

OCTOBRE 2017

AVIS

DOSAGE DU COMPLÉMENT sC5b-9

(RÉFÉRENCE - 2017.01.012)

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 DU COMPLÉMENT sC5b-9 (RÉFÉRENCE - 2017.01.012)

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^{re} Jeannine Kassis, (Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont);
- D^r David Philibert, (Néphrologue, CHU de Québec).

2 RÉSUMÉ

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de microangiopathie thrombotique (MAT) caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale. Il s'agit d'une maladie rare dont l'incidence est estimée à environ 0,5 à 2 par million. Le SHUa est associé à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément. Son diagnostic est basé sur un diagnostic différentiel suite à l'exclusion d'un purpura thrombotique thrombocytopénique, d'un SHU typique et d'une MAT secondaire associée à une étiologie sous-jacente. Le dosage du sC5b-9 proposé pourrait servir à préciser le diagnostic d'un SHUa complément-dépendant.

Trois études ont montré que les patients en phase active d'un SHUa présentaient un niveau plus élevé de sC5b-9. Deux de ces études ont montré que la concentration en sC5b-9 diminuait de façon significative en rémission. Toutefois, il a été observé que la concentration en sC5b-9 n'était pas élevée chez tous les patients en phase active d'un SHUa et qu'il demeurait élevé chez certains patients en rémission. Un niveau élevé de sC5b-9 a également été rapporté chez certains patients ayant développé une MAT secondaire à une autre condition. Une étude a montré que la proportion de patients présentant une concentration élevée en sC5b-9 avec une MAT n'était pas significativement différente de celle des patients sans MAT.

Deux études repérées dans la littérature ont montré que les patients avec un SHUa secondaire à une autre condition avec une concentration élevée en sC5b-9 au diagnostic présentaient un risque augmenté de mortalité.

Une étude a montré que la concentration en sC5b-9 était significativement réduite chez des patients atteints d'un SHUa ou d'une glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3) suivant un traitement à l'éculizumab. Cependant, un niveau élevé de sC5b-9 était observé chez certains patients avec un SHUa et une GC3 malgré un traitement à l'éculizumab. Une autre étude a montré que, chez les patients ayant développé une MAT suivant une greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH), plus le niveau en sC5b-9 au début du traitement à l'éculizumab était élevé, plus le temps de normalisation du sC5b-9 et le temps de réponse clinique étaient longs.

Le demandeur propose d'utiliser la trousse ELISA MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel. Le demandeur a fourni des coefficients de variation intra-essai de 4 % et inter-essai de 6 % et de 3 % (pour les contrôles à basse concentration et à concentration élevée) comme données de validation.

L'ajout de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 46 350 \$ pour le total des trois premières années.

Selon le groupe du Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO, 2017), la clinique Mayo (2016) et le groupe SHU International (2016), il n'existe pas suffisamment de données permettant d'appuyer la fiabilité du dosage du sC5b-9 comme marqueur du SHUa et de la GC3. Les experts ne recommandent pas le dosage du sC5b-9 comme outil pour le suivi des patients traités à l'éculizumab.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage du complexe terminal du complément soluble C5b-9 par ELISA (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) a pour but d'en déterminer la concentration dans un échantillon de plasma.

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 et urémique atypique (SHUa). Selon le demandeur, un résultat positif au test ELISA devrait permettre de préciser le diagnostic du SHUa complément-dépendant et de justifier un traitement à l'éculizumab.

3.2 Description de la méthode

La mesure de la concentration en sC5b-9 présent dans l'échantillon sanguin du malade sera réalisée par une méthode semi-automatique à l'aide de la trousse MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel¹. Il s'agit d'un ELISA de type sandwich par lequel le sC5b-9 présent dans l'échantillon est lié par un anticorps monoclonal, dirigé contre l'anneau C9 du sC5b-9, préalablement fixé aux puits d'une microplaque. Un second anticorps couplé à la peroxydase spécifique aux antigènes du sC5b-9 est ajouté et se lie à son tour au complexe. Ces interactions sont mises en évidence par l'ajout d'un substrat de la peroxydase, le tétraméthylbenzidine (TMB), qui résulte en une réaction colorimétrique. Suite à l'ajout d'une solution d'arrêt, l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm. Cette mesure est proportionnelle à la quantité de sC5b-9 présent dans l'échantillon et peut être déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à partir des standards fournis avec la trousse.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins sur citrate de sodium² 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 niveau de sC5b-9 peut être mesuré :

- au moment du diagnostic,
- au moment d'une récurrence dans le cas d'un SHUa préalablement confirmé,
- au moment d'une récurrence suivant une greffe rénale dans le cas d'un SHUa confirmé,
- lors du suivi de patients dont l'arrêt du traitement à l'éculizumab est planifié.

Un délai de deux semaines est prévu par le demandeur pour cette analyse.

¹ Quidel Corporation. MicroVue Complement SC5b-9 Plus, disponible à : <https://www.quidel.com/sites/default/files/product/documents/PIA029001FR00.pdf>.

² 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. Source : Procédure opératoire normalisée PON-COAG-0083v2 (en vigueur le 1er mai 2017).

3.4 Société ou concepteur

Trousse commerciale ELISA MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel.

3.5 Homologation

La trousse n'est pas homologuée par Santé Canada mais a reçu la conformité européenne (CE).

3.6 Valeur pondérée : 111,00

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par l'analyse sont ceux qui présentent des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et une activité ADAMTS-13 (de l'anglais *ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 13*) supérieure à 10 %.

4.2 Description de la maladie visée

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de MAT caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale [Caprioli *et al.*, 2006]. On distingue le SHUa de la forme typique de SHU chez les enfants, une forme qui est causée par une infection avec certaines souches d'*Escherichia coli* produisant la Shiga-toxine (STEC-HUS, de l'anglais *Shiga toxin Escherichia coli associated hemolytic uremic syndrome*) [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007]. Il s'agit d'une maladie rare, constituant 10 % des SHU [Soudabeh *et al.*, 2014] et dont l'incidence annuelle est estimée à environ 0,5 à 2 par million [Goodship *et al.*, 2017; Kavanagh *et al.*, 2013]. Le SHUa peut survenir à tous les 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. Dans la moitié des cas, ce sont des mutations des gènes régulateurs du complément notamment le facteur H, le facteur I et MCP (de l'anglais, *membrane cofactor protein*) qui mènent au développement du SHUa [Soudabeh *et al.*, 2014]. Par ailleurs, chez plusieurs patients présentant une prédisposition génétique, une condition initiatrice est requise afin que le SHUa se manifeste (SHUa secondaire) comme la greffe d'un tissu allogénique, une grossesse, le développement de certaines infections, conditions auto-immunes ou métaboliques, la prise de certains médicaments, etc. [Kavanagh *et al.*, 2013; Caprioli *et al.*, 2006]. Chez la majorité des patients, une insuffisance rénale terminale se développe dans les deux ans suivant la présentation [Goodship *et al.*, 2017].

