

OCTOBRE 2017

AVIS

DOSAGE QUANTITATIF DU FACTEUR I

(RÉFÉRENCE - 2017.01.006)

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

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

DOSAGE QUANTITATIF DU FACTEUR I (RÉFÉRENCE - 2017.01.006)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

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

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

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

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

2 RÉSUMÉ

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

Valeur diagnostique

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

Valeur pronostique et thérapeutique

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

Validité analytique

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

Impact budgétaire

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

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

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

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectifs de l'analyse

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

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

3.2 Description de la méthode

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

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

3.3 Modalité d'administration du test, selon le demandeur

Les prélèvements sanguins sur citrate de sodium¹ effectués dans un établissement du réseau ou hors Québec seront acheminés puis analysés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine. Selon le demandeur, le temps de réponse de cette analyse est inférieur à un mois.

Un résultat de dosage du facteur I anormalement bas est indicatif d'un déficit quantitatif. Par contre, un résultat normal peut indiquer un déficit fonctionnel du facteur I. Le séquençage² du gène du facteur I peut alors être réalisé afin d'obtenir des

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

² Le séquençage du gène du facteur I devrait être fait en parallèle afin d'obtenir des informations supplémentaires et pour identifier un déficit fonctionnel du facteur I. Il est important de procéder au dosage du facteur I même si le séquençage est demandé car une

informations supplémentaires. Le séquençage n'est toutefois pas réalisé en première ligne en raison du temps de réponse trop long (envoi hors Québec)³.

3.4 Société ou concepteur

Abcam

3.5 Homologation

La trousse proposée n'est pas homologuée par Santé Canada

3.6 Valeur pondérée : 223,12

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients pédiatriques et adultes :

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

4.2 Description des maladies visées

Syndrome hémolytique urémique atypique

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

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

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

³ Communication écrite de M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, laboratoire d'hémostase, CHU Sainte-Justine (5 mai 2017).

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

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

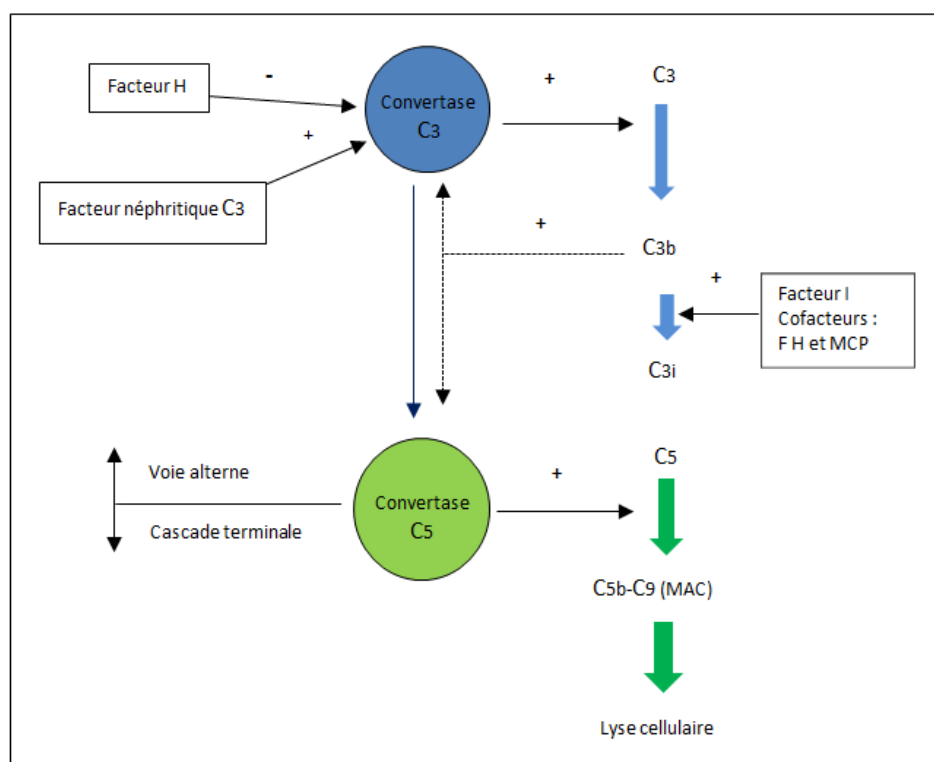


Figure 1 Voie alterne d'activation du complément

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

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

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

Glomérulonéphrite à dépôts de C3

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

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

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

4.4 Brève description de la situation actuelle

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

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

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

4.5 Données médico-administratives

Il s'agit d'une nouvelle analyse, non incluse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* 2016-2017.

