

DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-ADAMTS-13

(RÉFÉRENCE - 2017.01.014)

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 DES ANTICORPS ANTI-ADAMTS-13 (RÉFÉRENCE - 2017.01.014)

Avis de réévaluation

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.

Mise en situation

Le présent document constitue une réévaluation de l'avis « Détection des anticorps anti-ADAMTS-13 » qui a été publié le 28 avril 2015.

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, l'experte consultée est :

- D^{re} Jeannine Kassis, (Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont).

1.4 Retour sur l'évaluation précédente

Il s'agit de la deuxième évaluation de l'analyse de détection des anticorps anti-ADAMTS-13 (*ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 13*). Bien que l'analyse proposée avait été jugée innovatrice en 2015, l'INESSS avait recommandé une réévaluation de l'analyse lorsque :

- plus de données d'utilité et de validité seraient disponibles;
- la démonstration de la valeur ajoutée de l'utilisation pour une seule catégorie de patients serait faite;
- la preuve de l'effet réel de l'analyse sur la prise en charge du PTT chez les adultes serait faite.

2 RÉSUMÉ

Le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) est causé par un déficit en ADAMTS-13 et peut se présenter sous la forme congénitale ou la forme acquise. Le dosage d'anti-ADAMTS-13 par ELISA (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) permet de distinguer la forme acquise de la maladie et d'orienter la prise en charge du patient en justifiant l'utilisation d'un traitement immunosuppresseur.

La majorité des patients ayant une MAT acquise et une activité ADAMTS-13 inférieure à 10 % ont des anti-ADAMTS-13 et aucun patient ayant un PTT congénital n'a les autoanticorps. Cependant, la spécificité du dosage des anti-ADAMTS-13 est de 90 % puisque des autoanticorps ont aussi été observés chez certains patients atteints de lupus érythémateux disséminé et de syndrome des antiphospholipides.

Deux des trois articles retenus pour la section pronostique ont démontré que les patients ayant des autoanticorps pendant la période de rémission ont un risque de trois à quatre fois plus élevé de faire une récurrence. De plus, la concentration d'anti-ADAMTS-13 diminue suite à l'initiation d'un traitement au rituximab et peut servir à ajuster le nombre de perfusion du médicament.

La méthode proposée par le demandeur a certaines particularités qui ne sont pas retrouvées dans les essais publiés dans la littérature.

L'ajout de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 35 000 \$ pour le total des trois premières années.

La distinction des formes de PTT est importante puisqu'elle permet d'adapter la prise en charge du patient.

Le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 est recommandé par la British Society for Haematology et par le groupe de travail international sur le PTT et les MAT associées.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage des anti-ADAMTS-13 plasmatique par ELISA a pour but de différencier le PTT acquis de sa forme congénitale, favorisant ainsi une prise en charge mieux adaptée du patient. Cette analyse pourrait également permettre d'évaluer la réponse au traitement.

3.2 Description de la méthode

L'analyse immuno-enzymatique repose sur la liaison des anti-ADAMTS-13 présents dans l'échantillon de plasma à l'antigène ADAMTS-13 enduit au fond des puits d'une microplaque. Le protocole du demandeur comprend les étapes suivantes¹ :

- fixation d'ADAMTS-13 recombinant dans les puits;
- incubation de huit dilutions différentes de l'échantillon (1/50 à 1/6 400);
- détection des anti-ADAMTS-13 liés à l'aide d'un anticorps polyclonal couplé à la peroxydase reconnaissant le fragment F(ab')₂ des IgG, IgA et IgM (H + L) humains;
- ajout d'un substrat chromogène de la peroxydase (dihydrochlorure d'orthophénylènediamine);
- mesure de l'absorbance à 492 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (spectrophotomètre).

La valeur d'absorbance ainsi obtenue est proportionnelle à la quantité d'anti-ADAMTS-13 et peut être déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à l'aide d'un échantillon positif de concentration connue.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins seront effectués dans des centres de prélèvement ou en centre hospitalier. Suite à la phase préanalytique, les échantillons seront acheminés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine pour analyse. Le demandeur prévoit aussi traiter des demandes provenant de l'extérieur du Québec.

Le temps de réponse attendu est de moins de 24 heures si l'indication clinique le justifie. Autrement, l'analyse sera faite au moins une fois par semaine.

3.4 Société ou concepteur

Analyse maison.

3.5 Homologation

La méthode d'analyse proposée n'est pas homologuée.

3.6 Valeur pondérée : 130,97

¹ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

L'analyse vise des patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité ADAMTS-13 effondrée (activité inférieure à 10 % de la normale).

4.2 Description de la maladie visée

Le PTT est une forme de MAT qui se caractérise par une présence anormale de microthrombi dans les vaisseaux sanguins. Ces thrombi sont formés de larges multimères de facteur von Willebrand dont la présence est due au déficit de l'activité enzymatique d'ADAMTS-13 [Scully *et al.*, 2012; Veyradier et Coppo, 2011].

Les signes cliniques du PTT sont une anémie hémolytique microangiopathique et une thrombopénie associée à une ischémie multiviscérale. Les fonctions neurologiques, rénales et cardiaques sont les plus fréquemment touchées [Blombery et Scully, 2014]. Une activité d'ADAMTS-13 effondrée suffit pour prononcer un diagnostic [Scully *et al.*, 2017]. La forme congénitale du PTT est rare et due à un défaut génétique du gène *ADAMTS-13* (mutations homozygotes ou hétérozygotes composites), alors que la forme acquise (PTTa) est prédominante (95 % des cas) et associée à la présence d'autoanticorps contre ADAMTS-13 [Blombery et Scully, 2014]. Ces autoanticorps ont pour effet d'inhiber ou de favoriser sa clairance [Veyradier et Coppo, 2011]. On parle de PTTa primaire lorsqu'il y a absence d'une cause ou d'une pathologie sous-jacente et de PTTa secondaire dans les autres cas² [Scully *et al.*, 2017].

Le PTT est une maladie rare dont l'incidence est estimée à quatre cas par million par année aux États-Unis et à un par million par année dans la province de Saskatchewan [Miller *et al.*, 2004]. Bien que rare, sans traitement le PTT est associé à un taux de mortalité élevé en phase aigüe (90 % des cas). Le traitement de première ligne, l'échange plasmatique, permet de réduire ce taux entre 10 % et 20 %. En présence de la forme acquise, l'ajout d'une immunothérapie comme le rituximab permet de réduire la concentration d'anti-ADAMTS-13 chez la majorité des patients et ainsi d'augmenter l'activité de l'enzyme [Tersteeg *et al.*, 2016].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime à 90 le nombre de tests qui seront effectués par année pour un total d'environ 300 pour une période de trois ans.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Un PTT est diagnostiqué en présence de signes et symptômes d'une MAT et d'une activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %. La recherche d'anti-ADAMTS-13 est effectuée systématiquement chez les patients ayant une activité ADAMTS-13 effondrée afin de déterminer si le PTT est acquis ou congénital.

