

OCTOBRE 2017

AVIS

DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION DU FACTEUR IX PAR MÉTHODE CHROMOGÈNE

(RÉFÉRENCE - 2017.01.009)

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)

DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION DU FACTEUR IX PAR MÉTHODE CHROMOGÈNE

(RÉFÉRENCE - 2017.01.009)

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 Jean St-Louis, (Hématologue et oncologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont);
- D^{re} Stéphanie Cloutier, (Hématologue, CHA Hôpital Enfant-Jésus).

2 RÉSUMÉ

L'hémophilie B (maladie de Christmas) est une maladie génétique récessive liée au chromosome X caractérisée par un déficit congénital en facteur IX de coagulation. Ce déficit se traduit par un temps de coagulation prolongé menant à de fréquents épisodes de saignements aux articulations (hémarthroses) et aux tissus mous.

L'analyse chromogène est une méthode de dosage en deux temps qui permet de déterminer la concentration d'un facteur IX antihémophilique recombinant structurellement modifié lors du suivi des patients atteints d'hémophilie B traités pour un déficit en facteur IX de coagulation.

Des études montrent que les résultats du dosage chromogène sont plus près des valeurs de référence attendues et que cette analyse détermine avec sensibilité, précision et reproductibilité la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés.

L'analyse proposée consiste en une trousse commerciale non homologuée. Les données fournies par le fabricant de la trousse indiquent que la répétabilité des résultats est de 2,4 % et que leur reproductibilité se situe entre 5,6 % et 6,4 %.

Les coûts liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire* sont environ de 1 800 \$ pour le total des trois premières années.

Présentement, aucune trousse commerciale standardisée n'est homologuée à des fins de diagnostic pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur IX. De plus, les trousse disponibles sont peu nombreuses en plus d'être dispendieuses et de nécessiter un appareillage particulier ainsi que du personnel de laboratoire qualifié pour effectuer ce type d'analyses.

Le MASAC (Medical and Scientific Advisory Council) du NHF (National Hemophilia Foundation) favorise l'utilisation de la méthode chromogène pour déterminer la concentration plasmatique du facteur IX dans un contexte de suivi de patients traités avec des concentrés antihémophiliques recombinants.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Détermination, par la méthode chromogène, de la concentration d'un facteur IX antihémophilique recombinant structurellement modifié lors du suivi des patients atteints d'hémophilie B traités pour un déficit en facteur IX de coagulation.

Les personnes atteintes d'hémophilie B traitées avec des concentrés de facteur IX doivent faire régulièrement l'objet d'un suivi afin de veiller à ce que la concentration ciblée en facteurs de coagulation en circulation soit atteinte et apporter toute modification nécessaire au plan thérapeutique¹.

3.2 Description de la méthode

La méthode chromogène est une méthode en deux étapes qui mesure la concentration plasmatique du facteur IX. Cette technique exploite la capacité du facteur IX d'agir comme un cofacteur dans l'activation du facteur X.

Dans un premier temps, l'échantillon à tester est incubé en présence de thrombine, de phospholipides, de calcium et du facteur VIII activé. Tous les composants sont alors en excès dans le milieu réactionnel, excepté le facteur IX qui est le facteur limitant de la réaction. Un complexe est ensuite formé avec les facteurs IX et VIII activés et les phospholipides. Dans un second temps, ce complexe active le facteur X. Du facteur X activé est alors généré en quantité proportionnelle à la quantité du complexe FVIII-FIX-phospholipides contenu dans l'échantillon. Le facteur X activé entraîne le clivage d'un substrat chromogène et l'apparition d'une coloration induite par la libération de p-nitroaniline qui est mesurée par densité optique à la longueur d'onde de 405 nm comme l'illustre la figure 1.

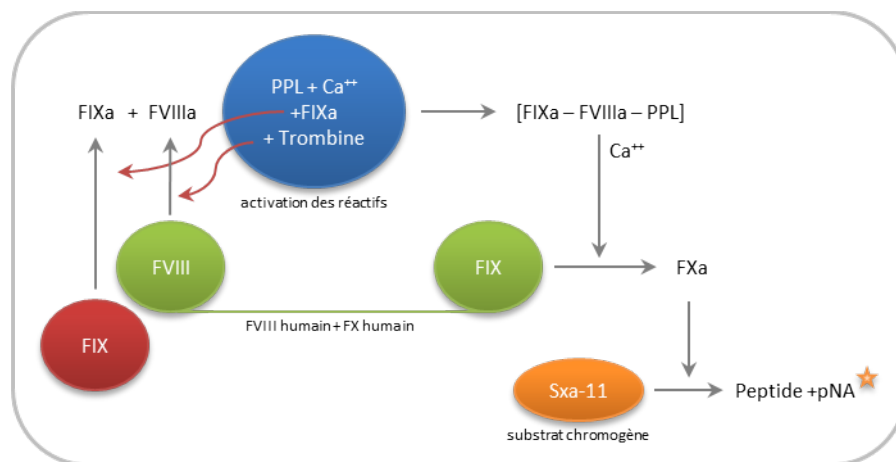


Figure 1 Principe de la méthode chromogène pour le dosage du facteur IX

Source : figure adaptée de Nodia BV. Biophen FIX [site Web], disponible à :

<http://www.nodia.be/site/haemostasis/biophen-fix/> (consulté le 25 avril 2017).