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

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

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

4.7 Assurance qualité

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

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

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

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

Déficit complet en facteur I et susceptibilité aux infections

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

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

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

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

Déficit partiel en facteur I

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

Déficit fonctionnel en facteur I

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5.2 Valeur pronostique et thérapeutique

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

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

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

Tableau 2 Valeur pronostique et thérapeutique du facteur I chez des patients atteints de SHUa

ÉTUDE	N	MUTATIONS GÈNE FI	TAUX FACTEUR I	ISSUE APRÈS 1 ^{ER} ÉPISODE	RÉPONSE AU TRAITEMENT
Caprioli <i>et al.</i> , 2006	156	7 (4,5 %)	n = 4 taux normal *	n = 6 (FI muté) RÉM-C : 3/6 RÉM-P : 1/6 Décès : 0/6 Récidive : 2/6	6 épisodes SHUa traités chez 4 patients Plasma† : 3/6 (50 %) Transplantation rénale : échec 1/1 suite à récurrence SHUa
Bienaime <i>et al.</i> , 2010	202	23 (11,4 %)‡	n = 23 8 (34,8 %) taux inférieur à la normale §	IRT ou décès à 1 an : 11/23 (47,8 %) RÉM-C sans récurrence : 7/23 (30,4 %)	s.o.

Abréviations : FI : facteur I; IRT : insuffisance rénale terminale; RÉM-C : rémission complète; RÉM-P : rémission partielle; SHUa : syndrome hémolytique urémique atypique; s.o. : sans objet

* Concentration normale en facteur I : 70 à 130 % du sérum normal

† Le traitement consistait en une transfusion de plasma ou remplacement de plasma seul ou en combinaison avec un médicament agissant sur le système immunitaire et/ou la cascade de coagulation.

‡ Parmi les 23 patients dont le gène du facteur I était muté, 13 avaient une seconde anomalie génétique soit : une mutation dans un gène connu comme étant un facteur de susceptibilité pour le SHUa ou la délétion du gène *CFHR1* (n = 5).

§ Concentration normale en facteur I : 42 à 78 mg/l

|| Parmi ces 11 patients, 10 avaient une anomalie génétique supplémentaire à celle détectée dans le gène du facteur I.

5.3 Validité analytique

Les données de validité analytique disponibles pour le dosage du facteur I sont celles du fabricant de la trousse Human Complement Factor I ELISA de la compagnie Abcam [Abcam, 2015]. La plage de détection est de 0,375 à 24 µg/ml pour des échantillons dilués 1 : 20.

Sensibilité (limite de détection)

0,25 µg/ml

Spécificité

Aucune réaction croisée avec les facteurs B, D, P et H ainsi qu'avec les protéines C1 à C9 du complément n'a été détectée.

Précision

La précision intra-essai de la trousse Abcam a été évaluée par trois mesures de la concentration en facteur I par échantillon testé. Trois tests pour chaque échantillon ont été réalisés dans le surnageant de culture, la salive, le lait, le sérum et le plasma⁴.

Aucune information quant au nombre d'échantillons testés et au nombre d'essais n'a été transmise par le fabricant.

Coefficient de variation intra-essai: 4,8 %

⁴ Les informations concernant la méthode d'évaluation de la précision de la trousse, non disponibles dans la brochure, ont été obtenues du service de support scientifique de la compagnie Abcam (communication écrite du 12 mai 2017).

Coefficient de variation inter-essai: 9,2 %

Recouvrement

Le recouvrement moyen du facteur I contenu dans des échantillons fortifiés à une concentration finale de 0,75 à 12 µg/ml est de 96 % (86 % à 110 %).

