



11-13  
SEPT.  
2024

LILLE  
GRAND PALAIS

# CONGRÈS FRANÇAIS d'HÉMOSTASE



## La recherche d'anticorps anti-emicizumab en pratique clinique

C. Auditeau, C. Valsecchi, K. Bentounes, A. Le Goff, A. Harroche, C. Bally, D. Borgel, F. Peyvandi, D. Lasne

Hôpital Necker-Enfants Malades Paris – UMRS-1176- Université Paris Saclay

Fondazione Irccs Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, and Department Of Pathophysiology and Transplantation, Università Degli Studi di Milano, Milan, Italy

# Etat des connaissances sur les ADA anti-emicizumab

Dans les essais cliniques de phase 3 (HAVEN 1-5, STASEY, HOHOEMI):

Sur 668 patients HA évaluables : **5,1% (34/668)** ont développé un ADA

→ ADA associé à une **diminution de la concentration d'emicizumab** pour 4 patients (0,6%)

→ ADA associé à une **perte d'efficacité** motivant l'arrêt du traitement pour **1 patient (0,1%)**

L'immunogénicité de l'emicizumab est globalement faible et **une surveillance immunologique systématique n'est pas recommandée**

## 5 case reports de **perte d'efficacité lié à un ADA** :

**TABLE** Laboratory findings of the new case and review of the literature.

Cases	Age (y)	Symptoms suggesting ADA (postemicizumab initiation)	Timing of ADA identification (postemicizumab initiation)
Case-A	13	Week-5	Week-5
Case-B	62	Week-41	Week-49
Case-C	2	Week-24	Week-24
Case-D	7	Week-16	Week-20
New case	5	Week-5	Week-11

Valsecchi *et al*, JTH 2021

Kaneda *et al*, JTH 2021

Harroche *et al*, Haematologica 2021

Druzgal *et al*, JTH 2020

Kizilocak *et al*, RPTH 2023

Certaines caractéristiques sont similaires entre les cas :

- L' ADA est découvert **dans la première année** qui suit l'initiation de l'emicizumab
- Plus fréquent chez les **enfants** et chez les patients ayant **un inhibiteur anti-VIII**
- Les patients présentent
  - Un **allongement du TCA persistant**
  - Une **diminution persistante** de la concentration d'emicizumab **<1µg/mL**
  - **Des saignements spontanés**

# A Necker

- 231 patients hémophiles A sévères suivis
- **184 patients traités par emicizumab (79,7%) dont 77 enfants (<18 ans, 41,8%)**

## Suspicion d'ADA : 2 patients entre 2018 et 2023

- ✓ **Saignements spontanés, TCK allongés** et emicizumab **effondré** de manière **persistante** (>3 mois)
- ✓ Survient **moins de 1 an** après l'introduction de l'emicizumab
- ✓ **Enfants** (2 et 5 ans)
- ✓ Inhibiteur anti-VIII
- ADA **bien caractérisé** pour le 1er patient (Harroche *et al*, Haematologica 2021)
- Arrêt de l'emicizumab et induction de tolérance immune

## Nouvelle suspicion d'ADA en Novembre 2023

- ✓ **TCK très allongé**
  - ✓ Concentration **effondrée d'emicizumab** (<1µg/mL) de manière **persistante** (>3 mois)
  - ✓ **Enfant** de 5 ans
  - × **Plus de 2 ans** après le début du traitement par emicizumab
  - × **Aucun** saignement
- (Pas d'inhibiteur anti-VIII)
- **Aucun argument** pour un défaut d'observance : ADA ?