Abréviations : FIX : facteur IX; FIXa : facteur IX activé; FVIII : facteur VIII; FVIIIa : facteur VIII activé; PPL : phospholipides; Ca⁺⁺ : calcium; FX : facteur X; FXa : facteur X activé; Sxa-11 : substrat chromogène spécifique pour le facteur X activé; pNA : p-nitroaniline.

¹ Fédération mondiale de l'hémophilie. Troubles de coagulation [site Web], disponible à : <https://www.wfh.org/fr/abd/prophylaxis/prophylaxie-suivi-des-resultats> (consulté le 25 avril 2017).

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront effectués dans divers établissements de santé du Québec ou hors Québec. Après avoir effectué la partie préanalytique, les échantillons seront acheminés au laboratoire d'hémostase au Centre de référence québécois des inhibiteurs de la coagulation, le CHU Sainte-Justine.

La trousse Biophen FIX^{MC} de la compagnie Hyphen BioMed utilise la méthode chromogène pour mesurer la concentration plasmatique de facteur IX endogène humain ou issu de concentrés.

3.4 Société ou concepteur

Hyphen BioMed

3.5 Homologation

La trousse Biophen FIX^{MC} de la compagnie Hyphen BioMed respecte les normes de la CE (conformité européenne). Elle n'est homologuée ni par Santé Canada ni par la FDA (Food and Drug Administration).

3.6 Valeur pondérée : 51,14

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients atteints d'hémophilie B traités avec des concentrés recombinants structurellement modifiés pour un déficit en facteur IX de coagulation.

4.2 Description de la maladie visée

L'hémophilie B (maladie de Christmas) est une maladie génétique récessive liée au chromosome X caractérisée par un déficit congénital en facteur IX de coagulation. Sa prévalence est de moins d'une personne sur 50 000², soit 712 Canadiens en 2016 [World Federation of Hemophilia, 2016]. Les deux tiers des cas d'hémophilie B sont héréditaires tandis qu'un tiers survient *de novo*. Ce déficit se traduit par un temps de coagulation prolongé menant à de fréquents épisodes de saignements aux articulations (hémarthroses) et aux tissus mous [Duan et al., 2014]. Le déficit en facteur IX est qualifié de sévère, modéré ou léger lorsque le taux plasmatique mesuré est respectivement : inférieur à 1 %, entre 1 % et 5 % et entre 6 % et 30 %, et ce, comparativement aux personnes sans trouble de la coagulation.

La prise en charge des patients atteints d'hémophilie B sévère inclut le traitement épisodique et la prophylaxie au moyen de facteur IX de remplacement [Srivastava et al., 2013]. La prophylaxie primaire³ est le traitement standard pour les patients atteints d'hémophilie B sévère [Franchini, 2014]. Diverses stratégies ont été développées pour accroître la durée d'action des facteurs de coagulation de remplacement, dont les concentrés de facteur IX recombinants structurellement modifiés. De plus en plus de

² Société canadienne de l'hémophilie. Hémophilie A et B [site Web], disponible à : <http://www.hemophilia.ca/fr/troubles-de-la-coagulation/hemophilie-a-et-b/hemophilie-a-et-b/> (consulté le 25 avril 2017).

³ L'injection régulière de facteur IX débutant après la première hémarthrose ou avant l'âge de 2 ans [Franchini, 2014].

patients atteints d'hémophilie B sévère sont maintenant traités avec ces concentrés recombinants modifiés⁴. Les concentrés recombinants de facteur IX présentement offerts au Québec sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 Liste des différents concentrés recombinants de facteur IX offerts au Québec pour le traitement de l'hémophilie B

DISTRIBUTEUR	CONCENTRÉ RECOMBINANT	STRUCTURE
Héma-Québec	BeneFIX ^{MC}	Facteur IX recombinant, pleine longueur (rFIX)
	Rixubis ^{MC}	Facteur IX recombinant, pleine longueur (rFIX)
	Alprolix ^{MC}	Facteur IX recombinant, fusionné avec le fragment Fc des immunoglobulines (rFIX-Fc)

Source : données tirées du site Web d'Héma-Québec (www.hema-quebec.qc.ca) (consulté le 27 avril 2017).

Les patients traités avec des concentrés de facteur de coagulation peuvent développer des anticorps contre le facteur IX. La prévalence est d'environ 3 % à 5 % [Franchini, 2014; Fields *et al.*, 2001]. Le développement de tels anticorps est une complication sévère qui peut causer une réaction allergique, un choc anaphylactique ou un syndrome néphrotique [Franchini, 2014; DiMichele, 2007]. Ces anticorps interfèrent avec le dosage du facteur IX par la méthode chronométrique en un temps [Ruinemans-Koerts *et al.*, 2010].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime qu'environ 80 analyses sont effectuées annuellement au Québec et que ce nombre augmentera de manière considérable dans les prochaines années avec l'arrivée sur le marché d'autres concentrés de remplacement structurellement modifiés.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, au Québec, la méthode chronométrique en un temps est utilisée pour établir le diagnostic et pour effectuer le suivi des patients traités. Cette analyse est inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, ci-après nommé *Répertoire*, pour la période 2016-2017 sous le code 20082 avec une VP de 5,4.