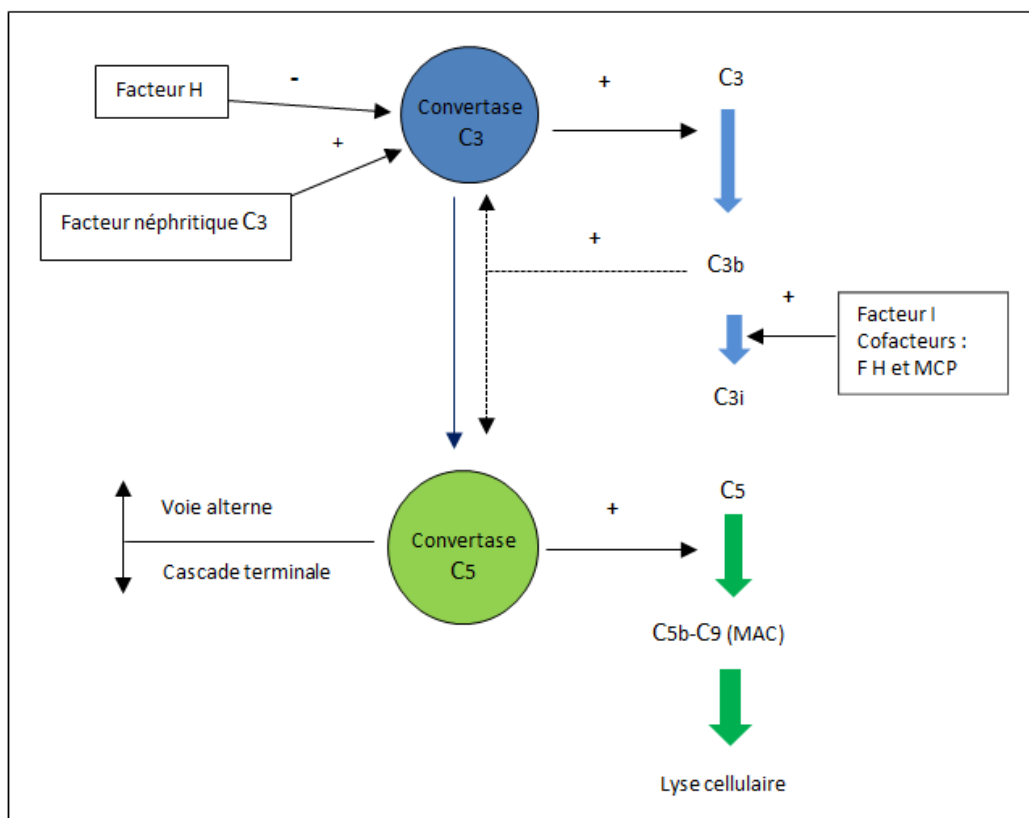


Figure 1 Voie alterne d'activation du complément

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*)

Un défaut de régulation impliquant le complément a été rapporté pour le SHUa de même que pour le STEC-HUS. Une augmentation de la concentration du facteur Bb, et du facteur soluble C5b-9 a été observée chez les patients atteints de STEC-HUS [Ferraris *et al.*, 2015; Thurman *et al.*, 2009]. De plus, des mutations dans des gènes associés au complément ou la présence d'autoanticorps du facteur H sont signalés chez 60 % à 70 % des patients souffrant d'un SHUa [Loirat *et al.*, 2016].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur prévoit traiter des demandes hors Québec et estime à 100 le nombre de tests effectués par année, et ce, pour les 3 prochaines années.

4.4 Brève description de la situation actuelle

En présence d'un profil clinique suggestif de MAT, un dosage d'activité ADAMTS-13 est effectué dans un premier temps afin d'exclure un PTT. L'exclusion d'un SHU associé à la Shiga-toxine est également prioritaire. Dans un second temps, une évaluation complète est réalisée afin d'exclure une MAT secondaire (cancer, hypertension maligne et insuffisance rénale, greffe de cellules souches hématopoïétiques, agents de chimiothérapie, condition infectieuse) qui est plus fréquente et pour laquelle un traitement à l'éculizumab n'est pas indiqué³. Une évaluation de l'activation du complément peut ensuite être effectuée dans le contexte suivant :

- en présence d'une manifestation de MAT primaire,
- lors d'une récurrence de MAT ou d'une récurrence suite à une greffe rénale⁴,
- pour le suivi de patients dont un arrêt de traitement à l'éculizumab est planifié⁵,
- en cas de grossesse avec pré-éclampsie et MAT en présence de complications rénales persistantes suivant la grossesse,
- en présence d'une néphropathie à dépôts de C3, non-associée à une MAT secondaire, afin d'évaluer le potentiel d'utilisation d'éculizumab comme traitement.

Le dosage du sC5b-9 est un test fonctionnel permettant de mesurer l'état d'activation du complément dans le diagnostic des MAT primaires et secondaires. Cette analyse est souvent réalisée en parallèle avec le dosage du complément hémolytique 50 (CH50) qui permet de mesurer la capacité du sérum analysé à activer le complément et à causer la lyse des érythrocytes. Le demandeur effectue déjà le dosage du sC5b-9. Au cours de la dernière année, le demandeur a effectué 183 analyses pour lesquelles environ 20 % des demandes provenaient de l'extérieur du Québec⁶. Le demandeur a fourni l'algorithme diagnostique de MAT du Cincinnati Children's Hospital (annexe A). Parmi les analyses suggérées, les suivantes sont inscrites dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2016-2017* (ci-après nommé *Répertoire*) :

20769 : Composantes du complément

20771 : Complément sérique total (CH50) (activité)

20995 : Activation du complément (ELISA)

20997 : Complément facteur H (antigène)

20776 : Complément C3 (antigène)

20777 : Complément C4 (antigène)

³ Information transmise par la D^e Jeannine Kassis, hématologue, Université de Montréal, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (31 mai 2017).

⁴ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

⁵ Idem à 88 et 89

⁶ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (16 juin 2017).

20850 : Complément facteur B (antigène)

Les analyses moléculaires du facteur H, du facteur I, du CD46, du facteur B, de la protéine C3, de la thrombomoduline, et des protéines CFHR1 à 5 (*complement factor H related proteins 1 to 5*) sont envoyées hors réseau (tableau 1).

4.5 Données médico-administratives

Le dosage du sC5b-9 n'est pas inscrit dans le *Répertoire*. Entre 2013 et 2016, 21 analyses ont été envoyées hors Québec, dont :

- 6 au Cincinnati Children's Hospital Medical Center;
- 2 au National Jewish Health;
- 5 au University of Iowa Molecular Laboratory;
- 5 au Universitäts Klinikum Heidelberg;
- et 3 à l'Institute for Immunology.