# Recherche d'ADA à Milan

**Echantillons envoyés à Milan** pour être testés dans la méthode développée par **Carla Valsecchi** :  
→ **Western Blot et ELISA** permettant de mettre en évidence des **ADA même non neutralisants**

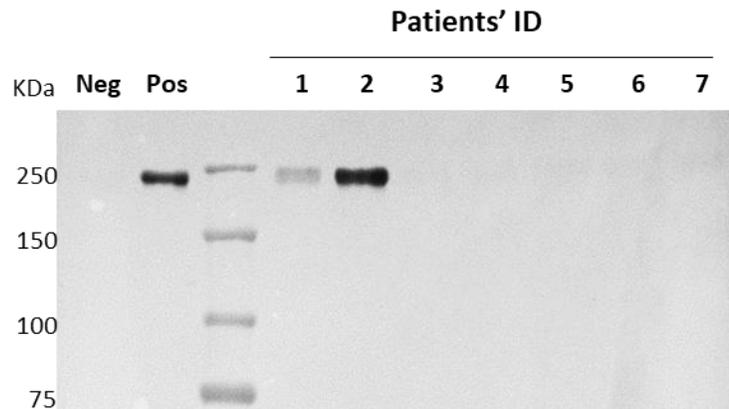
- Patient 1 : **patient connu ADA positif, publié** → **Contrôle positif**
  - Patient 2 : **clinique et biologie** en faveur d'un **ADA** mais **jamais mis en évidence** → **très probablement positif**
  - Patient 3 : concentration emicizumab **transitoirement <1µg/mL + saignement (traumatique)**
  - Patients 4 – 5 : concentration emicizumab **faible mais détectable + saignement (traumatique)**
  - Patient 7 : concentration emicizumab **très faible (1µg/mL) mais pas de saignement**
  - Patient 6 : concentration emicizumab **indétectable sans saignement** → ??
- Très probablement **négatifs**

**Echantillons traités à l'aveugle par l'équipe italienne**

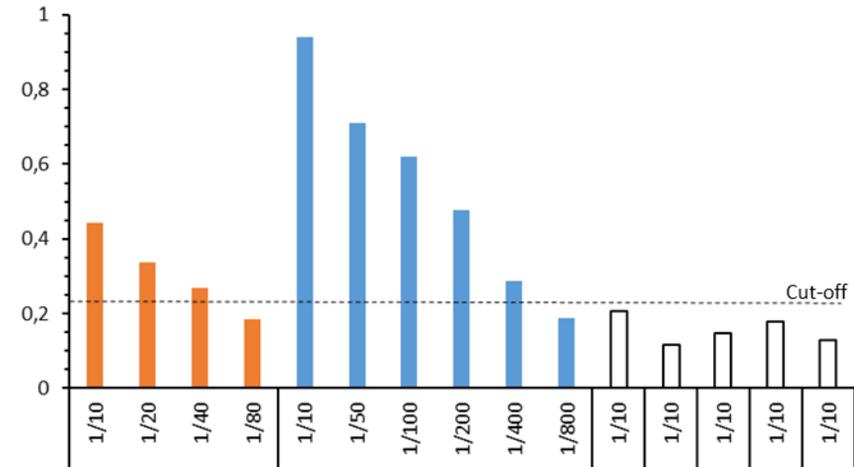
# RESULTATS

## Western blot

IgG totales purifiées sur protéine G et analysées en WB.  
Chaque échantillon est purifié et testé 2 fois.