Selon l'expérience de plusieurs instances compétentes en analyses diagnostiques (IEQAS, UK NEQAS, ECAT, RCPAQAP et CAP)⁵ [Favaloro *et al.*, 2014; Jennings *et al.*, 2009] et un sondage des pratiques courantes [Kitchen *et al.*, 2015], la majorité des laboratoires cliniques utilisent actuellement la méthode chronométrique en un temps pour le diagnostic et le suivi de l'hémophilie B.

Le dosage des facteurs de coagulation par la méthode chronométrique en un temps a été décrit pour la première fois en 1953 [Biggs et Douglas, 1953]. Cette technique

⁴ Héma-Québec. Faits saillants, disponible à : http://www.hema-quebec.qc.ca/userfiles/file/media/francais/publications/ra_bilan_2004.pdf (consulté le 19 mai 2017).

⁵ Abréviations : IEQAS (Programme international d'évaluation externe de la qualité), UK NEQAS (National External Quality Assessment Service), ECAT (External quality Control of diagnostic Assays and Tests), RCPAQAP (Royal College of Pathologists of Australasia Quality Assurance Programs), CAP (College of American Pathologists).

mesure la capacité d'un échantillon de plasma à raccourcir l'APTT (Activated Partial Thromboplastin Time) d'un plasma déficient en facteur IX [Mackie *et al.*, 2013; Kitchen *et al.*, 2010].

Les principaux obstacles à la méthode chronométrique en un temps résident dans l'hétérogénéité des méthodes disponibles et la variabilité intra et interlaboratoire élevée expliquée par la centaine de combinaisons possibles entre les réactifs APTT et les activateurs de la coagulation disponibles, sans parler des différents standards de calibration et des appareils de détection utilisés [Kitchen *et al.*, 2017; Kitchen *et al.*, 2015; Barrowcliffe, 2013; Pouplard *et al.*, 2009].

Cette variabilité du dosage chronométrique en un temps peut mener à une sous-estimation de 30 à 50 % de la concentration en facteur IX recombinant par rapport à la méthode chromogène, alors que cette dernière donne des résultats beaucoup plus homogènes et plus près des valeurs attendues [Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2016; Kitchen *et al.*, 2014; Wilmot *et al.*, 2014].

Malgré cette variabilité rapportée, les méthodes chromogène et chronométrique en un temps sont généralement comparables en termes de résultats en ce qui concerne le dosage du facteur IX endogène de même que dans le plasma de patients traités avec des facteurs de coagulation dérivés du plasma. Cependant, des discordances de plus grande envergure ont été mises en évidence entre ces deux méthodes lorsqu'il s'agit de déterminer la concentration plasmatique du facteur IX chez des patients traités avec des produits de remplacement recombinants dont la structure a subi des modifications [Kitchen *et al.*, 2017; Dodt *et al.*, 2015; Human Medicines Development and Evaluation, 2014; Kitchen *et al.*, 2014; Barrowcliffe, 2010].

4.5 Données médico-administratives

L'analyse chromogène ne remplacera pas l'analyse chronométrique en un temps déjà au *Répertoire*. Aucune mention ou statistique de production pour cette analyse.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

L'analyse chromogène viendra raffiner la méthode de dosage des concentrés recombinants structurellement modifiés spécifiquement lors des suivis de traitements. Selon le demandeur, cette nouvelle analyse répond à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement. Les avantages de l'analyse proposée sont :

- Favoriser une méthode de dosage plus précise et spécifique que la méthode chronométrique en un temps actuellement utilisée pour déterminer la concentration plasmatique des concentrés recombinants structurellement modifiés de facteur IX;
- Offrir aux patients traités avec des concentrés recombinants structurellement modifiés de facteur IX un meilleur ajustement de leur médication;
- Offrir l'analyse localement.

4.7 Assurance qualité

Le centre demandeur effectue un contrôle de la qualité par un dosage du facteur IX sur des plasmas témoins lyophilisés STA-System^{MC} Control N et P (normal et pathologique) à chaque analyse d'un échantillon provenant d'un patient. Les valeurs de référence des

plasmas témoins sont déterminées par la compagnie et sont inscrites dans le manuel de l'utilisateur qui accompagne chacune des trousse.