Tableau 1 Envois hors Québec des analyses du complément pour les années 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016

ANALYSE	2013 - 2014		2014 - 2015		2015 - 2016	
	NOMBRE	COÛT (\$)	NOMBRE	COÛT (\$)	NOMBRE	COÛT (\$)
Dosage du sC5b-9	4	492	4	894	13	2 199
Anti-facteur H	28	4 932	32	1 931	19	1 931
Analyse moléculaire du complément	6	19 400	10	29 384	8	30 508

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

Tableau 2 Volumétrie des analyses en lien avec le complément pour les années 2014-2015 et 2015-2016

ANALYSE	2014 - 2015		2015 - 2016	
	NOMBRE	COÛT (\$)	NOMBRE	COÛT (\$)
Facteur H (antigène)	35	2 240	34	2 142
Composantes du complément	364	30 491	929	65 030
Complément sérique total (CH50)	1 735	57 988	990	39 900
Complément C3 (antigène)	40 832	191 895	41 126	193 292
Complément C4 (antigène)	40 776	193 454	41 796	196 441
Complément facteur B (antigène)	2	216	6	636
Activation du complément (ELISA)	5 943	95 088	6 596	104 876

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

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, le dosage du sC5b-9 pourrait servir à :

- préciser le diagnostic d'un SHUa complément-dépendant;
- confirmer la disparition de la MAT complément-dépendante;
- évaluer l'efficacité du traitement à l'écuzumab lors d'une MAT complément-dépendante.

4.7 Assurance qualité

Le laboratoire demandeur prévoit l'envoi de deux échantillons (un échantillon pathologique et un échantillon normal) une à deux fois par année au Centre national de référence en microangiopathie thrombotique (CNR-MAT) pour comparer les résultats.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Valeur diagnostique

Sept études rapportant des mesures de concentration du complexe du complément terminal soluble sC5b-9 en relation avec des MAT ont été repérées dans la littérature [Farkas *et al.*, 2017a; Song *et al.*, 2017; Bu *et al.*, 2015; Volokhina *et al.*, 2015; Cataland *et al.*, 2014; Jodele *et al.*, 2014; Noris *et al.*, 2014]. Les critères de définition du SHUa pour les différentes études sont présentés à l'annexe B.

Dosage du sC5b-9 dans le SHUa

Volokhina et ses collègues [2015] ont analysé l'état d'activation de la voie alterne du complément chez les patients en phase aigüe d'un SHUa⁷ (n = 6) et en rémission pour plus d'un an (n = 11). La phase aigüe était définie par la présence d'une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale terminale. Une concentration élevée en sC5b-9 a été constatée chez tous les patients en phase aigüe (7,79 UA⁸/ml ± 4,6 UA/ml) comparativement au groupe témoin⁹ (p < 0,0001). Aucune différence n'a été observée entre la concentration chez les patients en rémission et celle du groupe témoin. Les auteurs ont conclu qu'une activation du complément peut être démontrée dans le sang des patients en phase aigüe, mais que les niveaux des marqueurs d'activation du complément se normalisent en période de rémission.

Song et ses collaborateurs [2017] ont évalué les paramètres cliniques et les composantes du complément circulant chez une cohorte pédiatrique chinoise de 33 patients atteints du SHUa avec des anticorps anti-facteur H. Le niveau du sC5b-9 plasmatique était significativement plus élevé chez les patients que chez les témoins (876,55 ng/ml [EIQ : 550,24 à 1 326,52] contre à 267,16 ng/ml [EIQ : 139,50 à 448,06]; p < 0,001). Le niveau du sC5b-9 était réduit en période de rémission comparativement au niveau en phase aigüe (135,75 ng/ml ± 71,16 ng/ml et 1 023,53 ng/ml ± 522,12 ng/ml; p = 0,001). En période de rémission, les auteurs ont

⁷ Patients âgés de 7 mois à 12 ans.

⁸ Unités arbitraires

⁹ Sujets sains adultes

observé un retour à la normale des niveaux plasmatiques de C3a, C5a et sC5b-9. Ils ont suggéré que les protéines du complément C3a, C5a et le sC5b-9 pourraient servir de marqueurs pronostics d'activité d'un SHUa et d'efficacité de traitement.

Cataland et ses collègues [2014] ont analysé des biomarqueurs de l'activation terminale du complément dans le but d'identifier un marqueur diagnostique de SHUa qui permettrait de prédire une réponse à une inhibition du complément tôt dans le traitement. Ils ont également observé une augmentation du niveau du sC5b-9 chez tous les patients atteints d'un SHUa. Ils ont ensuite comparé la concentration des 19 patients atteints d'un SHUa à celle d'une cohorte de 38 patients¹⁰ ayant reçu un diagnostic de PTT et ils ont noté qu'elle était significativement plus élevée chez les patients souffrant du SHUa (tableau 3). Toutefois, dû au chevauchement des concentrations, les auteurs ont été incapables d'établir un seuil de sC5b-9 permettant de différencier les patients atteints d'un SHUa de ceux atteints de PTT.

Tableau 3 Concentration en sC5b-9 chez des patients atteints de SHUa et PTT en phase aigüe

DIAGNOSTIC (n)	CONCENTRATION (ng/ml)
SHUa (19)	1 098 (422 à 4 840)
PTT (38)	585 (210 à 1 924)
Valeur p	< 0,0001

Source : Cataland *et al.*, 2014.

Abréviations : PTT : purpura thrombotique thrombocytopenique; SHUa : syndrome hémolytique et urémique.

* Valeurs normales de 33,9 ng/ml à 238,2 ng/ml.

Noris et ses collègues [2014] ont analysé 44 patients ayant reçu un diagnostic de SHUa afin d'évaluer différentes méthodes d'analyses de l'activation du complément et d'identifier un biomarqueur pour le dosage de l'éculizumab. Le dosage du sC5b-9 a montré que 53 % (10/19) des patients en phase aigüe avaient un niveau supérieur à la normale. De plus, le niveau de sC5b-9 demeurait élevé chez 64 % (23/36) des patients en rémission. Les auteurs ont également observé un niveau inchangé du sC5b-9 chez huit patients suivant un traitement à l'éculizumab. À la suite de ces observations, les auteurs ont conclu que la concentration en sC5b-9 ne constitue pas un bon marqueur de l'activation du complément pour le SHUa.

Valeur clinique du dosage du sC5b-9 dans le SHUa

L'objectif de Bu et ses collègues [2015] était de mesurer le niveau du sC5b-9 dans une cohorte de patients en phase active (n = 55) et inactive (n = 29) de SHUa afin d'expliquer les résultats divergents des études de Volokhina et ses collaborateurs [2014], de Cataland et ses collaborateurs [2014] et de Noris et ses collaborateurs [2014]. Les critères d'inclusion des patients dans l'étude sont présentés à l'annexe B. Les auteurs ont observé un niveau élevé en sC5b-9 chez 24 de 55 cas actifs et 3 de 29 cas inactifs (p = 0,003). La concentration moyenne de sC5b-9 était de 289 ng/ml ± 120 ng/ml chez les patients en phase active de la maladie comparativement à 191 ng/ml ± 122 ng/ml en phase inactive (p < 0,001). Selon ces

¹⁰ Provenant d'une autre étude [Wu et al., 2013].

auteurs, un niveau augmenté de sC5b-9 est indicatif d'un SHUa actif, mais le résultat du dosage (valeur prédictive positive de 89 % et négative de 46 %) devrait être intégré aux résultats de d'autres essais du complément.