Linéarité de dilution

La linéarité de dilution des échantillons a été déterminée pour le sérum et le plasma pour trois dilutions.

DILUTION	SÉRUM % moyen de la valeur attendue	PLASMA % moyen de la valeur attendue
1 : 10	105	108
1 : 20 *	99	98
1 : 40	92	93

* Dilution suggérée par le fabricant pour les échantillons à tester.

Limites

Les informations contenues dans la trousse Human Complement Factor I ELISA de la compagnie Abcam indiquent que les échantillons de sang peuvent être prélevés avec les anticoagulants suivants : EDTA, héparine ou citrate de sodium. Selon la procédure opératoire normalisée transmise par le demandeur, le citrate de sodium sera utilisé.

Comme il est mentionné à la section 7, il est recommandé d'utiliser du sang prélevé sur EDTA afin de bloquer la voie alterne du complément en chélatant les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} et prévenir la consommation artificielle du complément pouvant mener à des résultats erronés.

5.4 Données fournies par le demandeur

Aucunes données de validation locales de la méthode au moyen d'échantillons connus ou d'échantillons prélevés chez les patients n'ont été fournies par le centre demandeur.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA. Cette analyse cible les patients atteints de syndrome hémolytique urémique (SHUa), de glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3 (GNC3) ou de microangiopathies thrombotiques (MAT) avec suspicion d'implication du complément (diagnostic de purpura thrombocytopénique thrombotique (PTT) exclu). Elle vise aussi les patients atteints d'insuffisance rénale d'étiologie inconnue et présentant des antécédents familiaux ou personnels de MAT et pour lesquels une transplantation rénale est envisagée. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 3. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Le dosage quantitatif du facteur I n'est pas réalisé actuellement dans le laboratoire.
- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec en 2015-2016.
- Il est estimé que 40, 45 et 50 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 223,12.

Tableau 3 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses ELISA	40	45	50	150
Impact net	8 925 \$	10 040 \$	11 156 \$	30 121 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			26 774 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			33 468 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage quantitatif du facteur I par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 33 000 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, bien que cette analyse puisse influencer le suivi thérapeutique des patients, la thérapie demeure très individualisée et il n'existe pas d'algorithme clair actuellement concernant l'ajustement de celle-ci en fonction des résultats de l'analyse proposée par le demandeur. L'utilisation future de l'analyse permettra d'orienter et de consolider la pratique clinique en termes de suivi thérapeutique.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

L'investigation d'une anomalie d'activation de la voie alterne du complément, à l'exception de la mesure de la concentration en C3 et C4, nécessite un processus en plusieurs étapes réalisé dans un laboratoire spécialisé [Prohaszka *et al.*, 2016; Grumach et Kirschfink, 2014; Alba-Dominguez *et al.*, 2012; Loirat et Fremeaux-Bacchi, 2011]. Un tel processus devrait inclure des essais fonctionnels, la quantification des protéines et l'analyse des autoanticorps [Alba-Dominguez *et al.*, 2012].

Selon certains auteurs, un des problèmes majeurs réside dans le fait qu'il n'existe pas de standard international quant à l'approche diagnostique à privilégier et aux facteurs à doser dont le facteur I [Loirat et Fremeaux-Bacchi, 2011; Roumenina *et al.*, 2011].

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

Un groupe de travail de la Renal Association, du British Committee for Standards in Haematology et de la British Transplantation Society au Royaume-Uni [Taylor *et al.*, 2010] recommande que les niveaux sériques de C3, C4, facteur H et facteur I soient mesurés chez tous les patients dont la présentation clinique suggère un diagnostic de SHUa car le résultat permet d'évaluer le pronostic et les risques associés à une transplantation. À ce titre, la transplantation rénale seule n'est pas recommandée chez les patients qui ont une mutation du gène du facteur H ou du facteur I⁵.