Le développement du dosage d'anti-ADAMTS-13 a été initié en 2012 dans le laboratoire du demandeur. Le nombre d'analyses effectuées par le demandeur était

² Exemple de pathologies pouvant causer un PTTa : un lupus érythémateux disséminé, une infection virale (VIH ou cytomégalovirus), l'arthrite rhumatoïde, une grossesse ou certains médicaments.

de moins de 20 en 2012, 40 en 2013, 47 en 2014, 80 en 2015 et 61 en 2016. Le dosage des anticorps sert également au suivi de certains patients³. Selon le demandeur, moins de 5 % des analyses effectuées correspondent à des demandes provenant d'autres provinces.

Compareurs

Il existe deux trousse commerciales pour le dosage d'anti-ADAMTS-13 (Technozym^{MC} ADAMTS-13 INH de Technoclone⁴; Imubind^{MC} ADAMTS13 Autoantibody ELISA de Sekisui Diagnostics⁵). Toutefois, ces trousse ne sont pas homologuées par Santé Canada et le demandeur n'aura pas recours à ces trousse.

Autres analyses inscrites concernant ADAMTS-13

Deux analyses concernant ADAMTS-13 sont déjà inscrites au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*) :

- Code 20107 : ADAMTS-13 - activité (dosage quantitatif);
- Code 20146 : ADAMTS-13 - antigène (dosage quantitatif) (ELISA).

Ces deux analyses sont de hiérarchie suprarégionale et sont effectuées au CHU Sainte-Justine.

Tableau 1 Volumétrie du code 20107 et du code 20146 pour les années 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	CODE 20107 (ACTIVITÉ)		CODE 20146 (ANTIGÈNE)	
	QUÉBEC	HORS RÉSEAU	QUÉBEC	HORS RÉSEAU
2014-2015	346	5	1	0
2015-2016	70	183	0	0

Source : données du MSSS

4.5 Données médico-administratives

Selon les données fournies par le ministère de la Santé et des Services sociaux concernant les envois hors Québec, le dosage d'anti-ADAMTS-13 a fait l'objet de deux demandes au Blood Center of Wisconsin qui ont engendré des coûts de 451,26\$ et 1 019,15\$ (année 2013-2014). Aucune demande pour cette analyse n'a été effectuée en 2014-2015 et 2015-2016.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'analyse ELISA proposée permettrait de distinguer la forme auto-immune de PTT de sa forme congénitale. Cette distinction doit être prise en considération pour le choix thérapeutique. De plus, le dosage d'anti-ADAMTS-13

³ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (24 mai 2017 et 13 juin 2017).

⁴ Diapharma Group, Inc. Technozym® ADAMTS-13 Inhibitor [site Web], disponible à : <http://diapharma.com/product/hemostasis/technozym-adamts-13-inh-96tests/> (consulté le 18 mai 2017).

⁵ Sekisui Diagnostics, LLC. Imubind® ADAMTS13 Autoantibody ELISA [site Web], disponible à : <http://www.sekisuidiagnostics.com/products/173-imubind-adamts13-autoantibody-elisa-outside-u-s-a> (consulté le 18 mai 2017).

pourrait également permettre d'ajuster le rythme des plasmaphéreses et le choix du traitement immunosuppresseur (corticostéroïdes et rituximab).

4.7 Assurance qualité

Lors de chaque essai, 12 plasmas témoins négatifs seront utilisés pour établir la zone de positivité. De plus, un dosage sera effectué avec un plasma positif connu pour valider l'expérience⁶.

En 2014-2015, le laboratoire d'hémostase du CHUSJ a participé à une étude pancanadienne de contrôle de la qualité pour l'analyse de l'activité ADAMTS-13 et pour le dosage d'anti-ADAMTS-13 par ELISA sur des échantillons tests. Ce projet était une initiative du CHUSJ et de l'Hôpital Saint-Michael's (Toronto). Le laboratoire du CHUSJ servait de centre de référence pour cette étude et était responsable de transmettre les échantillons témoins dans les sept laboratoires participants.

Depuis 2014, le demandeur participe au programme de contrôle de qualité du North American Specialized Coagulation Laboratory Association (NASCOLA) pour les tests d'activité ADAMTS-13 et le dosage d'anticorps par ELISA. Le test consiste en l'envoi de deux échantillons à analyser à deux reprises dans l'année.

5 DONNÉES PROBANTES

L'INESSS tient à préciser que :

- Suite à la première évaluation, les nouveaux articles retenus sont celui de Behnamou et collègues [Benhamou *et al.*, 2016] et celui de Scully et collègues [Scully *et al.*, 2011].
- La définition du PTT diffère selon les articles retenus et ne tient pas toujours compte du niveau d'activité d'ADAMTS-13 (tableau 2);
- Aucune méthode d'ELISA présentée dans les articles retenus n'est identique à celle proposée par le demandeur (ELISA indirecte utilisant la protéine recombinante entière comme antigène et détectant les IgG, IgA et IgM en même temps et sans discrimination) (tableau 2).

⁶ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (11 mai 2017).

Tableau 2 Comparaison des articles retenus pour évaluer les valeurs diagnostique, pronostique et thérapeutique du dosage d'anti-ADAMTS-13

ÉTUDE	DÉFINITION D'UN PTT	ELISA	ÉVALUATION	
			2015	2017
Benhamou, 2016	Anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin Thrombopénie sans autre cause apparente Activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %	Technozym ^{MC} ADAMTS13 INH, ELISA indirecte Antigène : protéine recombinante incomplète* Détection des IgG	Non	Oui
Bettoni, 2012	Au moins trois des critères suivants : <ul style="list-style-type: none"> ▪ thrombopénie sans autre cause apparente ▪ anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin ▪ LDH élevée (> 2 ÉT au-dessus de la limite supérieure) ▪ signes et symptômes compatibles avec une ischémie d'organe principalement mais pas exclusivement au système nerveux central 	Méthode maison, ELISA indirecte de type sandwich Antigène : protéine recombinante entière Détection des IgG, IgM et IgA séparément	Oui	Oui
Jin, 2008	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %	Imubind ^{MC} ADAMTS13 Autoantibody ELISA, ELISA indirecte Antigène : protéine recombinante entière Détection des IgG	Oui	Oui
Peyvandi, 2008	Même que Bettoni, 2012	Aucune utilisation de l'ELISA (immunobuvardage, détection de toutes les classes d'Ig)	Oui	Oui
Rieger, 2005	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Dominance de symptômes d'ischémie neurologique focale	Méthode maison, ELISA indirecte de type sandwich Antigène : protéine recombinante entière Détection des IgG et IgM séparément	Oui	Oui
Scully, 2007	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Coagulation normale et présence de schizocytes sur un frottis sanguin LDH augmentée Évidence clinique ou objective d'ischémie d'organe	Méthode maison, ELISA de type indirecte Antigène : protéine entière recombinante Détection des IgG	Oui	Oui
Scully, 2011	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Coagulation normale LDH élevée (> 1,5 fois la valeur de la limite normale supérieure)	Méthode maison, ELISA de type indirecte Antigène : protéine entière recombinante Détection des IgG	Non	Oui
Tsai, 2006	Thrombopénie Anémie hémolytique microangiopathique Créatinine inférieure à 3,5 g/dl	Imubind ^{MC} ADAMTS13 Autoantibody ELISA, ELISA indirecte Antigène : protéine entière recombinante Détection des IgG	Oui	Oui

Abréviations : ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; ÉT : écart type, IgA : immunoglobuline A; IgG : immunoglobuline G, IgM : immunoglobuline M; LDH : lactate déshydrogénase.