Les auteurs ont souligné que les critères d'inclusion ou d'exclusion des études (numération plaquettaire, créatine sérique et activité ADAMTS-13, annexe B), la méthode de prélèvement et de traitement des échantillons (préparation du plasma, temps d'entreposage, cycles de gel/dégel) et la méthode de dosage du sC5b-9 étaient probablement à l'origine de cette disparité entre les études. Selon ces auteurs, la valeur du sC5b-9 comme biomarqueur du SHUa actif demeure non-résolue pour les cliniciens.

Valeur clinique du sC5b-9 dans le SHUa secondaire

Jodele et ses collaborateurs [2014] ont analysé une cohorte prospective de 90 patients ayant reçu une greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) afin d'évaluer, entre autres, l'incidence de MAT dans ce groupe. Ils ont constaté qu'un plus grand nombre de patients démontrant une MAT avaient un niveau élevé en sC5b-9 au diagnostic comparativement aux 20 greffés sans MAT analysés 30 jours après la greffe qui correspondait au temps médian pour le diagnostic de MAT (32 jours [EIQ : 17 à 43]). Par ailleurs, la concentration en sC5b-9 chez les patients GCSH avec MAT était plus élevée (tableau 4).

Tableau 4 Niveau de sC5b-9 chez les patients ayant reçu une GCSH

sC5b-9	AVEC MAT	SANS MAT	VALEUR p
Concentration élevée*	26/39 (67 %)	4/20 (20 %)	< 0,01
Concentration médiane (ng/ml)	332,9 (IEQ : 274,45 à 445,05)	201,4 (EIQ : 171,7 à 273,9)	0,03

Abréviations : IEQ : intervalle interquartile; MAT : microangiopathie thrombotique

*Valeur normale entre 72 ng/ml et 244 ng/ml

Farkas et ses collaborateurs [2017a] se sont intéressés, entre autres, à l'activation du complexe terminal du complément et au pronostic des patients atteints d'une MAT secondaire à une autre condition médicale (cancer, maladie auto-immune, sepsie, greffe d'organe solide, opération à cœur ouvert). Suite à une analyse du complément, ils ont observé un niveau plus élevé en sC5b-9 chez 76 % des patients atteints de MAT secondaires par rapport aux sujets sains ($p = 0,0004$). Cependant, 58 % des patients souffrant d'une maladie similaire au premier groupe mais ne présentant pas la complication microangiopathique présentaient aussi des niveaux élevés de sC5b-9.

5.2 Valeur pronostique

Dans la littérature, deux études associant un mauvais pronostic à une MAT secondaire avec une concentration élevée en sC5b-9 ont été repérées [Farkas *et al.*, 2017a; Jodele *et al.*, 2014].

La concentration en sC5b-9 comme facteur associé à un risque accru de mortalité chez les patients ayant reçu un diagnostic de MAT secondaire

L'objectif de l'étude de Jodele et ses collaborateurs [2014] était d'identifier les facteurs associés à un risque plus élevé de mortalité chez les patients ayant reçu un diagnostic de MAT suite à une GCSH. Des 90 patients ayant reçu une greffe allogénique, 39 répondaient aux critères cliniques de MAT (annexe B). De ceux-ci, 18 (46,2 %) sont décédés dans l'année suivant la greffe comparativement à 5 de 51 (9,8 %) patients avec (GCSH) sans MAT ($p < 0,01$). Les patients avec une MAT et GCSH présentaient un risque accru de décès à un an suivant la greffe ($43,6 \% \pm 8 \%$ contre $7,8 \% \pm 3,8 \%$; $p < 0,0001$).

Des 39 patients avec une MAT, 28 avaient une concentration élevée en sC5b-9. Dans ce groupe, 17 décès sont survenus comparativement à un seul dans le groupe avec une concentration normale de sC5b-9 ($60,7 \%$ contre 9% ; $p = 0,004$). Les patients avec une MAT qui sont décédés avaient une concentration médiane de 498,2 ng/ml (EIQ : 304,8 à 713,2) comparativement à 289 ng/ml (EIQ : 143,8 à 360,4; $p < 0,001$) chez les survivants avec une MAT à 1 an.

Afin d'identifier les facteurs associés à la mortalité à un an suivant la greffe, les auteurs ont comparé des paramètres cliniques mesurés dans une période de trois jours précédant ou suivant le diagnostic de la MAT entre les patients décédés et vivants à un an. Les patients qui avaient une protéinurie supérieure ou égale à 30 mg/dl ou un niveau élevé de sC5b-9 (supérieur à 244 ng/ml) au diagnostic de la MAT avaient un taux de survie à 1 an suivant la greffe réduit ($26,7 \%$ et $39,3 \%$) comparativement aux patients qui avaient des valeurs normales pour ces 2 paramètres ($70,8 \%$ et 91% ; $p < 0,001$). Les patients avec une protéinurie ou un niveau élevé de sC5b-9 au diagnostic de la MAT avaient un rapport des risques instantanés (RRI) de décès significativement augmenté ($4,06$ [IC95 % : $1,56$ à $10,55$]; $p = 0,02$ ou $9,5$ [IC95 % : $1,2$ à $71,8$]; $p = 0,0074$, respectivement) comparativement aux patients normaux pour chacun de ces paramètres. Les patients avec une protéinurie et une concentration élevée de sC5b-9 au diagnostic avaient une survie réduite à 1 an ($16,7 \% \pm 10,8 \%$) alors que les patients sans protéinurie et sans un niveau élevé de sC5b-9 avaient une survie de 100% ($p < 0,01$). Ainsi, les auteurs ont conclu que les patients avec une MAT secondaire à une GCSH avec une protéinurie et une concentration sérique élevée de sC5b-9 présentaient un risque augmenté de mortalité et devraient être considérés pour des interventions rapides.

Farkas et ses collègues [2017] se sont intéressés, entre autres, à la relation entre l'activation du complément et l'inflammation sur le pronostic des patients souffrant d'une MAT secondaire. Cette étude portait sur 3 groupes, un groupe de 53 patients atteints d'une MAT secondaire à une autre condition (cancer, maladie auto-immune, sepsie, greffe d'organe solide ou opération à cœur ouvert)¹¹, un groupe de 41 patients

¹¹ Âge moyen de 49 ans \pm 20 ans (2 à 82)

avec une condition similaire au premier groupe sans MAT¹² et 34 sujets sains¹³. Le taux de mortalité à 30 jours était de 53 % chez les patients avec une complication de MAT.