Lors de la conférence KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) de 2015, un comité d'experts a émis des recommandations relativement au diagnostic et au traitement du SHUa et de la GNC3 [Goodship *et al.*, 2017]. Selon ce groupe d'experts, l'analyse des protéines du complément (incluant le facteur I) et de leurs fragments dérivés devrait être considérée en plus de l'analyse génétique chez les patients atteints de SHUa et de GNC3.

D'un point de vue analytique, il est recommandé d'utiliser le sang prélevé sur EDTA pour le dosage des protéines du complément dans le plasma. L'EDTA bloque les voies classique et alterne du complément en chélatant les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} , ce qui prévient la consommation artificielle du complément durant le transport et la manipulation des échantillons, et la production de résultats erronés [Roumenina *et al.*, 2011].

Le comité de standardisation de l'International Complement Society (ICS) et de l'International Union of Immunological Societies (IUIS) a émis des recommandations pour l'analyse du complément [Prohaszka *et al.*, 2016].

- L'EDTA à une concentration finale de 10 mM est utilisé comme anticoagulant standard puisqu'il permet de bloquer l'activation du complément *in vitro* par la chélation des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} ;
- La méthode ELISA fait partie des méthodes recommandées pour la quantification des protéines du complément.

⁵ La force des recommandations mentionnées dans ce paragraphe a été classée « forte » et la qualité de l'évidence « modérée » selon le système d'évaluation GRADE utilisé par les auteurs [Taylor *et al.*, 2010].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage quantitatif du facteur I

La recommandation de l'INESSS

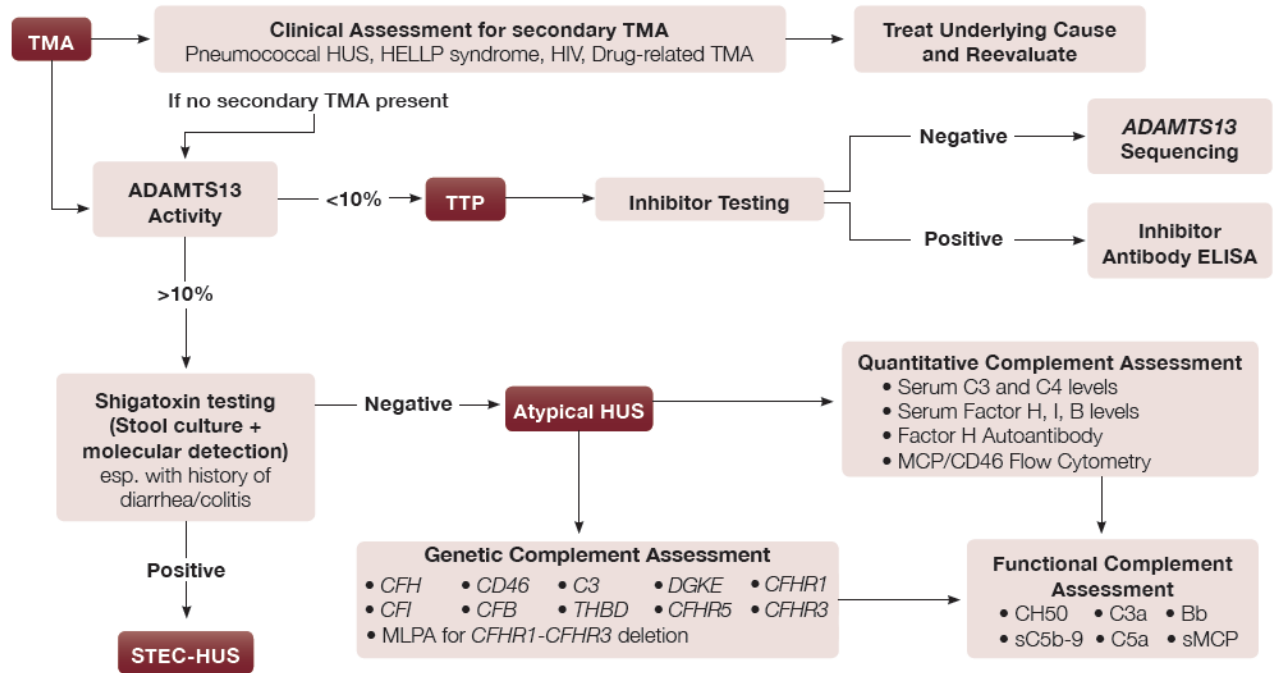
- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ La pertinence clinique de l'analyse :
 - correspond à un besoin clinique non comblé (confirmation diagnostique du SHU atypique);
 - a un impact potentiel sur la prescription d'éculizumab.
- ✓ Le temps réponse proposé de 4 semaines est acceptable pour les patients en attente d'une greffe rénale. Celui-ci devrait être inférieur à 2 semaines pour les cas de microangiopathies thrombotiques aiguës.
- ✓ L'introduction devrait être conditionnelle à la présentation d'un plan de validation locale et l'obtention des données qui démontrent la maîtrise de l'analyse par le laboratoire demandeur.