* La protéine inclut tous les domaines fonctionnels [Nakashima *et al.*, 2016].

5.1 Valeur diagnostique

Afin d'évaluer la capacité de l'analyse des anti-ADAMTS-13 à confirmer un diagnostic de PTTa, deux études de cohortes cas-contrôle ont été retenues [Tsai *et al.*, 2006; Rieger *et al.*, 2005].

Des anti-ADAMTS-13 sont présents chez une grande proportion de patients atteints de MAT acquis ayant un déficit grave d'activité ADAMTS-13 mais sont absents chez les patients ayant une MAT congénitale

Rieger et ses collaborateurs [2005] ont réalisé une étude multicentrique dans le but d'évaluer la prévalence des anticorps anti-ADAMTS-13 chez 59 patients atteints de MAT⁷ et 160 patients ayant une maladie auto-immune ou une thrombopénie différente du PTT. Le plasma de 111 individus sains a aussi été analysé. La méthode ELISA utilisée était une méthode maison permettant de révéler la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG et IgM séparément.

Quatre (3,6 %) des 111 sujets sains avaient une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG se situant entre 20 et 100. Ces anticorps étaient non-neutralisants selon un essai d'activité inhibitrice⁸ et l'activité ADAMTS-13 chez ces personnes était normale. Parmi les patients atteints de MAT, 51 avaient un PTT, 4 un syndrome hémolytique et urémique (SHU) et 4 une autre forme de MAT. Ces patients ont été stratifiés selon le niveau d'activité d'ADAMTS-13. En tout, 35 (97 %) des 36 patients ayant une activité ADAMTS-13 inférieure à 10 % avaient une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG se situant entre 20 et 3 200 (tableau 3). Des anti-ADAMTS-13 IgG ont aussi été observés chez 3 (20 %) des 15 patients atteints de MAT et ayant un niveau d'activité d'ADAMTS-13 supérieur à 10 % (concentration de 10, 1 600 et 3 200), chez 4 patients ayant une thrombopénie distincte d'une MAT et chez 8 patients ayant une maladie auto-immune (lupus érythémateux disséminé ou syndrome des antiphospholipides). De plus, aucun anti-ADAMTS-13 IgG ou IgM n'a été observé chez les 8 patients ayant une MAT congénitale et les 15 patients atteints d'hémophilie A.

Les auteurs ont conclu que leur méthode ELISA maison permettait de détecter des anti-ADAMTS-13 IgG dans une grande proportion des patients atteints de MAT acquis ayant un déficit grave d'ADAMTS-13. De plus, ils ont souligné que cette sous-classe d'anticorps était plus fréquente chez les patients atteints de MAT que chez les patients ayant d'autres types de maladies auto-immunes. Notons aussi qu'aucun des patients ayant une MAT congénitale n'avait d'autoanticorps.

⁷ Un PTT était considéré lorsqu'il y avait présence d'une thrombopénie et d'une anémie hémolytique microangiopathique associées avec une dominance de symptômes d'ischémie neurologique focale.

⁸ Mesure de l'activité inhibitrice d'un échantillon de plasma test sur un plasma témoin dont l'activité ADAMTS-13 est connue.

Tableau 3 Présence d'anti-ADAMTS-13 IgG et IgM chez des patients atteints de MAT, d'un autre type de thrombopénie, de maladies auto-immunes ou d'hémophilie A

DIAGNOSTIC	PATIENTS n	ACTIVITÉ ADAMTS-13 ÉTENDUE EN %	PRÉSENCE D'ANTI-ADAMTS-13	
			IgG, n (%)	IgM, n (%)
MATa* (activité ADAMTS-13 < 10 %) PTTa* primaire (n = 33) MATa autre [†] (n = 3)	36	< 3 à 10	35 (97)	4 (11) [‡]
MATa* (activité ADAMTS-13 > 10 %) PTTa* primaire (n = 8) SHU* (n = 4) MATa autre [§] (n = 3)	15	11 à 100	3 (20)	3 (20)
MAT congénitale	8	< 5	0	0
Thrombopénie	50	20 à 100	4 (8)	4 (8) [¶]
Lupus érythémateux disséminé	40	22 à 172	5 (13)	7 (18)
Syndrome des antiphospholipides	55	32 à 114	3 (5)	10 (18)
Hémophilie A	15	10 à 91	0	5 (33)
Aucun (sujets sains)	111	n.d.	4 (3,6)	0

Source : Rieger *et al.*, 2005

Abréviations : IgG : immunoglobuline G; IgM : immunoglobuline M; MATa : microangiopathie thrombotique acquise; PTTa : purpura thrombotique thrombocytopenique acquis; SHU : syndrome hémolytique et urémique.

* MATa : thrombopénie et anémie hémolytique microangiopathique sans autres étiologies sous-jacentes. PTTa : MATa avec symptômes d'ischémie neurologique focale dominants. SHU : MATa et symptômes d'insuffisance rénale aigüe dominants.

[†] Deux patients avaient une MAT reliée à un médicament et un patient une MAT associée à un cancer métastatique du poumon.

[‡] Les quatre patients avaient aussi des anti-ADAMTS-13 IgG.

[§] Un patient avait une MAT suite à une greffe de moelle osseuse et deux patients une MAT non spécifiée.

^{||} Aucun patient atteint de SHU n'avait d'anti-ADAMTS-13 IgG, mais deux avaient des anti-ADAMTS-13 IgM.

[¶] Un seul patient avec les deux classes d'immunoglobulines.

La majorité des patients ayant un PTT acquis et un déficit d'activité d'ADAMTS-13 ont aussi des autoanticorps anti-ADAMTS-13

L'étude de Tsai et ses collaborateurs [2006] visait à évaluer la valeur diagnostique du dosage d'anti-ADAMTS-13 effectué par ELISA chez une cohorte de 91 patients atteints de PTT⁹ dont 53 étaient en phase aigüe, 16 venaient de recevoir un traitement d'échanges plasmatiques et 22 étaient en rémission (numération plaquettaire supérieure à $130 \times 10^9/l$ pour au moins une semaine). L'étude incluait aussi 61 patients atteints d'autres types de MAT¹⁰, 40 donneurs de sang sains et 34 patients hospitalisés choisis de façon randomisée.

La concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG du groupe de patients ayant un PTT aigu était significativement plus élevée que celle de tous les autres groupes de patients excluant le groupe de patients traités ($p < 0,001$). À une valeur seuil de 10,3 unités arbitraires/ml, 100 % des patients ayant un PTT aigu étaient positifs pour la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG comparativement à 75 % des patients traités et 45 % des patients en rémission (tableau 4). Quatorze patients des trois groupes témoins avaient aussi des autoanticorps résultant en une spécificité de 89,6 % pour l'ELISA anti-ADAMTS-13. Une diminution du seuil de positivité avait pour effet de diminuer la spécificité sans améliorer la sensibilité. Les auteurs ont conclu qu'essentiellement tous les patients ayant un PTT acquis et un déficit d'activité d'ADAMTS-13 ont aussi des autoanticorps anti-ADAMTS-13 IgG. Les auteurs ont souligné que la concentration d'anticorps peut changer suite à un traitement et que l'ELISA peut donner des faux positifs pour un sous-ensemble de la population.

⁹ Un PTT était considéré en présence d'une thrombopénie et d'une anémie hémolytique microangiopathique associées à une créatinine inférieure à 3,5 g/dl en phase aigüe.

¹⁰ Cinq patients avaient un SHU avec de la diarrhée, 18 patients avaient un SHU sans diarrhée, 7 patients avaient un lupus ou une maladie auto-immune similaire, 11 patients avaient un cancer métastatique, 9 patients avaient reçu une greffe de moelle épinière ou d'un organe solide, 1 patient avait un syndrome HELLP, 1 patient avait une prothèse cardiaque et 9 cas étaient de cause indéterminée.

Tableau 4 Présence d'anti-ADAMTS-13 chez les patients atteints de PTT et d'autres MAT

DIAGNOSTIC	PATIENTS n	ADAMTS-13	
		ACTIVITÉ MÉDIANE (ÉTENDUE), U/ml	ANTICORPS > 10,3 UA/ml, n (%)
PTT en phase aigüe*	53	< 0,1 (< 0,1)	53 (100)
PTT traité [†]	16	< 0,1 (< 0,1 à 0,39)	12 (75)
PTT en rémission [‡]	22	0,13 (< 0,1 à 0,54)	10 (45)
Autres MAT [§]	61	0,84 (0,27 à 1,58)	7 (11)
Patients hospitalisés	34	n.d.	5 (15)
Aucun (donneurs sains)	40	n.d.	2 (5)

Source : Tsai *et al.*, 2006

Abréviations : MAT : microangiopathie thrombotique; n.d. : non disponible; PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique; SHU : syndrome hémolytique et urémique; U : unité; UA : unité arbitraire.

* Thrombopénie et anémie hémolytique microangiopathique avec une créatinine inférieure à 3,5 g/dl.

[†] Patients ayant reçu une à six unités de plasma frais congelé ou une à deux sessions d'échanges plasmatiques.

[‡] Patients asymptomatiques ayant une numération plaquettaire supérieure à $130 \times 10^9/l$ pour au moins une semaine.

[§] SHU avec diarrhée (n = 5), SHU sans diarrhée (n = 18), lupus ou maladie auto-immune similaire (n = 7), cancer métastatique (n = 11), greffe (n = 9), syndrome HELLP (n = 1), prothèse cardiaque (n = 1), MAT indéterminée (n = 9).

5.2 Valeur pronostique

Le PTT est une maladie qui se manifeste fréquemment en poussées aigües suivies de périodes de rémission. Trois études ont été retenues pour évaluer la valeur prédictive du niveau d'anti-ADAMTS-13 à prédire la récurrence [Bettoni *et al.*, 2012; Jin *et al.*, 2008; Peyvandi *et al.*, 2008]. La conclusion de Jin et ses collaborateurs [2008] est différente des deux autres études, notons cependant que la définition du PTT qu'ils ont utilisée était elle aussi différente des deux autres (tableau 2).

La présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la phase aigüe de PTT ou pendant la rémission permet de prédire la récurrence

Un des objectifs de Bettoni et ses collaborateurs [2012] était d'évaluer la relation entre les anti-ADAMTS-13 de différentes classes ou l'activité d'ADAMTS-13 et le pronostic auprès d'une cohorte internationale de 115 patients atteints de PTT¹¹. Notons qu'une activité effondrée d'ADAMTS-13 ne faisait pas partie des critères d'inclusion et que 69 % des patients démontraient une activité inférieure à 10 % de la normale en phase aigüe (62 des 115 patients ont eu un PTT aigu). Le temps de suivi médian des 54 patients qui avaient un PTT aigu à l'inclusion était de 5,8 ans (maximum de 32,8 ans). De ces patients, 35 étaient en rémission pendant le suivi et 10 ont eu une récurrence. Similairement, le temps de suivi médian des 61 patients qui étaient en rémission lors de l'inclusion était de 3,4 ans (maximum 10,5 ans). De ces patients, 33 étaient en rémission pendant le suivi et 20 ont eu une récurrence.

¹¹ Présence d'au moins trois des critères suivants : 1- thrombopénie ($< 150 \times 10^9/l$) sans autre cause apparente, 2- anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin, 3- niveau élevé de lactate déshydrogénase sérique (plus de 2 ÉT au-dessus de la limite supérieure), 4- signes et symptômes compatibles avec une ischémie d'organe principalement mais pas exclusivement au système nerveux central. Les maladies ayant des signes et symptômes similaires (ex. SHU et cancer métastatique) ainsi que les cas de PTT congénital ont été exclus.

Des analyses de survie ont démontré que seule la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la phase aigüe du PTT pouvait prédire un risque de récurrence (15 patients sur 50, 30 %). Cependant, le rapport des risques instantanés (RRI) correspondant n'était pas estimable puisque qu'aucun des dix patients ayant une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG inférieure ou égale à 1,18 % n'a développé de récurrence. Par ailleurs, le RRI de rechute était au moins quatre fois plus élevé chez les patients avec une concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG supérieure à 1,18 % ou une activité inférieure à 10 % en période de rémission (tableau 5).

Les auteurs ont conclu que la récurrence du PPT semble être associée seulement avec la présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la phase aigüe alors que l'altération de plusieurs biomarqueurs reliés à ADAMTS-13 peuvent prédire le risque de récurrence lorsqu'ils sont mesurés pendant la période de rémission (présence de plus de 1,18 % d'anti-ADAMTS-13 IgG, activité ADAMTS-13 inférieure à 10 %, moins de 10 % d'antigène ADAMTS-13 et présence d'activité inhibitrice d'ADAMTS-13).

Tableau 5 Valeur des anti-ADAMTS-13 et de l'activité d'ADAMTS-13 à prédire la récurrence du PTT (analyse de régression de Cox)

PARAMÈTRE	PHASE AIGÛE				RÉMISSION			
	PATIENT, n		RRI (IC95 %)	p	PATIENT, n		RRI (IC95 %)	p
	TOTAL	RÉCIDIVE			TOTAL	RÉCIDIVE		
Activité d'ADAMTS-13								
≥ 10 %	18	3	1,0 (ref)	0,45	71	18	1,0 (ref)	0,001
< 10 %	22	4	1,68 (0,43 à 6,59)		19	9	4,89 (2,00 à 11,99)	
Anti-ADAMTS-13 IgG*								
≤ 1,18 %	5	0	1,00 (ref)	s.o.	50	7	1,00 (ref)	< 0,001
> 1,18 %	27	6	∞ [†]		26	11	4,99 (2,08 à 12,00)	
Anti-ADAMTS-13 IgM*								
≤ 0,034	25	4	1,00 (ref)	0,72	74	16	1,00 (ref)	0,32
> 0,034	6	1	1,37 (0,24 à 7,97)		2	2	2,67 (0,39 à 18,44)	
Anti-ADAMTS-13 IgA*								
≤ 0,014	17	3	1,00 (ref)	n.d.	59	16	1,00 (ref)	0,10
> 0,014	14	2	n.d.		16	1	0,30 (0,07 à 1,27)	

Source : Bettoni *et al.*, 2012

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; IgA : immunoglobuline A; IgG : immunoglobuline G; IgM : immunoglobuline M; n.d. : non disponible; ref : référence; RRI : rapport de risque instantané; s.o. : sans objet.