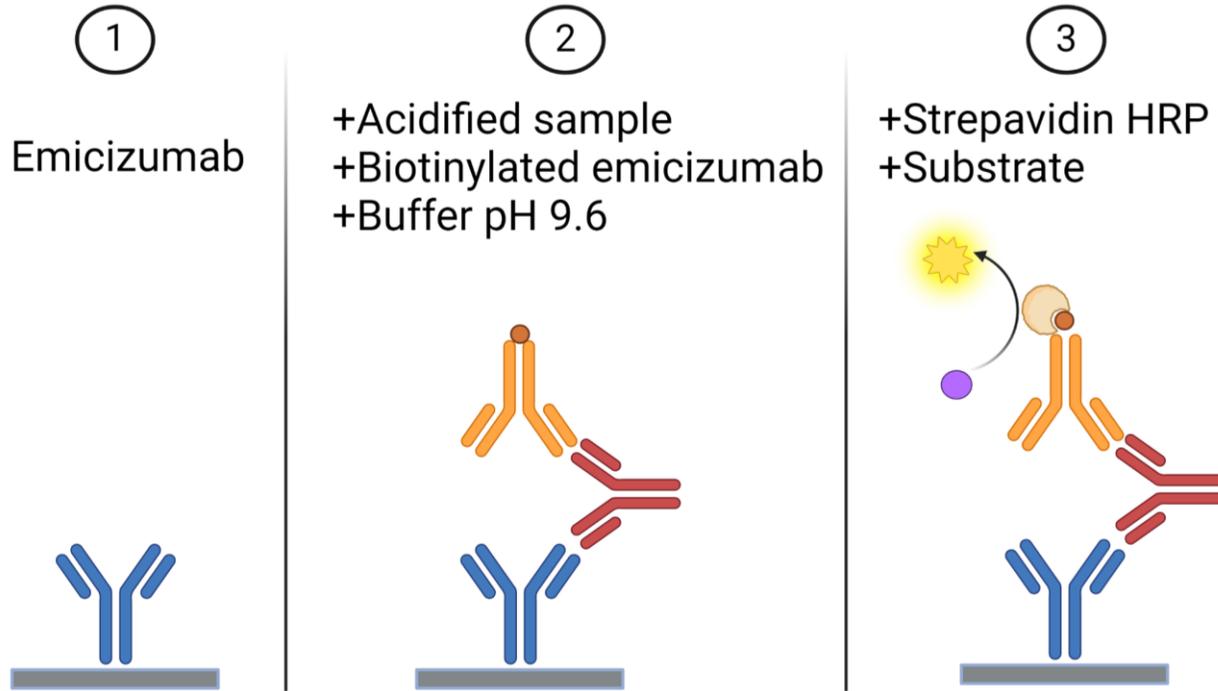
## Modified ELISA



Patients' ID 1 2 3 4 5 6 7

- Patient 1 : patient connu pour ADA → **positif**
  - Patient 2 : **clinique** et **biologie** en faveur d'un ADA mais **jamais mis en évidence** → **positif**
  - Patient 3 : concentration emicizumab transitoirement  $<1\mu\text{g}/\text{mL}$  + saignement (traumatique)
  - Patients 4 – 5 : concentration emicizumab faible mais détectable + saignement (traumatique)
  - Patient 7 : concentration emicizumab très faible mais pas de saignement
- } **négatifs**
- Patient 6 concentration emicizumab indétectable sans saignement → **négatif (erreur administration mère)**