Le demandeur se réserve aussi la possibilité d'utiliser le mélange de plasmas de référence du facteur IX établi par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) si un problème de calibration est décelé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Bien que le centre demandeur ne propose pas l'analyse chromogène pour établir le diagnostic, une étude primaire a été repérée dans laquelle Kihlberg et ses collaborateurs [Kihlberg *et al.*, 2017] ont mesuré le facteur IX dans 50 échantillons de plasmas de patients atteints d'hémophilie B avec les méthodes chromogène et chromométrique en un temps. Les résultats obtenus par les deux méthodes ont permis de diagnostiquer les 6 patients atteints d'hémophilie sévère. Parmi les 44 autres échantillons appartenant à des patients atteints d'hémophilie légère à modérée, des résultats erronés ont été obtenus pour 15 d'entre eux avec la méthode chromométrique en un temps. Quatorze de ces 15 patients présentaient des mutations dans le gène *F9*. Le mécanisme par lequel ces mutations interfèrent avec l'analyse chromométrique en un temps est à ce jour inconnu. Les auteurs concluent que la méthode chromogène devrait être utilisée pour préciser le diagnostic.

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

Bien que l'analyse chromogène puisse revêtir une valeur thérapeutique, aucune étude n'est présentée dans cette section étant donné la rareté des articles publiés et révisés par les pairs.

5.4 Validité analytique

Dosages comparatifs des différents produits de remplacement

La recherche documentaire a permis de repérer deux études évaluant les méthodes de dosage chromogène et chromométrique en un temps des concentrés recombinants présentant différentes modifications structurales [Sommer *et al.*, 2014; Wilmot *et al.*, 2014]. L'étude de Wilmot [2014] porte sur la comparaison du dosage d'un concentré recombinant et d'un produit dérivé du plasma alors que l'étude de Sommer [2014] compare le dosage d'un concentré recombinant pleine longueur à un concentré fusionné avec le fragment Fc des immunoglobulines. Ces études sont résumées à l'annexe A.

Wilmot et ses collaborateurs [2014] ont mené une étude collaborative dans le cadre du remplacement du 3^e standard international de l'OMS⁶ pour le facteur IX. Différents lots

⁶ Lot de l'étalon international de concentré de facteur IX distribué par l'Organisation mondiale de la Santé.

de concentrés recombinants et de concentrés dérivés du plasma ont été analysés à diverses concentrations. Les laboratoires effectuant les analyses ont tous utilisé les mêmes réactifs APTT et les deux laboratoires parmi les 30 qui ont procédé au test chromogène ont employé la trousse Biophen FIX^{MC}. Toutes les analyses ont été réalisées avec le même standard de référence pour un concentré de facteur IX recombinant et le 4^e standard international de l'OMS ainsi que le même appareil de détection. Les auteurs ont constaté que lorsque le 4^e standard de l'OMS est utilisé, la performance du test chromogène est inférieure à celle du test chronométrique en un temps pour le dosage du concentré recombinant (tableau 2).

Tableau 2 Comparaison du dosage du facteur IX d'un dérivé de plasma et d'un concentré recombinant par les méthodes chromogène et chronométrique en un temps avec deux standards

DOSAGE COMPARATIF SELON LA MÉTHODE ET LE STANDARD	4 ^e STANDARD DE L'OMS		RÉFÉRENCE FIX	
	DÉRIVÉ DU PLASMA (100 UI/dl)	rFIX (100 UI/dl)	DÉRIVÉ DU PLASMA (100 UI/dl)	rFIX (100 UI/dl)
Méthode chronométrique en un temps (UI/ml)	91	108	118	107
Méthode chromogène (UI/ml)	99	83	97	98
Valeur de p	> 0,05	< 0,002	0,027	> 0,05
% CV*	1,8-5,1	19,1-23,8	16,3-34,4	4,0-7,9

Source : Wilmot *et al.*, 2014.

Abréviation : OMS : Organisation mondiale de la Santé; rFIX : concentré recombinant de facteur IX; UI : unité internationale; dl : décilitre, CV : coefficient de variation.

* Coefficient de variation géométrique entre les deux méthodes.

Dans cette étude, les auteurs mettent en relief l'importance de faire progresser l'harmonisation des normes de référence et l'uniformité des réactifs dans un souci d'améliorer la précision globale de la mesure des produits recombinants de facteur IX.

Sommer et ses collègues [2014] ont réalisé une étude internationale multicentrique ayant comme objectif principal d'élucider les causes de la variabilité de la méthode de dosage chronométrique en un temps accomplie de routine par chacun des laboratoires impliqués. À titre comparatif, ils ont aussi fait un dosage chromogène des échantillons de référence aux trois concentrations. Les laboratoires effectuant les analyses chronométriques en un temps ont tous employé le 4^e standard international de l'OMS mais chacun a utilisé ses propres réactifs APTT. La trousse Biophen FIX^{MC} a servi pour les dosages chromogènes. Des échantillons de plasmas issus de patients souffrant d'hémophilie B sévère ont été enrichis de trois concentrations connues de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC}. Le coefficient de variation intralaboratoire pour les dosages chronométriques en un temps de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC} grimpaient jusqu'à 40 % alors que celui représentant la variabilité interlaboratoire passait de 12 % à 30% pour BeneFIX^{MC} et de 26 % à 44 % pour Alprolix^{MC} (tableau 3).