* Les seuils de positivité de chacun des Ig correspondaient à une valeur supérieure à deux fois celle de l'écart type des résultats provenant de 40 échantillons de plasma témoins normaux.

[†] N'a pu être comparé puisqu'aucun patient avec faibles niveaux d'IgG n'a subi de récurrence.

Peyvandi et collègues [2008] ont également démontré que les patients atteints de PTTa possédant des anti-ADAMTS-13 au moment de la rémission présentaient un risque plus élevé de récurrence. L'étude rétrospective portait sur une cohorte internationale de 109 patients dont 97 ont été testés pour la présence d'anti-ADAMTS-13. Les critères de diagnostic du PTT¹² n'incluaient pas l'activité d'ADAMTS-13 et ne permettaient pas d'exclure les cas de SHUa. Notons que la détection d'anti-ADAMTS-13 a été réalisée par immunobuvardage et que l'analyse sérologique a été faite une seule fois chez la majorité des patients.

Parmi les 109 patients, 63 sont demeurés en rémission¹³ pendant un temps médian de 22 mois (13 à 134) suite aux traitements d'échanges plasmatiques alors que 46 ont eu au moins une récurrence de PTT (2 épisodes [2 à 13]). Les auteurs ont observé que 64 % des patients ayant subi une récurrence possédaient des anti-ADAMTS-13 en période de rémission alors que 36 % des patients sans récurrence démontraient la présence d'anti-ADAMTS-13 ($p = 0,006$). Le rapport des cotes non ajusté pour la probabilité de récurrence chez les patients ayant des anticorps lors de la période de rémission était de 3,1 (IC95 % : 1,4 à 7,3). Les auteurs ont souligné que la valeur prédictive associée à la présence d'anti-ADAMTS-13 pour le risque de récurrence était statistiquement valable mais sa robustesse était limitée à cause de la valeur élevée de l'intervalle de confiance.

La présence d'anti-ADAMTS-13 IgG pendant la rémission du PTT ne permet pas de prédire la récurrence

Un des objectifs de Jin et ses collaborateurs [2008] était de suivre le niveau d'anti-ADAMTS-13 à un intervalle régulier de trois mois chez des patients atteints de PTTa primaire en rémission afin de déterminer sa capacité à prédire le risque de récurrence du PTT. Le PTTa primaire était défini comme une MAT sans autre cause indétectable associée à une activité d'ADAMTS-13 inférieure à 10 % (aucun cas de PTT congénital).

L'étude a porté sur 24 patients atteints de PTTa aigu lors de leur inclusion. Le traitement ayant mené à leur rémission n'est pas mentionné. Suite à l'atteinte de la rémission, le niveau d'anti-ADAMTS-13 IgG a été évalué à tous les trois mois pour un temps moyen de 23 mois (3 à 39). Parmi les 24 patients, 6 ont eu une récurrence du PTT (aucune valeur de concentration d'anti-ADAMTS-13 n'est présentée dans l'article). Le modèle de régression linéaire favorisé par les auteurs n'a pas montré de relation entre la concentration d'anti-ADAMTS-13 et le risque de récurrence ($p = 0,8$). Les auteurs ont conclu que le niveau d'anti-ADAMTS-13 IgG lors de la rémission ne permettait pas de prédire la récurrence du PTT.

¹² Présence d'au moins trois des critères suivants : 1- thrombopénie ($< 150 \times 10^9/l$) sans autre cause apparente, 2- anémie hémolytique négative au test de Coombs avec présence de schizocytes sur un frottis sanguin, 3- niveau élevé de lactate déshydrogénase sérique (plus de 2 ÉT au-dessus de la limite supérieure), 4- signes et symptômes compatibles avec une ischémie d'organe principalement mais pas exclusivement au système nerveux central. Les maladies ayant des signes et symptômes similaires (ex. SHU et cancer métastatique) ainsi que les cas de PTT congénital ont été exclus.

¹³ Maintien de la normalisation des paramètres cliniques et de laboratoires pour au moins 30 jours suite à l'arrêt du traitement plasmatique.

5.3 Valeur thérapeutique

Trois articles ont été retenus pour déterminer la valeur d'un dosage d'anti-ADAMTS-13 à évaluer l'efficacité d'un traitement au rituximab [Benhamou *et al.*, 2016; Scully *et al.*, 2011; Scully *et al.*, 2007].

Le traitement du PTTa au rituximab est associé à une diminution de la concentration d'anti-ADAMTS-13

Le groupe de Scully et ses collaborateurs [2011] a réalisé une étude multicentrique de phase II chez des patients atteints de PTTa primaire traités au rituximab. Le dosage des anti-ADAMTS-13 faisait partie des paramètres d'efficacité secondaires. Pour être inclus, les patients devaient avoir un PTT aigu (thrombopénie, anémie hémolytique microangiopathique, coagulation normale et LDH augmentée à au moins 1,5 fois la valeur normale supérieure). En tout, 40 patients ont été inclus et ont reçu des traitements d'échanges plasmatiques jusqu'à l'obtention d'une numération plaquettaire supérieure à $150 \times 10^9/l$ en plus de 4 à 8 perfusions de rituximab (jusqu'à la normalisation de l'activité d'ADAMTS-13 et de la concentration d'anti-ADAMTS-13). Les patients ont été suivi pendant au moins 12 mois (maximum de 36 mois). La valeur médiane du niveau d'anti-ADAMTS-13 IgG lors de l'inclusion dans l'étude était de 40 %¹⁴ (6 à 162). Avant la deuxième perfusion de rituximab, la concentration d'autoanticorps avait baissée; la réduction de la concentration corrélait avec l'augmentation de l'activité d'ADAMTS-13 (coefficient de Pearson de -0,72). Ces résultats ont été comparés à ceux d'une cohorte historique composée de 40 patients n'ayant pas reçu de rituximab. Ces patients avaient une concentration d'anti-ADAMTS-13 de 78 % (8 à 140) lors de l'inclusion dans l'étude, de 12 % (5 à 69) en période de rémission et de 29 % lors de la récurrence. Les auteurs ont conclu que le traitement au rituximab est associé à une diminution de la concentration d'anti-ADAMTS-13 chez les patients souffrant de PTTa.