Les auteurs ont identifié des facteurs de risques pour la mortalité à 30 jours d'hospitalisation chez les patients avec une MAT secondaire. En utilisant un modèle multivarié de Cox, les auteurs ont déterminé qu'une concentration en sC5b-9 supérieure à 421 ng/ml est associée à une augmentation significative du risque de décès à 30 jours, et ce, indépendamment de l'âge, du sexe et de la concentration de créatinine sérique (RRI : 3,08 [IC95 % : 1,25 à 7,58]). Les auteurs ont conclu que le mauvais pronostic associé à la MAT secondaire était caractérisé par un déficit partiel d'ADAMTS-13, l'inflammation et une activation des voies classique et alterne du complément.

5.3 Valeur thérapeutique

Deux études ayant analysé la concentration en sC5b-9 chez des patients atteints de MAT ont été repérées dans la littérature [Wehling *et al.*, 2017; Jodele *et al.*, 2016].

Concentration en sC5b-9 chez des patients atteints d'un SHUa primaire et de GC3 traités à l'éculizumab

Wehling et ses collègues [2017] se sont intéressés aux marqueurs de l'activation du complément et les bénéfices du dosage à l'éculizumab chez des patients atteints du SHUa (n = 12) et de glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3, n = 9). L'activation du complément a été analysée, entre autres, par un essai hémolytique de la voie classique (CH50) et de la voie alterne (APH50), et par un dosage en sC5b-9 avant le traitement et à 3 et 6 mois suivant le début du traitement (figure 2). Une inhibition significative du complément a été observée à trois et six mois suivant l'initiation du traitement, comme il est démontré par une réduction de l'activité CH50 chez les patients avec un SHUa et une GC3. Une inhibition de l'activité APH50 a également été démontrée pour le SHUa. Une baisse significative de la concentration en sC5b-9 a été constatée suivant le traitement chez les patients atteints du SHUa (à trois mois seulement) et de GC3. Cependant, un niveau élevé de sC5b-9 a été constaté chez 10 des 22 patients avec un SHUa et 4 des 17 patients avec une GC3 malgré un traitement à l'éculizumab. De même, 3 de 9 patients avec une GC3 ont eu une récurrence et 3 autres sont demeurés en rémission partielle. Les auteurs ont suggéré que des études supplémentaires étaient nécessaires afin d'évaluer la pertinence clinique à mesurer l'activité du complément résiduelle observée même chez des patients montrant des niveaux d'éculizumab augmentés de 5 et 10 fois. Les auteurs ont conclu qu'une analyse exhaustive du complément accompagnée d'un dosage d'éculizumab est nécessaire pour distinguer le mode d'activation du complément et l'efficacité du traitement dans les pathologies rénales.

¹² Âge moyen de 41 ans ± 21 ans (1 à 79)

¹³ Âge moyen de 51 ans ± 8 ans (36 à 67)

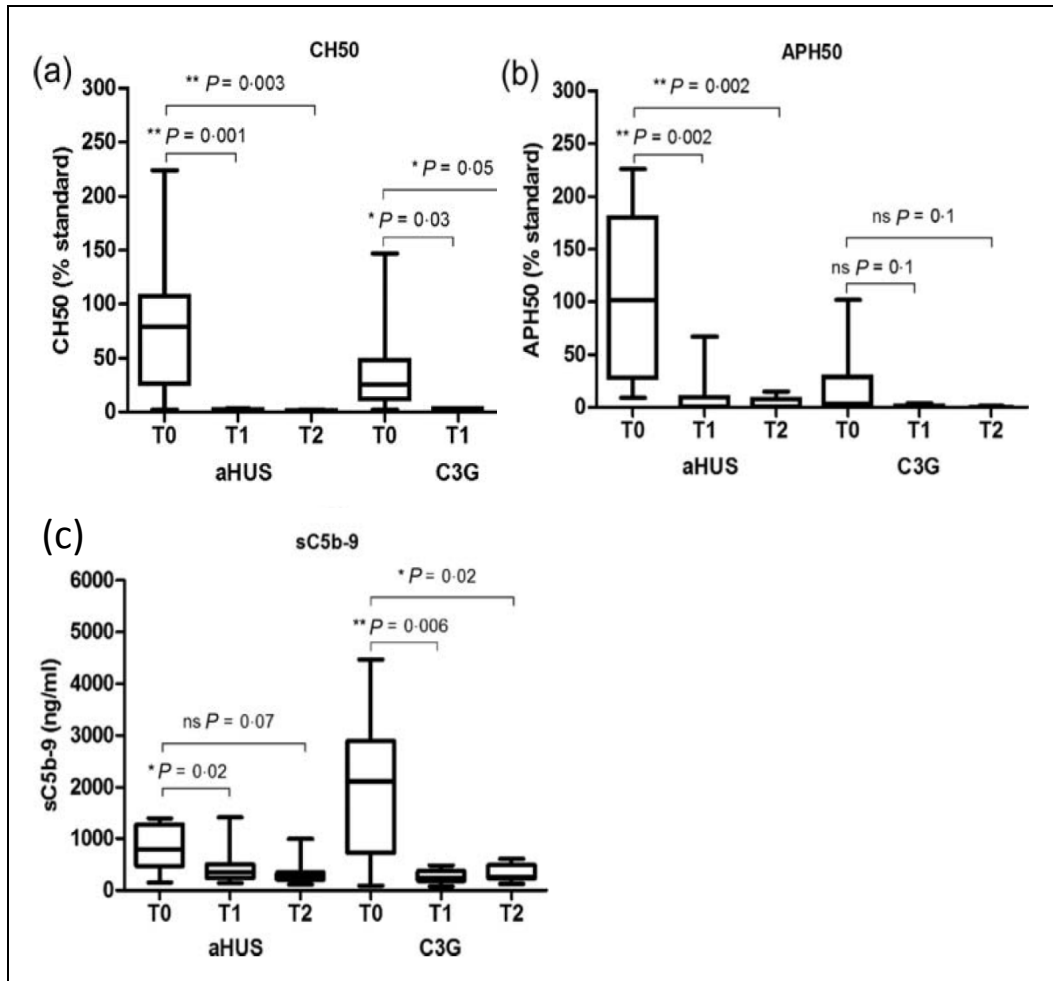


Figure 2 Paramètres de l'activation du complément dans le SHUa et la GC3

Comparaison des paramètres de l'activation du complément avant (T0), après 3 (T1) et 6 (T2) mois \pm 4 semaines de traitement à l'éculizumab chez des patients atteints d'un SHUa ($n = 12$) et d'une glomérulopathie à dépôts de C3 ($n = 9$).

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Abréviations : aHUS : syndrome hémolytique et urémique atypique; APH50 : activité hémolytique de la voie alterne APH50; CH50 : activité hémolytique de la voie classique CH50; GC3 : glomérulopathie à dépôts de C3.