Tableau 3 Dosage de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC} par la méthode chronométrique en un temps

FACTEUR IX	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	MÉTHODE EN UN TEMPS (UI/dl)	% VALEUR ATTENDUE	% CV INTRA-LABORATOIRE (n = 3)	% CV INTER-LABORATOIRE (30 laboratoires)
BeneFIX^{MC}	80	96,6	121	0-25,0	12,1
	20	28,9	144	0-21,4	19,7
	5	8,4	168	0-39,8	29,8
Alprolix^{MC} (domaine B, protéine de fusion)	80	70,7	88	0-18,4	26,3
	20	21,4	107	1,4-20,9	35,5
	5	6,6	132	0-36,7	44,1

Source : Sommer *et al.*, 2014.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; CV : coefficient de variation; n : nombre d'expériences indépendantes.

La variabilité observée parmi les laboratoires effectuant les dosages chronométriques en un temps sont tributaires des réactifs APTT utilisés, surtout les activateurs. Des valeurs comparables ont été obtenues pour les deux concentrés avec l'acide ellagique alors que les valeurs ont été sous-estimées avec la silice et davantage avec le kaolin. En excluant les résultats des dosages utilisant le kaolin, plus de 90 % des laboratoires rapportent des résultats à l'intérieur de 30 % des valeurs attendues pour la méthode chronométrique en un temps.

En ce qui concerne la méthode chromogène, BeneFIX^{MC} présentait des valeurs de dosage significativement réduites par rapport aux résultats d'analyse chronométrique en un temps, alors que les résultats pour Alprolix^{MC} étaient plus près des valeurs attendues (tableau 4).

Tableau 4 Dosage de BeneFIX^{MC} et d'Alprolix^{MC} par la méthode chromogène

FACTEUR IX	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	MÉTHODE CHROMOGÈNE (UI/dl) (n = 3)	% DE LA VALEUR ATTENDUE
BeneFIX^{MC}	80	76,3 ± 3,1	95
	20	15,4 ± 1,2	77
	5	3,1 ± 0,7	62
Alprolix^{MC} (domaine B, protéine de fusion)	80	80,8 ± 7,2	101
	20	18,7 ± 2,0	94
	5	4,2 ± 0,5	84

Source : Sommer *et al.*, 2014.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; n : nombre d'expériences indépendantes.

À la lumière des résultats obtenus avec la méthode chronométrique en un temps, les auteurs concluent que la variété des réactifs APTT utilisés pour doser les concentrés ainsi que les différentes méthodologies et normes de référence utilisées contribuent à générer une grande variabilité interlaboratoire dans une majorité de cas. Les résultats de cette étude suggèrent même que pour certains sites où les analyses chronométriques en un temps ont été effectuées, les résultats de dosage obtenus ne devraient pas être considérés pour ajuster la médication car la variabilité et la non-linéarité élevées observées entre les deux méthodes de dosage pour BeneFIX^{MC} et Alprolix^{MC} peuvent rendre les calculs de dose erronés.

Comparaison des trousses

Bowyer et ses collaborateurs [Bowyer *et al.*, 2016] ont mené une étude qui visait notamment à comparer l'efficacité de dix méthodes commerciales de dosage chromométrique en un temps et de deux trousses chromogènes, Biophen FIX^{MC} et Rox Factor IX^{MC}. Des échantillons de plasmas provenant de patients atteints d'hémophilie B sévère enrichis de quatre concentrations connues de BeneFIX^{MC} et d'un concentré dérivé du plasma ont été testés avec les deux méthodes de dosage incluant toutes deux le 4^e standard international de l'OMS. Les résultats obtenus pour le concentré BeneFIX^{MC} avec la trousse Rox Factor IX^{MC} étaient très près des valeurs attendues alors qu'avec la trousse Biophen FIX^{MC} les concentrations les plus faibles ont été sous-estimées (tableau 5).

Tableau 5 Dosage d'un dérivé du plasma et de BeneFIX^{MC} avec deux trousses chromogènes

TROSSE CHROMOGÈNE*	FACTEUR IX	CONCENTRATION CONNUE (UI/dl)	DOSAGE† (UI/dl) (n = 3)	% VALEUR ATTENDUE
Biophen FIX ^{MC}	Dérivé du plasma	79	89 (85-94)	112
		52	62 (58-66)	117
		17	18 (17-20)	95
		2,6	3 (3-3)	102
	BeneFIX ^{MC}	87	67 (65-71)	77
		58	42 (41-44)	73
		19	12 (11-13)	62
		2,9	2 (1-2)	52
Rox Factor IX ^{MC}	Dérivé du plasma	79	96 (77-30)	121
		52	55 (48-59)	104
		17	17 (15-19)	94
		2,6	4 (3-4)	133
	BeneFIX ^{MC}	87	69 (63-74)	79
		58	49 (46-52)	85
		19	14 (12-17)	73
		2,9	5 (2-8)	104

Source : Bowyer *et al.*, 2016.

Abréviation : UI : unité internationale; dl : décilitre; n : nombre d'échantillons par expérience.

* Un seul laboratoire a analysé les échantillons avec les deux trousses.

† Moyenne des dosages de trois expériences indépendantes (gamme des résultats).

Les auteurs concluent que, malgré la variabilité observée, les méthodes chromogène et chromométrique en un temps peuvent doser de manière appropriée le facteur IX du dérivé du plasma et du concentré BeneFIX^{MC}. Selon les auteurs, les deux trousses chromogènes à l'étude sont adéquates.

