereis <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS)	-	Thermo Hypercarb HPLC / Acquity UPLC system (Waters)	Quattro Premier XE mass spectrometer (Waters)	Digestion enzymatique	ESI (ion positif) en mode MRM	Standards internes DS et HS	DS, HS
Tomatsu <i>et al.</i> , 2010 (LC-MS/MS)	-	Hypercarb (Thermo Electron)	API-400 mass spectrometer with turbo ionspray (Applied Biosystems)	Digestion enzymatique	MRM (ion négatif)	Standards internes	DS, HS
Zhang <i>et al.</i> , 2015 (UPLC-MS/MS)	5 µl	Acquity UPLC BEH Amide / Acquity UPLC system (Waters)	Xevo-TQ MS tandem quadrupole mass spectrometer (Waters)	Méthanolyse	ESI (ion positif) en mode SRM	Standards internes deut. de CS, DS et HS	CS, DS, HS

Abréviations : CS : chondroïtine sulfate; DS : dermatane sulfate; deut. : deutériométhanolysés; ESI : *electrospray ionisation*; GAG : glycosaminoglycanes; HS : héparane sulfate; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; MRM : *multiple reaction monitoring*; UPLC-MS : chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem; SMR : *selected reaction monitoring*

RÉFÉRENCES

- Auray-Blais C, Lavoie P, Tomatsu S, Valayannopoulos V, Mitchell JJ, Raiman J, et al. UPLC-MS/MS detection of disaccharides derived from glycosaminoglycans as biomarkers of mucopolysaccharidoses. *Anal Chim Acta* 2016;936:139-48.
- Auray-Blais C, Bhérer P, Gagnon R, Young SP, Zhang HH, An Y, et al. Efficient analysis of urinary glycosaminoglycans by LC-MS/MS in mucopolysaccharidoses type I, II and VI. *Mol Genet Metab* 2011;102(1):49-56.
- Baujat G et Valayannopoulos V. Histoire naturelle de la mucopolysaccharidose IV de type A (maladie de Morquio A). *Arch Pediatr* 2014;21(Suppl 1):S32-8.
- Chuang CK, Lin HY, Wang TJ, Tsai CC, Liu HL, Lin SP. A modified liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for predominant disaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with mucopolysaccharidoses. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:135.
- Clarke LA, Winchester B, Giugliani R, Tytki-Szymanska A, Amartino H. Biomarkers for the mucopolysaccharidoses: Discovery and clinical utility. *Mol Genet Metab* 2012;106(4):395-402.
- Coutinho MF, Lacerda L, Alves S. Glycosaminoglycan storage disorders: A review. *Biochem Res Int* 2012;2012:471325.
- Giugliani R, Federhen A, Vairo F, Vanzella C, Pasqualim G, da Silva LM, et al. Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses. *Expert Opin Emerg Drugs* 2016;21(1):9-26.
- Grebe SK et Singh RJ. LC-MS/MS in the clinical laboratory – Where to from here? *Clin Biochem Rev* 2011;32(1):5-31.
- Groupement Maladies Héréditaires du Métabolisme (G2M). Mucopolysaccharidoses. Filières de Santé Maladies Rares. Protocole national de diagnostic et de soins. Saint-Denis La Plaine, France : Haute Autorité de Santé (HAS); 2016. Disponible à : https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2659924/fr/mucopolysaccharidoses-mps.
- Hendriksz CJ, Harmatz P, Beck M, Jones S, Wood T, Lachman R, et al. Review of clinical presentation and diagnosis of mucopolysaccharidosis IVA. *Mol Genet Metab* 2013;110(1-2):54-64.
- Kubaski F, Osago H, Mason RW, Yamaguchi S, Kobayashi H, Tsuchiya M, et al. Glycosaminoglycans detection methods: Applications of mass spectrometry. *Mol Genet Metab* 2017;120(1-2):67-77.
- Langereis EJ, Wagemans T, Kulik W, Lefeber DJ, van Lenthe H, Oussoren E, et al. A multiplex assay for the diagnosis of mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *PLoS One* 2015;10(9):e0138622.
- Lehman TJ, Miller N, Norquist B, Underhill L, Keutzer J. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50(Suppl 5):v41-8.

- Orphanet. Rechercher une maladie rare [entrer Mucopolysaccharidose dans le module de recherche]. Paris, France : Orphanet. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR (consulté le 28 juin 2017).
- Scarpa M, Almassy Z, Beck M, Bodamer O, Bruce IA, De Meirleir L, et al. Mucopolysaccharidosis type II: European recommendations for the diagnosis and multidisciplinary management of a rare disease. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:72.
- Tomatsu S, Kubaski F, Sawamoto K, Mason RW, Yasuda E, Shimada T, et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses: Application of tandem mass spectrometry. *Nihon Masu Sukuriningu Gakkai Shi* 2014;24:19-37.
- Tomatsu S, Montano AM, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Gutierrez ML, et al. Validation of disaccharide compositions derived from dermatan sulfate and heparan sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses II and III by tandem mass spectrometry. *Mol Genet Metab* 2010;99(2):124-31.
- Wood T, Bodamer OA, Burin MG, D'Almeida V, Fietz M, Giugliani R, et al. Expert recommendations for the laboratory diagnosis of MPS VI. *Mol Genet Metab* 2012;106(1):73-82.
- Wood TC, Harvey K, Beck M, Burin MG, Chien YH, Church HJ, et al. Diagnosing mucopolysaccharidosis IVA. *J Inher Metab Dis* 2013;36(2):293-307.
- Zhang H, Wood T, Young SP, Millington DS. A straightforward, quantitative ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for heparan sulfate, dermatan sulfate and chondroitin sulfate in urine: An improved clinical screening test for the mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab* 2015;114(2):123-8.
- Zhang H, Young SP, Millington DS. Quantification of glycosaminoglycans in urine by isotope-dilution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Curr Protoc Hum Genet* 2013;Chapter 17:Unit 17.12.

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

Québec 

Siège social

2535, boulevard Laurier, 5^e étage
Québec (Québec) G1V 4M3
418 643-1339

Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12^e étage, bureau 1200
Montréal (Québec) H3A 2S9
514 873-2563

inesss.qc.ca