Source : Wehling et al., 2017

Concentration de sC5b-9 chez des patients atteints d'un SHUa secondaire

Jodele et ses collègues [2016] ont analysé la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de l'éculizumab chez des enfants et jeunes adultes souffrant d'une MAT secondaire à une GCSH. Les auteurs se sont également intéressés à l'activation de la voie du complément dans ce contexte afin d'élaborer une stratégie de dosage d'éculizumab. Le dosage du sC5b-9 chez les patients montrait que la concentration était normale avant la chimiothérapie précédant la GCSH (inférieure à 244 ng/ml), mais qu'elle augmentait jusqu'à l'initiation du traitement à l'éculizumab. La concentration en sC5b-9 chez les 18 patients traités à l'éculizumab n'était pas significativement différente de celle des 11 patients non traités (373,5 ng/ml contre 458,5 ng/ml; $p = 0,24$).

Les auteurs ont élaboré un modèle permettant de faire une simulation à partir du poids du patient, de la dose d'éculizumab et de la concentration en sC5b-9 avant le traitement afin de prédire à quel moment la concentration d'éculizumab sérique tomberait sous le seuil thérapeutique¹⁴. À l'aide de ce modèle, les auteurs ont déterminé que les patients qui avaient une concentration en sC5b-9 supérieure à 488 ng/ml au diagnostic de la MAT nécessitaient un traitement de 11 à 13 jours avec une inhibition adéquate de l'activité du complément¹⁵ afin de normaliser le niveau en sC5b-9. Chez les patients ayant une concentration en sC5b-9 inférieure à 488 ng/ml, un traitement de 2 à 5 jours à l'éculizumab suffisait pour normaliser le niveau du sC5b-9. Selon les auteurs, la normalisation de la concentration en sC5b-9 corrèle avec une réponse clinique au traitement basé sur les paramètres hématologiques et la fonction rénale. Enfin, les auteurs suggèrent que leur approche de traitement individualisé basé sur la pharmacodynamique de l'éculizumab, en fonction de la concentration initiale du sC5b-9 et du poids, devrait être appliquée afin d'optimiser le dosage d'éculizumab. Cependant, les auteurs soulignent que le modèle proposé devrait être validé chez des cohortes pédiatriques plus importantes et chez des cohortes adultes.

5.4 Validité analytique

Le demandeur propose d'utiliser la trousse commerciale MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel pour son analyse ELISA. Il s'agit de la même trousse qui a été utilisée pour la majorité des études citées dans la section de l'évaluation de la valeur diagnostique de cet avis [Farkas *et al.*, 2017a; Song *et al.*, 2017; Bu *et al.*, 2015; Cataland *et al.*, 2014; Noris *et al.*, 2014].

La trousse commerciale MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} comporte 2 contrôles, un à basse concentration et un à concentration élevée. La trousse comporte également cinq standards permettant d'établir une courbe étalon pour déterminer la concentration en sC5b-9 dans l'échantillon à analyser.

Les coefficients de variation pour la validation intra-essai et inter-essai de la trousse sont présentés au tableau 5. La limite inférieure de détection de quantification pour l'analyse est de 3,7 ng/ml. La limite inférieure de quantification, qui représente la concentration minimale de la courbe standard qui répond aux critères du Clinical and Laboratory Standards Institute pour la précision, est de 8,8 ng/ml. Le coefficient de corrélation (r) de la courbe standard doit être supérieur à 0,95. La valeur de sa pente (m) doit être comprise entre 0,0039 et 0,0123 et l'ordonnée à l'origine (b) doit se situer entre - 0,189 et + 0,201. Le recouvrement de la trousse est de 94 % (86 % à 104 %).

¹⁴ Concentration de 99 µg/ml. C'est la concentration requise pour maintenir une suppression de l'activité du complément (CH50 inférieure à 10 %). Une baisse de concentration sous ce seuil indique le besoin d'une nouvelle dose d'éculizumab.

¹⁵ Vérifiée par l'essai CH50.

Tableau 5 Coefficients de variation (%) calculés par le fabricant de la trousse MICROVUE Complement sC5b-9 Plus^{MC} de Quidel

VALIDATION		CONTRÔLE À FAIBLE CONCENTRATION	CONTRÔLE À CONCENTRATION ÉLEVÉE
CV (intra-essai)	sur le plasma (n = 20)	6,8 %	1,9 %
	sur le sérum (n = 20)	2,8 %	1,6 %
CV (inter-essai)	sur le plasma (n = 10)	13,1 %	5,2 %
	sur le sérum (n = 10)	10,4 %	5 %

Source : feuillet de la trousse MICROVUE Complement SC5b-9 Plus^{MC} de la compagnie Quidel
 Abréviation : CV : coefficient de variation

Limites de la trousse :

- La trousse a été mise au point pour une utilisation sur des échantillons de sérum ou de plasma avec EDTA ou citrate. D'autres anticoagulants n'ont pas été testés.
- Les complexes solubles sC5b-9 capturés par des protéines modulatrices du complément comme la clusterine sont également potentiellement détectés par l'ELISA.
- Les indications de la trousse suggèrent que les échantillons sont sujets à une activation du complément s'ils sont exposés pour de longues périodes à des températures ambiantes, de 4°C ou de 37°C. Cependant, certains auteurs affirment que le sC5b-9 est un analyte très stable capable de supporter jusqu'à trois cycles de gel et dégel et des périodes de deux heures à température ambiante et une nuit à 4°C [Cataland *et al.*, 2014; Thurman *et al.*, 2009]. De plus, cet analyte demeure stable lors de longues périodes d'entreposage à - 70°C.

Autre laboratoire ayant eu recours à la trousse MICROVUE Complement sC5b-9 Plus^{MC} de Quidel

L'équipe de Réti et ses collaborateurs [2012] a eu recours à la trousse commerciale de Quidel pour une étude portant sur l'activation du complément dans une cohorte de PTT. Les CV intra-essai et inter-essai obtenus étaient inférieurs à 5,5 % et 13,5 % respectivement.

Données fournies par le demandeur

Tableau 6 Données de validation fournies par le laboratoire demandeur

VALIDATION	CONTRÔLE À BASSE CONCENTRATION (28 ng/ml)	CONTRÔLE À CONCENTRATION ÉLEVÉE (148 ng/ml)
CV intra-essai (n = 8)	4 %	s.o.
CV inter-essai (n = 15)	6 %	3 %
Limite acceptée	18 à 38 ng/ml	119 à 175 ng/ml

Abréviations : CV : coefficient de variation; s.o. : sans objet

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA. Cette analyse cible les patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 %. 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 :

- Selon des informations reçues de la part du demandeur, le dosage du complément sC5b-9 est récemment réalisé dans son laboratoire et 146 analyses ont été effectuées en 2015 pour le Québec.
- En 2015-2016, 13 analyses ont fait l'objet d'envoi hors Québec pour un coût moyen de 169 \$. Le rapatriement de ces analyses est prévu dès la première année.
- Ainsi, il est estimé que 159 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 111.