ANNEXE A : Algorithme diagnostique des microangiopathies thrombotiques

Thrombotic Microangiopathy Testing Algorithm



*aHUS can still be made as a diagnosis with completely normal genetic testing because all contributing genetic factors are not yet known. Both patients with and without mutations seem to have the same response to eculizumab.



Molecular Genetics, Nephrology and Cancer & Blood Diseases Institute Clinical Laboratories
 CLIA#: 36D0656333 • Phone: (513) 636-4530 • Fax: (513) 636-8924
 Email: nephclinicallab@cchmc.org • www.cincinnatichildrens.org/tma

RÉFÉRENCES

- Abcam. Human complement factor I ELISA kit (ab195460) [site Web]. Toronto, ON : Abcam Inc.; 2015. Disponible à : <http://www.abcam.com/human-complement-factor-i-elisa-kit-ab195460.html>.
- Alba-Dominguez M, Lopez-Lera A, Garrido S, Nozal P, Gonzalez-Granado I, Melero J, et al. Complement factor I deficiency: A not so rare immune defect. Characterization of new mutations and the first large gene deletion. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:42.
- Bienaime F, Dragon-Durey MA, Regnier CH, Nilsson SC, Kwan WH, Blouin J, et al. Mutations in components of complement influence the outcome of Factor I-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 2010;77(4):339-49.
- Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108(4):1267-79.
- Cruzado JM, de Cordoba SR, Melilli E, Bestard O, Rama I, Sanchez-Corral P, et al. Successful renal transplantation in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome carrying mutations in both factor I and MCP. *Am J Transplant* 2009;9(6):1477-83.
- De Lorenzo A, Tallon S, Hernandez-Sevillano B, de Arriba G. C3 glomerulopathy: A new complement-based entity. *Rev Clin Esp (Barc)* 2014;214(5):266-74.
- Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Fremeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2017;91(3):539-51.
- Grumach AS et Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol* 2014;61(2):110-7.
- Haerynck F, Stordeur P, Vandewalle J, Van Coster R, Bordon V, De Baets F, et al. Complete factor I deficiency due to dysfunctional factor I with recurrent aseptic meningoencephalitis. *J Clin Immunol* 2013;33(8):1293-301.
- Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33(6):508-30.
- Loirat C et Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60.
- Nilsson SC, Trouw LA, Renault N, Miteva MA, Genel F, Zelazko M, et al. Genetic, molecular and functional analyses of complement factor I deficiency. *Eur J Immunol* 2009;39(1):310-23.
- Prohaszka Z, Nilsson B, Frazer-Abel A, Kirschfink M. Complement analysis 2016: Clinical indications, laboratory diagnostics and quality control. *Immunobiology* 2016;221(11):1247-58.

- Roumenina LT, Loirat C, Dragon-Durey MA, Halbwachs-Mecarelli L, Sautes-Fridman C, Fremeaux-Bacchi V. Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *J Immunol Methods* 2011;365(1-2):8-26.
- Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Servais A, Noël LH, Roumenina LT, Le Quintrec M, Ngo S, Dragon-Durey MA, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies. *Kidney Int* 2012;82(4):454-64.
- Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.
- Taylor CM, MacHin S, Wigmore SJ, Goodship THJ. Clinical practice guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol* 2010;148(1):37-47.