L'étude multicentrique de phase II de Benhamou et ses collaborateurs [2016] visait à évaluer l'efficacité d'un régime de rituximab expérimental¹⁵ basé sur la baisse des niveaux de lymphocytes B chez des patients atteints de PTTa aigu. La concentration d'anti-ADAMTS-13 au moment du diagnostic ainsi qu'après 1, 3, 6, 9 et 12 mois était un des paramètres d'évaluation. Les 24 patients inclus avaient une activité d'ADAMTS-13 inférieure à 10 %. La concentration d'anti-ADAMTS-13 médiane était de 72,5 U/ml (42,7 à 133,5) lors de l'inclusion dans l'étude et a diminué après l'instauration du traitement jusqu'à 9 mois alors qu'à 12 mois la concentration tendait à augmenter de nouveau. La réduction de la concentration a corrélé avec l'augmentation de l'activité d'ADAMTS-13 (coefficient de Pearson de -0,58). La cohorte de l'étude a été comparée à une cohorte rétrospective de 22 patients ayant reçu un traitement de quatre perfusions de rituximab. La concentration d'anti-ADAMTS-13 médiane chez ces patients au début de l'étude était de 100 U/ml (88 à 104), et elle a diminué de façon similaire à la cohorte à l'étude suite à l'instauration du traitement.

¹⁴ Une courbe étalon a été préparée en diluant un échantillon plasmatique de référence dans une solution saline tamponnée au phosphate aux concentrations suivantes : 100 %, 80 %, 40 %, 20 %, 10 %, 5 % et 0 %. La valeur normale était inférieure à 6,1 % (valeur correspondant aux 95 percentiles de 49 sujets sains).

¹⁵ Le plan de traitement consistait en deux infusions de rituximab (375 mg/m² de surface corporelle) espacées de trois jours accompagnées d'un troisième traitement si des lymphocytes B étaient toujours présents au jour + 14. Ce traitement différait du traitement habituel de quatre infusions.

Un des objectifs de Scully et ses collaborateurs [2007] était d'évaluer la corrélation entre le traitement au rituximab et le niveau d'anti-ADAMTS-13. Pour être inclus, les patients devaient avoir un PTTa aigu primaire (thrombopénie, anémie hémolytique microangiopathique, coagulation normale, LDH augmentée, présence de schizocytes sur un frottis sanguin et évidence clinique ou objective d'ischémie d'organe). Les 25 patients inclus n'avaient pas répondu au traitement de première ligne (échanges plasmatiques) et ont donc reçu un traitement de deuxième ligne incluant des perfusions de rituximab.

Le traitement au rituximab a été modulé en fonction du niveau d'activité d'ADAMTS-13 et de la présence persistante d'anti-ADAMTS-13. Ainsi, 1 patient a reçu 2 perfusions de rituximab, 20 ont reçu 4 perfusions, 3 ont reçu 6 perfusions et 1 a reçu 8 perfusions. Les 25 patients ont atteints une rémission complète suite au traitement. La concentration d'anti-ADAMTS-13 IgG médiane était de 55 % (15 à 140) avant le traitement au rituximab et de 6 % (2 à 21) trois mois après son instauration ($p < 0,0001$). Les auteurs ont souligné que la diminution du niveau d'anti-ADAMTS-13 était associée à une augmentation de l'activité d'ADAMTS-13.

5.4 Validité analytique

Comme mentionné au début de la section, aucune étude utilisant le protocole proposé par le demandeur n'a été repérée dans la littérature. Une des particularités de ce protocole est l'utilisation des anti-immunoglobulines humaines reconnaissant à la fois les IgG, les IgM et les IgA.

Rieger et ses collaborateurs [2005] ont utilisé un protocole ELISA maison détectant les IgG et les IgM de façon séparée. La précision inter-essai a été déterminée à l'aide d'un échantillon plasmatique normal et d'un échantillon témoin positif testés à 27 reprises pour les IgG et 20 reprises pour les IgM (tests menés des jours différents). Le coefficient de variation (CV) inter-essai était inférieur à 20 % pour les deux Ig.

Nakashima et ses collaborateurs [2016] ont utilisé un protocole maison basé sur la trousse Technozym^{MC}. L'antigène utilisé ne correspondait pas à la protéine complète et seuls les IgG étaient détectés. Les CV inter-essai et intra-essai ont été générés à partir de 20 expériences faites sur deux échantillons. Les CV intra-essai et inter-essai de l'échantillon contenant 16,7 U/ml étaient de 14,6 % et 15,5 % respectivement, alors qu'ils étaient de 3,3 % et 4,9 % pour l'échantillon contenant 71,6 U/ml.

5.5 Données fournies par le demandeur

Variation intra-essai

La zone de positivité a été établie en utilisant 12 échantillons plasmatiques négatifs différents. La moyenne de la densité optique était de $0,045 \pm 0,025$. La zone de positivité a été établie à la moyenne additionnée de trois fois la valeur de l'écart-type, donc à 0,120.

La variation intra-essai a été mesurée en utilisant 8 dilutions d'un échantillon plasmatique positif de concentration connue (1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1 600, 1/3 200 et 1/6 400). Cette série a été analysée 10 fois à l'intérieur d'une même plaque et les 10 séries ont donné la même concentration d'anticorps (voir l'annexe A).

Variation inter-essai

La zone de positivité a été établie en utilisant six échantillons plasmatiques négatifs en duplicatas. La zone de positivité a été établie à la moyenne additionnée de trois fois la valeur de l'écart-type à chacun des dix essais (annexe B).

La variation inter-essai a été mesurée en utilisant 8 dilutions d'un échantillon plasmatique positif de concentration connue (1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1 600, 1/3 200 et 1/6 400) et analysé lors de 10 essais différents (tableau 6 et annexe B).

Tableau 6 Variation inter-essai du dosage des anti-ADAMTS-13

ESSAI	CONCENTRATION D'ANTI-ADAMTS-13*
1	2
2	2
3	4
4	2
5	4
6	4
7	2
8	2
9	2
10	2

* Une variation correspondant à un saut de concentration (exemple : de 4 à 2 ou de 4 à 8) est tolérée.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA. Cette analyse cible les patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité d'ADAMTS-13 effondrée. 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 des anticorps anti-ADAMTS-13 est réalisé depuis 2012 dans son laboratoire et 80 analyses ont été effectuées en 2015.
- Bien qu'une augmentation progressive du nombre d'analyses ait été observée au cours des dernières années, il est anticipé, selon l'opinion d'experts, qu'il se stabilisera durant les prochaines années.
- Ainsi, il est estimé que 90 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.
- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec en 2015-2016.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 130,97.

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses ELISA	90	90	90	270
Impact net	11 787 \$	11 787 \$	11 787 \$	35 361 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			31 433 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			39 291 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 35 000 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La distinction des formes de PTT permet d'adapter la prise en charge du patient puisque certains traitements comme l'immunosuppression ne conviennent pas aux deux formes. En présence de la forme congénitale, la transfusion de plasma frais congelé sera préconisée plutôt que la plasmaphérèse. Ceci aura des répercussions sur les coûts de traitements¹⁶. La venue d'une protéine ADAMTS-13 recombinante comme traitement potentiel du PTT congénital pourrait également constituer un enjeu économique dans un avenir rapproché.