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse du dosage du complément sC5b-9 au Répertoire				
Analyses hors Québec	13	13	13	39
Coûts	2 199 \$	2 199 \$	2 199 \$	6 597 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse du dosage du complément sC5b-9 au Répertoire				
Analyses par CHUSJ	159	159	159	477
Coûts	17 649 \$	17 649 \$	17 649 \$	52 947 \$
Impact net	15 450 \$	15 450 \$	15 450 \$	46 350 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			33 300 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			48 015 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 46 350 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, bien que cette analyse soit davantage prévue à des fins de précisions diagnostiques, son utilisation future, conjointement à celle d'autres analyses ciblant la voie du complément, pourrait permettre d'orienter et de consolider la pratique clinique.

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].

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

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)

Un groupe d'experts sur le SHUa et la GC3 a été formé afin d'émettre des recommandations sur le traitement de ces pathologies [Goodship *et al.*, 2017].

Cette organisation recommande un dosage des protéines du complément chez les patients soupçonnés d'un SHUa ou d'une GC3. Des essais fonctionnels du complément et des marqueurs d'activité peuvent également être mesurés. Toutefois, le dosage du sC5b-9 est effectué à titre de recherche selon ce groupe et n'est pas validé en clinique. De plus, il n'existe pas suffisamment de données permettant d'appuyer la fiabilité du dosage du sC5b-9 comme marqueur des pathologies du SHUa et de la GC3. Puisque le sC5b-9 demeure détectable chez les patients en rémission d'un SHUa, les experts ne recommandent pas son dosage comme outil pour le suivi des patients traités à l'éculizumab.

Lignes directrices de la clinique Mayo sur les MAT médiées par le complément

Un groupe multidisciplinaire de médecins spécialisés dans le traitement de MAT a été formé afin d'émettre des recommandations sur le suivi de ces patients [Go *et al.*, 2016].

Selon les experts, bien que l'analyse sérologique soit disponible pour le sC5b-9, elle n'est pas assez sensible et spécifique. Le groupe recommande de l'appuyer par une analyse génétique.

SHU International

Le groupe SHU International [Loirat *et al.*, 2016] a formulé des recommandations concernant les analyses liées au diagnostic du SHU et sur l'approche thérapeutique favorisée dans différentes circonstances.

En raison de la disparité rapportée dans la littérature concernant les données du sC5b-9 en relation avec l'activité du SHUa, ce groupe affirme que des données supplémentaires sont requises avant d'intégrer l'analyse de ce biomarqueur en clinique. De plus, puisque le sC5b-9 demeure détectable ou augmente chez les patients traités à l'éculizumab, son dosage n'est pas recommandé pour suivre l'efficacité du traitement à l'éculizumab en clinique.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage du complément sC5b-9

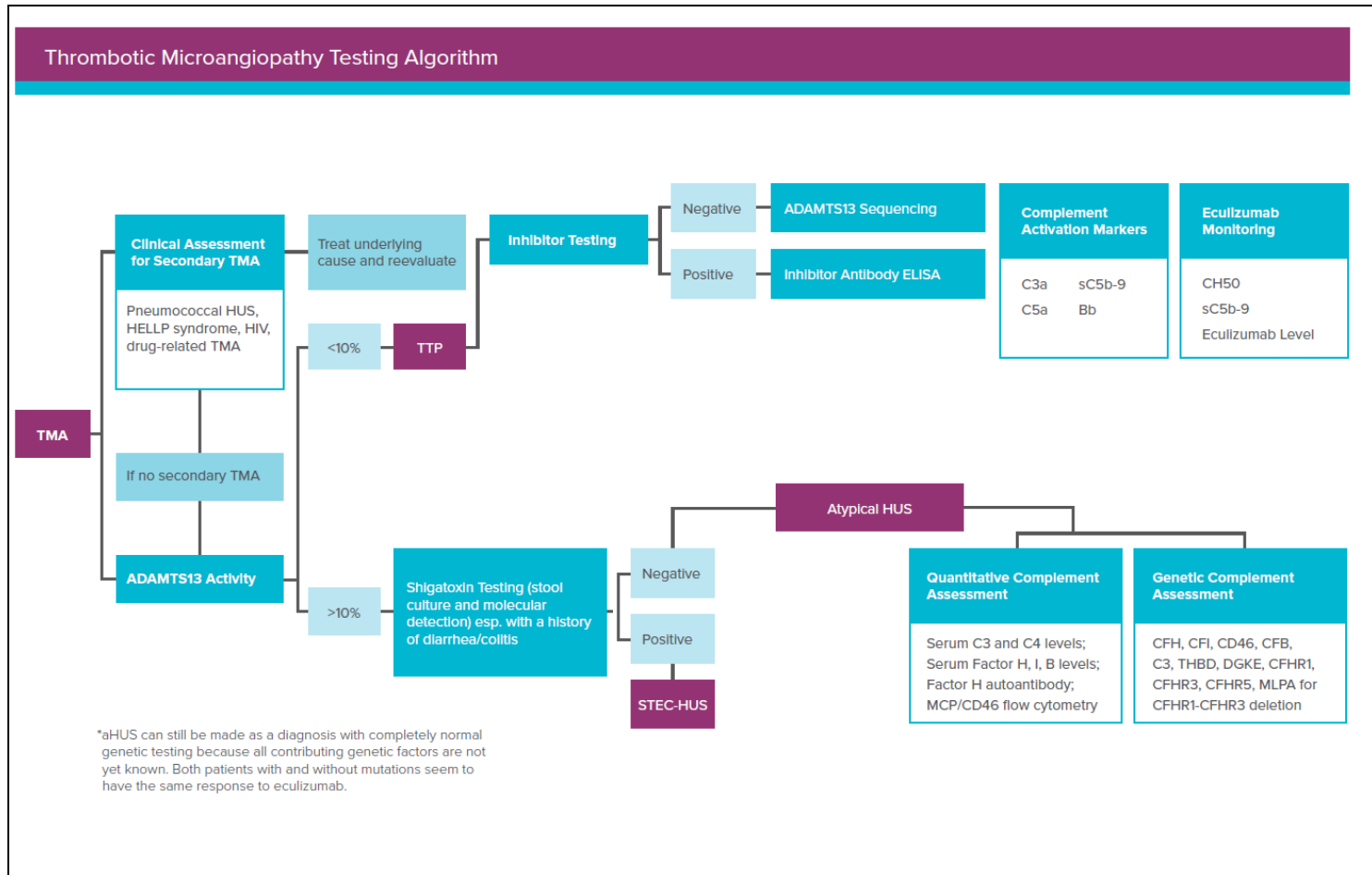
La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Les données probantes ont été jugées insuffisantes pour recommander l'introduction de l'analyse.
- ✓ Les organisations d'intérêt consultées lors de l'évaluation ne recommandent pas l'utilisation de cette analyse.