Trousse Biophen FIX^{MC} de la compagnie Hyphen BioMed

Sensibilité : La limite de détection est inférieure à 2 % pour le spectre de concentrations élevées et inférieure à 0,5 % pour le spectre de concentrations faibles.

Précision : La répétabilité de la trousse, c'est-à-dire la variabilité intra-essai, montre un coefficient de variation de 1,2 % pour des échantillons normaux⁷ et de 2,4 % pour des échantillons ayant un déficit en facteur IX. La reproductibilité, soit la variabilité inter-essai se situe entre 4,9 % et 6,2 % pour des échantillons normaux et entre 5,6 % et 6,4 % pour des échantillons déficitaires en facteur IX (tableau 6).

Tableau 6 Données de précision de la trousse Biophen FIX^{MC}

ÉCHANTILLON	SPECTRE DES CONCENTRATIONS ÉLEVÉES			SPECTRE DES CONCENTRATIONS FAIBLES					
	INTRA-ESSAI			INTER-ESSAI			INTER-ESSAI		
	n	% FIX	% CV	n	% FIX	% CV	n	% FIX	% CV
Normal	30	85,7	1,2	80	83,1	4,9	80	8,3	6,2
Déficitaire en facteur IX	30	36,5	2,4	80	35,7	5,6	80	3,6	6,4

Source : Tableau adapté du manuel de l'utilisateur fourni par Hyphen BioMed [2016].

Abréviations : n : nombre d'échantillons; FIX : facteur IX; CV : coefficient de variation.

Les performances analytiques de la trousse sont rapportées plus en détails dans le manuel de l'utilisateur fourni par le fabricant [Hyphen BioMed, 2016].

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur n'a pas été en mesure de fournir des données de validation.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur IX par méthode chromogène. 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 7. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée par le demandeur cible des patients atteints d'hémophilie B sévère recevant un facteur IX qualifié de longue action (par exemple, associé à une protéine de fusion ou pégylé) par les experts consultés.
- Selon la base de données du registre canadien de l'hémophilie de l'Université McMaster, il est anticipé que 40, 40 et 41 patients⁸ seront atteints d'hémophilie B sévère au Québec au cours des trois prochaines années, respectivement.
- L'analyse serait effectuée pour assurer le suivi des concentrations du

⁷ La valeur du taux de facteur IX dite normale est en général entre 70 % et 130 % alors que celle des hémophiles est inférieure à 25 %. Ces valeurs de référence sont données à titre informatif uniquement puisque la courbe d'étalonnage doit être réalisée par chaque laboratoire afin d'établir ses propres valeurs relatives [Hyphen BioMed, 2016].

⁸ Cela tient compte d'une augmentation du nombre de patients équivalente au taux de croissance de la population québécoise en 2015, soit de 0,61 %. Ceci étant basé sur la plus récente mise à jour de l'Institut de la statistique du Québec.

facteur IX à raison d'une à deux fois par année et plus fréquemment lors d'accidents ou de chirurgies majeures.

- L'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 51,14.
- Les coûts liés à une modification de la prise en charge des patients, notamment en ajustement posologique, à la suite de cette analyse n'ont pas été considérés par manque de données scientifiques.
- Selon les données du MSSS, le traitement des patients atteints d'hémophilie B sévère au Québec est presque exclusivement réalisé à l'aide d'agents à courte action, dont le dosage est effectué par analyse chromométrique en un temps. L'usage des produits à action prolongée est actuellement rare. Il est toutefois anticipé que ces produits prendront progressivement une faible part de marché.
- Ainsi, il est anticipé que 12, 14 et 14 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement. Une diminution équivalente du nombre d'analyses chromométriques en un temps est prévue pour cette période.

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur IX par méthode chromogène

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses par méthode chromogène	12	14	14	40
Coûts	614 \$	716 \$	716 \$	2 046 \$
Analyses par méthode chromométrique en un temps	12	14	14	40
Coûts	65 \$	76 \$	76 \$	217 \$
Impact net	549 \$	640 \$	640 \$	1 829 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			457 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			2 744 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant de déterminer la concentration du facteur IX par méthode chromogène pourrait générer des coûts d'environ 1 800 \$ pour le total des trois premières années. Cela inclut une diminution d'un nombre équivalent d'analyses chromométriques en un temps (code : 20082, VP : 5,4) générant une réduction de coûts d'environ 200 \$. Par ailleurs, advenant que la méthode chromogène puisse permettre un dosage plus adéquat, le nombre d'unités de concentré de facteur utilisé pourrait être optimisé et cela pourrait influencer les coûts de traitement.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Présentement, les trousses commerciales standardisées et homologuées à des fins de diagnostic disponibles pour la détermination de la concentration plasmatique du facteur IX sont peu nombreuses en plus d'être dispendieuses et nécessitent un appareillage particulier ainsi que du personnel de laboratoire qualifié pour effectuer ce type d'analyses [Kitchen *et al.*, 2016]. Les enjeux organisationnels dépendent donc du déploiement des nouveaux produits de remplacement structurellement modifiés à venir.