En raison de la faible incidence des MAT et de la vocation du centre demandeur dans ce domaine, la concentration de l'expertise est un enjeu important.

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

Groupe de travail international sur le PTT et les MAT associées

Le groupe d'experts en PTT avait comme objectif de standardiser la terminologie du PTT et des MAT de la même famille et d'émettre certaines recommandations [Scully *et al.*, 2017]. La mesure des anti-ADAMTS-13 fait partie des analyses qui doivent être faites lors d'une suspicion de PTT. Un PTT congénital est caractérisé par l'absence d'anti-ADAMTS-13, alors qu'un PTT acquis est associé à la présence des autoanticorps. Le groupe reconnaît que la persistance d'anti-ADAMTS-13 en période de rémission est un facteur de risque de rechute du PTTa et qu'un niveau d'anti-ADAMTS-13 élevé est associé à un mauvais pronostic. Concernant la méthode ELISA pour détecter les anti-ADAMTS-13, le groupe souligne qu'en plus des IgG, l'analyse des IgM et des IgA peut être pertinente. Il est aussi mentionné que 5 % à 10 % des individus sains ont des anti-ADAMTS-13 et que l'essai utilisé doit être validé de façon appropriée et inclure des témoins ayant des concentrations basses, moyennes et élevées.

Groupe de travail international sur le syndrome hémolytique et urémique (SHU)

Selon le groupe international d'experts sur le SHU, les analyses d'ADAMTS-13 (détermination de l'activité et dosage des anti-ADAMTS-13) devraient servir de diagnostic différentiel et être réalisées afin d'exclure le PTT chez des patients avec suspicion de SHU atypique [Loirat *et al.*, 2016].

Lignes directrices de la British Society for Hæmatology

Selon la British Society for Hæmatology, un dosage des anticorps anti-ADAMTS-13 devrait être réalisé sur des échantillons de plasma prélevés avant l'initiation d'un traitement d'échange de plasma devant un cas soupçonné de PTT [Scully *et al.*, 2012]. Cette analyse doit être faite conjointement à une analyse d'activité ADAMTS-13.

¹⁶ Information transmise par D^{re} Jeannine Kassis, interniste et hématologue, CIUSSS Est MTL – Hôpital Maisonneuve-Rosemont (15 juin 2017).

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage des anti-ADAMTS-13

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 membres du comité reconnaissent la pertinence clinique de l'analyse au regard des données publiées et présentées en appui.
- ✓ Le comité recommande une introduction conditionnelle à la transmission de données de validation de l'analyse.

ANNEXE A : Variation intra-essai (données fournies par le demandeur)

Layout												Dilution	
	temoins	temoins	CTL POS										
A	F3	H2	CTL POS	6400									
B	F4	H3											3200
C	F5	H4											1600
D	F6	H5											800
E	F7	H7											400
F	F21	H8											200
G	CTL POS	CTL POS											100
H	Blanc	Blanc											50
dilution 50													

Données												
	temoins	temoins	CTL POS									
A	0.116	0.116	0.089	0.088	0.088	0.09	0.089	0.088	0.087	0.083	0.087	0.089
B	0.087	0.094	0.106	0.106	0.107	0.106	0.105	0.107	0.107	0.099	0.107	0.112
C	0.091	0.138	0.135	0.134	0.136	0.133	0.134	0.134	0.133	0.13	0.133	0.134
D	0.121	0.097	0.175	0.175	0.178	0.173	0.177	0.176	0.174	0.166	0.171	0.177
E	0.156	0.11	0.235	0.232	0.238	0.233	0.237	0.238	0.234	0.221	0.231	0.226
F	0.112	0.096	0.306	0.305	0.306	0.297	0.303	0.298	0.294	0.248	0.287	0.289
G	0.416	0.404	0.367	0.362	0.37	0.369	0.369	0.361	0.354	0.346	0.337	0.363
H	0.078	0.067	0.419	0.407	0.418	0.417	0.42	0.414	0.407	0.39	0.407	0.414
Moyenne des blancs:		0.0725										

données - blanc													TITRE
	temoins	temoins	CTL POS										
A	0.044	0.044	0.017	0.016	0.016	0.018	0.017	0.016	0.015	0.011	0.015	0.017	128
B	0.015	0.094	0.034	0.034	0.035	0.034	0.033	0.035	0.035	0.027	0.035	0.040	64
C	0.019	0.066	0.063	0.062	0.064	0.061	0.062	0.062	0.061	0.058	0.061	0.062	32
D	0.049	0.025	0.103	0.103	0.106	0.101	0.105	0.104	0.102	0.094	0.099	0.105	16
E	0.084	0.038	0.163	0.160	0.166	0.161	0.165	0.166	0.162	0.149	0.159	0.154	8
F	0.040	0.024	0.234	0.233	0.234	0.225	0.231	0.226	0.222	0.176	0.215	0.217	4
G	0.344	0.332	0.295	0.290	0.298	0.297	0.297	0.289	0.282	0.274	0.265	0.291	2
H	0.005	-0.006	0.347	0.335	0.346	0.345	0.348	0.342	0.335	0.318	0.335	0.342	1
TITRES d'anticorps anti ADAMTS13			8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	

Moyenne des NS	0.045
SD	0.025
Moyenne + 3SD	0.120

Remarques
 Le titre d'anticorps correspond à la réciproque de la dernière dilution donnant une Abs492 nm supérieure à la moyenne de l'Abs492 nm des plasmas normaux + 3 déviations standard (valeur en rouge dans les données obtenues). Une variation correspondant à un saut de titre (exemple: de 4 à 2 ou de 4 à 8) est tolérée.

Le contrôle positif utilisé pour la validation intra plaque n'est pas le même que celui utilisé pour la validation inter plaques (il s'agit de plasmas provenant de patients différents).

ANNEXE B : Variation inter-essai (données fournies par le demandeur)

Layout	Plasmas normaux (PN)		Plasma Positif
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	NP F2	NP F2	1/6400
B	NP F21	NP F21	1/3200
C	NP F23	NP F23	1/1600
D	NP H1	NP H1	1/800
E	NP H8	NP H8	1/400
F	NP H27	NP H27	1/200
G	CTL POS	CTL POS	1/100
H	Blanc	Blanc	1/50
dilution 1/50			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.065	0.063	0.009
B	0.094	0.092	0.012
C	0.147	0.151	0.022
D	0.131	0.133	0.043
E	0.081	0.078	0.082
F	0.075	0.068	0.161
G	0.571	0.575	0.309
H	0.001	-0.001	0.558

Moyennes des PN			
0.064			
0.093	Moyenne des PN		0.098
0.149	SD		0.035
0.132	Moyenne + 3SD		0.202
0.080			
0.072			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.155	0.162	0.010
B	0.164	0.159	0.012
C	0.216	0.222	0.023
D	0.164	0.153	0.042
E	0.150	0.138	0.079
F	0.121	0.107	0.148
G	0.457	0.463	0.276
H	0.001	-0.001	0.461