ANNEXE A : Algorithme diagnostique pour les microangiopathies thrombotiques du Cincinnati Children's hospital



Source : Service de diagnostic des microangiopathies thrombotiques de l'Hôpital Cincinnati Children's

ANNEXE B : Critères d'inclusions des études présentées à la section diagnostique

ÉTUDE	PATIENTS (n)	CRITÈRES D'INCLUSION
[Volokhina <i>et al.</i> , 2015]	17	Anémie hémolytique, thrombopénie et insuffisance rénale aigüe Ces auteurs n'utilisaient pas la trousse commerciale Microvue Complement SC5b-9 Plus ^{MC} de la compagnie Quidel.
[Song <i>et al.</i> , 2017]	156	Anémie hémolytique aigüe, schizocytes sur frottis, thrombopénie (numération plaquettaire < 150 x 10 ⁹ /l), niveau élevé de lactate déshydrogénase, test de Coombs négatif et/ou insuffisance rénale Les sujets sains avaient une concentration en sC5b-9 de 139,5 ng/ml à 448 ng/ml.
[Cataland <i>et al.</i> , 2014]	19	Numération plaquettaire inférieure à 100 x 10 ⁹ /l, taux de créatinine supérieur à 2,25 mg/dl et activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % Valeurs normales en sC5b-9 : 33,9 ng/ml à 238,2 ng/ml
[Noris <i>et al.</i> , 2014]	149	Niveau d'hématocrite inférieur à 30 %, taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, niveau de lactate déshydrogénase supérieur à 460 U/l, heptaglobine indétectable, schizocytes sur frottis sanguin, numération plaquettaire inférieure à 150 000/ml et insuffisance rénale. Les critères d'exclusion étaient un STEC-HUS et activité d'ADAMTS-13 inférieure à 20 %. Valeurs normales en sC5b-9 : 127 ng/ml à 400 ng/ml
[Bu <i>et al.</i> , 2015]	84	Anémie hémolytique, numération plaquettaire inférieure à 150 000/μl et une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % Valeurs normales en sC5b-9 : 50 ng/ml à 300 ng/ml
[Jodele <i>et al.</i> , 2014]	39	Le diagnostic de la MAT répondait aux critères suivants : 1) un niveau de lactate déshydrogénase au-dessus de la limite supérieure normale pour l'âge, 2) nouvelle thrombopénie avec une numération plaquettaire inférieure à 50 x 10 ⁹ /l ou une diminution de plus de 50 % du compte, 3) une nouvelle anémie avec un taux d'hémoglobine sous la limite inférieure de la normale ou un besoin de transfusion, 4) la présence de schizocytes dans la circulation périphérique ou une évidence de microangiopathie en histologie et 5) une absence de coagulopathie et un test de Coombs négatif. Tous les critères devaient être présents et les critères 1 à 4 devaient être documentés sur au

		<p>moins deux tests consécutifs pour être considérés positifs.</p> <p>Valeurs normales en sC5b-9 : 72 ng/ml à 244 ng/ml</p>
[Farkas <i>et al.</i> , 2017b]	53	<p>Le diagnostic de la MAT secondaire répondait aux critères suivants : 1) thrombopénie (inférieur à 150 g/l), 2) anémie avec un test de Coombs négatif et schizocytes sur frottis sanguin, 3) présence d'une autre condition médicale (cancer, maladie auto-immune, sepsis, greffe d'organe solide ou opération à cœur ouvert). Les patients répondant à un seul critère (critère 1 ou critère 2) avec une condition coexistante (critère 3) étaient inclus dans le groupe témoin.</p> <p>Une concentration supérieure ou égale à 421 ng/ml est considérée élevée.</p>

RÉFÉRENCES

- 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.
- Bu F, Meyer NC, Zhang Y, Borsa NG, Thomas C, Nester C, Smith RJ. Soluble c5b-9 as a biomarker for complement activation in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Kidney Dis* 2015;65(6):968-9.
- 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.
- Cataland SR, Holers VM, Geyer S, Yang S, Wu HM. Biomarkers of terminal complement activation confirm the diagnosis of aHUS and differentiate aHUS from TTP. *Blood* 2014;123(24):3733-8.
- 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.
- Farkas P, Csuka D, Mikes B, Sinkovits G, Reti M, Nemeth E, et al. Complement activation, inflammation and relative ADAMTS13 deficiency in secondary thrombotic microangiopathies. *Immunobiology* 2017;222(2):119-27.
- Ferraris JR, Ferraris V, Acquier AB, Sorroche PB, Saez MS, Ginaca A, Mendez CF. Activation of the alternative pathway of complement during the acute phase of typical haemolytic uraemic syndrome. *Clin Exp Immunol* 2015;181(1):118-25.
- Go RS, Winters JL, Leung N, Murray DL, Willrich MA, Abraham RS, et al. Thrombotic microangiopathy care pathway: A consensus statement for the Mayo Clinic Complement Alternative Pathway-Thrombotic Microangiopathy (CAP-TMA) Disease-Oriented Group. *Mayo Clin Proc* 2016;91(9):1189-211.
- 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.
- Jodele S, Fukuda T, Mizuno K, Vinks AA, Laskin BL, Goebel J, et al. Variable eculizumab clearance requires pharmacodynamic monitoring to optimize therapy for thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22(2):307-15.
- Jodele S, Davies SM, Lane A, Khoury J, Dandoy C, Goebel J, et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: A study in children and young adults. *Blood* 2014;124(4):645-53.

- 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.
- Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31(1):15-39.
- Noris M, Galbusera M, Gastoldi S, Macor P, Banterla F, Bresin E, et al. Dynamics of complement activation in aHUS and how to monitor eculizumab therapy. *Blood* 2014;124(11):1715-26.
- 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.
- Réti M, Farkas P, Csuka D, Razso K, Schlammadinger A, Udvardy ML, et al. Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2012;10(5):791-8.
- 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.
- Song D, Liu XR, Chen Z, Xiao HJ, Ding J, Sun SZ, et al. The clinical and laboratory features of Chinese Han anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2017;32(5):811-22.
- 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.
- Thurman JM, Marians R, Emlen W, Wood S, Smith C, Akana H, et al. Alternative pathway of complement in children with diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(12):1920-4.
- Volokhina EB, Westra D, van der Velden TJ, van de Kar NC, Mollnes TE, van den Heuvel LP. Complement activation patterns in atypical haemolytic uraemic syndrome during acute phase and in remission. *Clin Exp Immunol* 2015;181(2):306-13.
- Wehling C, Amon O, Bommer M, Hoppe B, Kentouche K, Schalk G, et al. Monitoring of complement activation biomarkers and eculizumab in complement-mediated renal disorders. *Clin Exp Immunol* 2017;187(2):304-15.
- Wu TC, Yang S, Haven S, Holers VM, Lundberg AS, Wu H, Cataland SR. Complement activation and mortality during an acute episode of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2013;11(10):1925-7.