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

Le MASAC (Medical and Scientific Advisory Council) du NHF (National Hemophilia Foundation) recommande que les laboratoires qui effectuent de routine des analyses pour déterminer la concentration plasmatique de facteurs de coagulation à partir d'échantillons de patients atteints d'hémophilie A et B considèrent l'application de la méthode chromogène lorsqu'elle est disponible et approuvée par les autorités locales [Kitchen *et al.*, 2016; Medical and scientific advisory council, 2014].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détermination de la concentration du facteur IX par méthode chromogène

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

- ✓ Le comité recommande une introduction conditionnelle à la production de données locales de vérification de la trousse.

ANNEXE A : Tableau de comparaison des méthodes de dosage chromogène et chronométrique en un temps des différents concentrés de facteur ix offerts au Québec

AUTEUR	ÉTUDE ET OBJECTIF	ÉCHANTILLONS	CONCENTRÉ (STRUCTURE)	TEST CHROMOGÈNE	TEST CHRONO EN UN TEMPS	VARIABILITÉ INTRA-LABORATOIRE (% CV)		VARIABILITÉ INTER-LABORATOIRE (% CV)		CONCLUSION
						Chromogène	Chrono en un temps	Chromogène	Chrono en un temps	
Facteur IX recombinant, pleine longueur (rFIX)										
[Wilmot et al., 2014]	Étude comparative (30 laboratoires dont 2 effectuant le test chromogène) des deux méthodes pour le dosage d'un concentré recombinant (rFIX) et d'un produit dérivé du plasma (pdFIX)	Produits de remplacement de concentration connue	rFIX	Standard : 4 ^e standard de l'OMS ou la référence rFIX Trousse Biophen FIX ^{MC} Instrument : ACL TOP 500	Standard : 4 ^e standard de l'OMS ou la référence rFIX Réactifs APTT : APTT-SP, SynthAFax, Actin FS Instrument : ACL TOP 500	s.o.	19-24% pour rFIX et 2-5% pour pdFIX lorsque le 4 ^e standard de l'OMS est utilisé 4-8% pour rFIX et 16-34% pour pdFIX lorsque la référence rFIX est utilisé	s.o.	s.o.	Une différence significative est observée entre les deux méthodes pour le dosage du rFIX lorsque que le 4 ^e standard de l'OMS est utilisé, alors que les résultats pour le pdFIX sont similaires. L'inverse se produit lorsque la référence rFIX est utilisée comme standard. Lorsque le 4 ^e standard de l'OMS est utilisé, la performance du test chromogène est inférieure à celle du test chronométrique en un temps. Leur performance redevient similaire lorsque la référence du rFIX est utilisée.
Facteur IX recombinant, lié au domaine FC des immunoglobulines (rFIX-Fc)										
[Sommer et al., 2014]	Étude internationale multicentrique (30 laboratoires et 7 pays) avec objectif d'élucider les causes de la variabilité du dosage chronométrique en un temps utilisé de routine	Plasmas de patients atteints d'hémophilie B sévère enrichis de 3 concentrations connues de BeneFIX ^{MC} ou Alprolix ^{MC}	BeneFIX ^{MC} (rFIX) Alprolix ^{MC} (rFIX-Fc)	4 ^e standard de l'OMS Trousse Biophen FIX ^{MC} Instrument : SpectraMax M5	4 ^e standard de l'OMS ou le standard Precision Biologic Différents réactifs APTT et différents instruments utilisés selon les laboratoires	s.o.	Jusqu'à 40% pour BeneFIX ^{MC} Jusqu'à 37% pour Alprolix ^{MC}	s.o.	12-30% pour BeneFIX ^{MC} 26-44% pour Alprolix ^{MC} (variabilité significative)	Dépendance aux activateurs observée : valeurs comparables pour les deux concentrés avec l'acide ellagique, valeurs sous-estimées avec la silice et davantage avec la kaolin. En excluant les valeurs avec la kaolin, plus de 90 % des laboratoires rapportent des valeurs de dosage à l'intérieur de 30 % des valeurs attendues.

Abréviations : CV : coefficient de variation; rFIX : facteur IX recombinant; pdFIX : facteur IX dérivé du plasma; OMS : Organisation mondiale de la Santé; APTT : *Activated Partial Thromboplastin Time*; s.o. : sans objet; rFIX-Fc : facteur IX recombinant lié au domaine Fc des immunoglobulines.