Moyennes des PN			
0.158			
0.161	Moyenne des PN		0.159
0.219	SD		0.034
0.158	Moyenne + 3SD		0.261
0.144			
0.114			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.161	0.158	0.038
B	0.248	0.241	0.069
C	0.327	0.329	0.120
D	0.316	0.315	0.199
E	0.158	0.155	0.351
F	0.132	0.127	0.536
G	1.298	1.269	0.904
H	0.000	0.000	1.269

Moyennes des PN			
0.160			
0.245	Moyenne des PN		0.222
0.328	SD		0.086
0.316	Moyenne + 3SD		0.481
0.157			
0.130			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.082	0.082	0.010
B	0.111	0.111	0.017
C	0.174	0.174	0.036
D	0.158	0.158	0.064
E	0.073	0.073	0.124
F	0.061	0.061	0.215
G	0.695	0.695	0.393
H	0.000	0.000	0.629

Moyennes des PN			
0.082			
0.111	Moyenne des PN		0.110
0.174	SD		0.047
0.158	Moyenne + 3SD		0.250
0.073			
0.061			

données - blanc			
	duplicat#1	duplicat#2	Dilution
A	0.106	0.047	0.000
B	0.070	0.058	0.001
C	0.036	0.033	0.010
D	0.086	0.084	0.028
E	0.075	0.047	0.060
F	0.056	0.037	0.125
G	0.425	0.421	0.268
H	0.000	0.000	0.464

Moyennes des PN			
0.077			
0.064	Moyenne des PN		0.061
0.035	SD		0.019
0.085	Moyenne + 3SD		0.117
0.061			
0.047			

Layout	Plasmas normaux (PN)		Plasma Positif
	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	NP F2	NP F2	1/6400
B	NP F21	NP F21	1/3200
C	NP F23	NP F23	1/1600
D	NP H1	NP H1	1/800
E	NP H8	NP H8	1/400
F	NP H27	NP H27	1/200
G	CTL POS	CTL POS	1/100
H	Blanc	Blanc	1/50

dilution 1/50

données - blanc **Essai 6**

	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.066	0.064	0.008
B	0.054	0.054	0.016
C	0.070	0.066	0.032
D	0.070	0.063	0.064
E	0.110	0.101	0.122
F	0.087	0.069	0.217
G	0.654	0.627	0.378
H	0.001	-0.001	0.612

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 4

Moyennes des PN

0.065		
0.054	Moyenne des PN	0.073
0.068	SD	0.018
0.067	Moyenne + 3SD	0.126
0.106		
0.078		

données - blanc **Essai 7**

	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.015	0.021	0.005
B	0.043	0.042	0.007
C	0.072	0.070	0.014
D	0.062	0.058	0.030
E	0.027	0.030	0.054
F	0.039	0.033	0.098
G	0.276	0.266	0.206
H	0.000	0.000	0.298

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN

0.018		
0.043	Moyenne des PN	0.043
0.071	SD	0.020
0.060	Moyenne + 3SD	0.102
0.029		
0.036		

données - blanc **Essai 8**

	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.035	0.034	0.004
B	0.052	-0.039	0.006
C	0.068	0.073	0.012
D	0.079	0.080	0.024
E	0.034	0.035	0.053
F	0.064	0.066	0.098
G	0.320	0.322	0.186
H	-0.003	0.003	0.332

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN

0.034		
0.007	Moyenne des PN	0.048
0.070	SD	0.028
0.079	Moyenne + 3SD	0.131
0.034		
0.065		

données - blanc **Essai 9**

	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.036	0.056	0.006
B	0.063	0.069	0.010
C	0.105	0.131	0.018
D	0.113	0.117	0.032
E	0.048	0.054	0.064
F	0.057	0.064	0.112
G	0.324	0.329	0.210
H	0.000	0.000	0.346

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN

0.046		
0.066	Moyenne des PN	0.076
0.118	SD	0.032
0.115	Moyenne + 3SD	0.172
0.051		
0.061		

données - blanc **Essai 10**

	duplicata#1	duplicata#2	Dilution
A	0.096	0.096	0.019
B	0.133	0.133	0.028
C	0.169	0.169	0.043
D	0.186	0.186	0.076
E	0.136	0.136	0.121
F	0.115	0.115	0.211
G	0.554	0.554	0.331
H	0.000	0.000	0.609

TITRES d'anticorps anti ADAMTS13 2

Moyennes des PN

0.096		
0.133	Moyenne des PN	0.139
0.169	SD	0.033
0.186	Moyenne + 3SD	0.239
0.136		
0.115		

RÉFÉRENCES

- Benhamou Y, Paintaud G, Azoulay E, Poullin P, Galicier L, Desvignes C, et al. Efficacy of a rituximab regimen based on B cell depletion in thrombotic thrombocytopenic purpura with suboptimal response to standard treatment: Results of a phase II, multicenter noncomparative study. *Am J Hematol* 2016;91(12):1246-51.
- Bettoni G, Palla R, Valsecchi C, Consonni D, Lotta LA, Trisolini SM, et al. ADAMTS-13 activity and autoantibodies classes and subclasses as prognostic predictors in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2012;10(8):1556-65.
- Blombery P et Scully M. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: Current perspectives. *J Blood Med* 2014;5:15-23.
- Jin M, Casper TC, Cataland SR, Kennedy MS, Lin S, Li YJ, Wu HM. Relationship between ADAMTS13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *Br J Haematol* 2008;141(5):651-8.
- 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.
- Miller DP, Kaye JA, Shea K, Ziyadeh N, Cali C, Black C, Walker AM. Incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome. *Epidemiology* 2004;15(2):208-15.
- Nakashima MO, Zhang X, Rogers HJ, Vengal L, Gibson B Jr, Daly TM, Kottke-Marchant K. Validation of a panel of ADAMTS13 assays for diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura: Activity, functional inhibitor, and autoantibody test. *Int J Lab Hematol* 2016;38(5):550-9.
- Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica* 2008;93(2):232-9.
- Rieger M, Mannucci PM, Kremer Hovinga JA, Herzog A, Gerstenbauer G, Konetschny C, et al. ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. *Blood* 2005;106(4):1262-7.
- Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Hovinga JK, et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2017;15(2):312-22.
- Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol* 2012;158(3):323-35.
- Scully M, McDonald V, Cavenagh J, Hunt BJ, Longair I, Cohen H, Machin SJ. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2011;118(7):1746-53.
- Scully M, Cohen H, Cavenagh J, Benjamin S, Starke R, Killick S, et al. Remission in acute refractory and relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura following rituximab is associated with a reduction in IgG antibodies to ADAMTS-13. *Br J Haematol* 2007;136(3):451-61.

- Tersteeg C, Verhenne S, Roose E, Schelpe AS, Deckmyn H, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 autoantibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura – current perspectives and new treatment strategies. *Expert Rev Hematol* 2016;9(2):209-21.
- Tsai HM, Raoufi M, Zhou W, Guinto E, Grafos N, Ranzurmal S, et al. ADAMTS13-binding IgG are present in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 2006;95(5):886-92.
- Veyradier A et Coppo P. ADAMTS 13, la protéase spécifique du facteur von Willebrand. *Med Sci (Paris)* 2011;27(12):1097-105.