RÉFÉRENCES

- Barrowcliffe TW. Laboratory testing and standardisation. *Haemophilia* 2013;19(6):799-804.
- Barrowcliffe TW. Insights from factor IX activation studies with chromogenic assays: Implications of disparate product results. *Haemophilia* 2010;16(Suppl 6):9-12.
- Biggs R et Douglas AS. The thromboplastin generation test. *J Clin Pathol* 1953;6(1):23-9.
- Bowyer AE, Van Veen JJ, Goodeve AC, Kitchen S, Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013;98(12):1980-7.
- Committee for medicinal products for human use (CHMP). Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor VIII products. EMA/CHMP/BPWP/144533/2009 rev.1. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2016. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/02/WC500201773.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- DiMichele D. Inhibitor development in haemophilia B: An orphan disease in need of attention. *Br J Haematol* 2007;138(3):305-15.
- Dodt J, Hubbard AR, Wicks SJ, Gray E, Neugebauer B, Charton E, Silvester G. Potency determination of factor VIII and factor IX for new product labelling and postinfusion testing: Challenges for caregivers and regulators. *Haemophilia* 2015;21(4):543-9.
- Duan X, Tang M, Zhang J, Yu H, Xu R. Promising coagulation factor VIII bypassing strategies for patients with haemophilia A. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014;25(6):539-52.
- Favaloro EJ, Verbruggen B, Miller CH. Laboratory testing for factor inhibitors. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):94-8.
- Fields PA, Arruda VR, Armstrong E, Chu K, Mingozzi F, Hagstrom JN, et al. Risk and prevention of anti-factor IX formation in AAV-mediated gene transfer in the context of a large deletion of F9. *Mol Ther* 2001;4(3):201-10.
- Franchini M. Current management of hemophilia B: Recommendations, complications and emerging issues. *Expert Rev Hematol* 2014;7(5):573-81.
- Human Medicines Development and Evaluation. Workshop report: Characterisation of new clotting factor concentrates (FVIII, FIX) with respect to potency assays used for labelling and testing of post infusion samples. EMA/135928/2014. Londres, Angleterre : European Medicines Agency (EMA); 2014. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2014/07/WC500169760.pdf (consulté le 3 mai 2017).
- Hyphen BioMed. Biophen FIX (Ref 221802). Méthode chromogène pour dosage du Facteur IX sur plasma ou concentrés thérapeutiques. Neuville-sur-Oise, France : Hyphen BioMed; 2016. Disponible à : http://www.hyphen-biomed.com/images/Notices/BI-BIOPHEN/FR-D750-01/01-1802_FIX%202-5ml.pdf (consulté le 11 mai 2017).

- Jennings I, Kitchen DP, Woods TA, Kitchen S, Walker ID, Preston FE. Laboratory performance in the World Federation of Hemophilia EQA programme, 2003-2008. *Haemophilia* 2009;15(2):571-7.
- Kihlberg K, Strandberg K, Rosen S, Ljungs R, Astermark J. Discrepancies between the one-stage clotting assay and the chromogenic assay in haemophilia B. *Haemophilia* 2017;23(4):620-7.
- Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor activity assays for monitoring extended half-life FVIII and Factor IX replacement therapies. *Semin Thromb Hemost* 2017;43(3):331-7.
- Kitchen S, Blakemore J, Friedman KD, Hart DP, Ko RH, Perry D, et al. A computer-based model to assess costs associated with the use of factor VIII and factor IX one-stage and chromogenic activity assays. *J Thromb Haemost* 2016;14(4):757-64.
- Kitchen S, Signer-Romero K, Key NS. Current laboratory practices in the diagnosis and management of haemophilia: A global assessment. *Haemophilia* 2015;21(4):550-7.
- Kitchen S, Gray E, Mertens K. Monitoring of modified factor VIII and IX products. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):36-42.
- Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. Le diagnostic de l'hémophilie et des autres troubles de coagulation – Manuel de laboratoire. Deuxième édition. Montréal, Qc : Fédération mondiale de l'hémophilie (FMH); 2010. Disponible à : <http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1285.pdf> (consulté le 3 mai 2017).
- Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2013;35(1):1-13.
- National Hemophilia Foundation (NHF). MASAC statement regarding use of various clotting factor assays to monitor factor replacement therapy. MASAC Document #228. New York, NY : NHF; 2014. Disponible à : <https://www.hemophilia.org/sites/default/files/document/files/masac-228.pdf> (consulté le 3 mai 2017).
- Pouplard C, Trossaert M, Le Querrec A, Delahousse B, Giraudeau B, Gruel Y. Influence of source of phospholipids for APTT-based factor IX assays and potential consequences for the diagnosis of mild haemophilia B. *Haemophilia* 2009;15(1):365-8.
- Ruinemans-Koerts J, Peterse-Stienissen I, Verbruggen B. Non-parallelism in the one-stage coagulation factor assay is a phenomenon of lupus anticoagulants and not of individual factor inhibitors. *Thromb Haemost* 2010;104(5):1080-2.
- Sommer JM, Buyue Y, Bardan S, Peters RT, Jiang H, Kamphaus GD, et al. Comparative field study: Impact of laboratory assay variability on the assessment of recombinant factor IX Fc fusion protein (rFIXFc) activity. *Thromb Haemost* 2014;112(5):932-40.
- Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1-47.
- Wilmot HV, Hogwood J, Gray E. Recombinant factor IX: Discrepancies between one-stage clotting and chromogenic assays. *Haemophilia* 2014;20(6):891-7.

World Federation of Hemophilia. Report on the annual global survey 2015. Montréal, Qc :
World Federation of Hemophilia; 2016. Disponible à :
<http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1669.pdf> (consulté le 3 mai 2017).