# ADAPTATION LOCALE DE LA METHODE



Bleu : Emicizumab

Rouge: ADA

Orange: Emicizumab biotinylé

## ▪ ELISA sandwich

▪ Nécessite de **biotinylé** de l'emicizumab

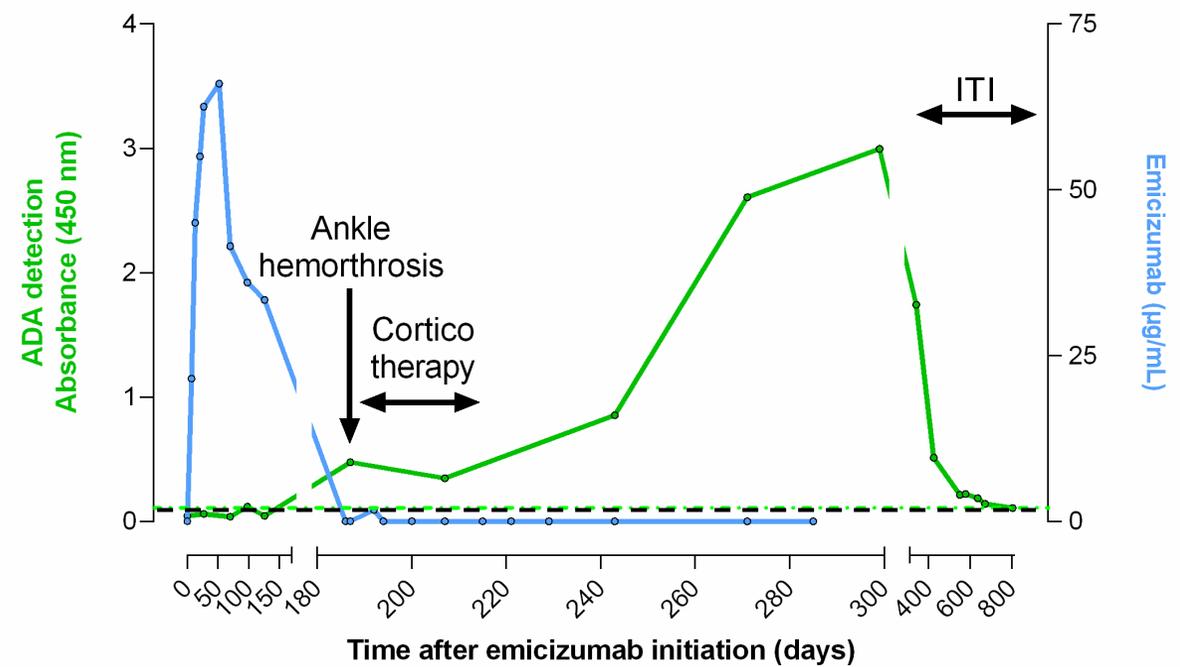
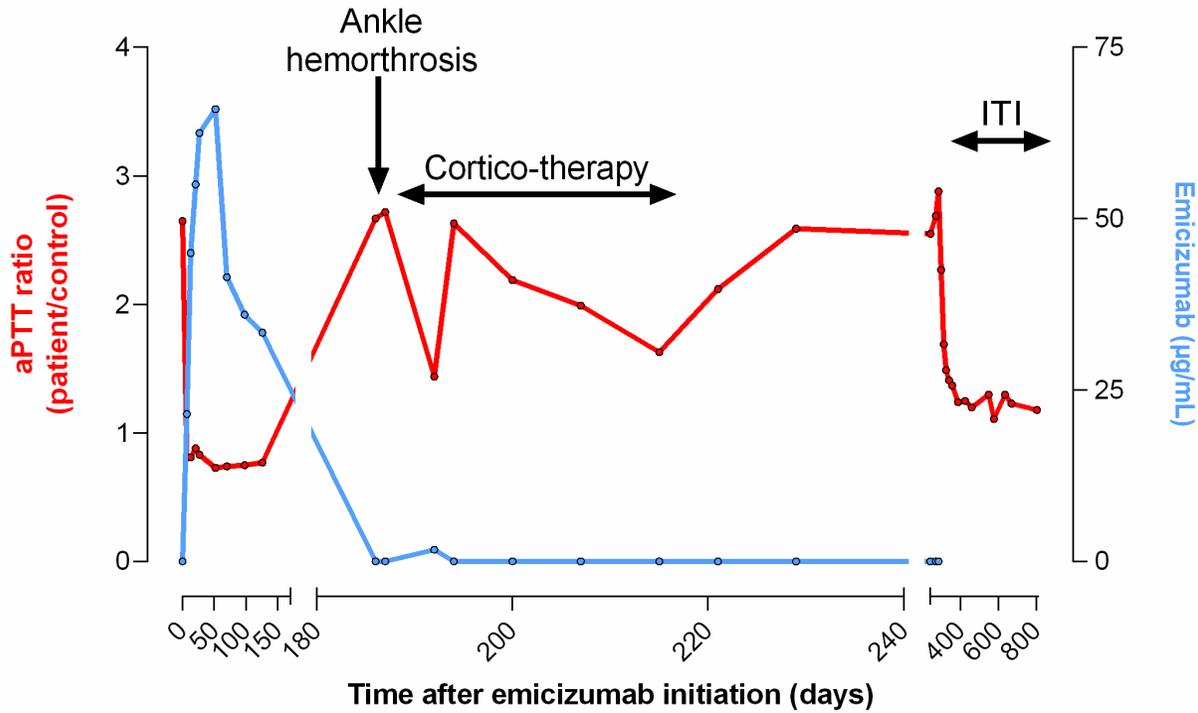
▪ Utilise la capacité des ADA à **se lier deux fois à l'emicizumab**

▪ Met en évidence la **présence d'un anti-emicizumab** mais pas son caractère neutralisant ou non

▪ Peut mettre en évidence **un ADA non neutralisant *in vitro*** mais pouvant entraîner une perte d'efficacité (↗ clairance)

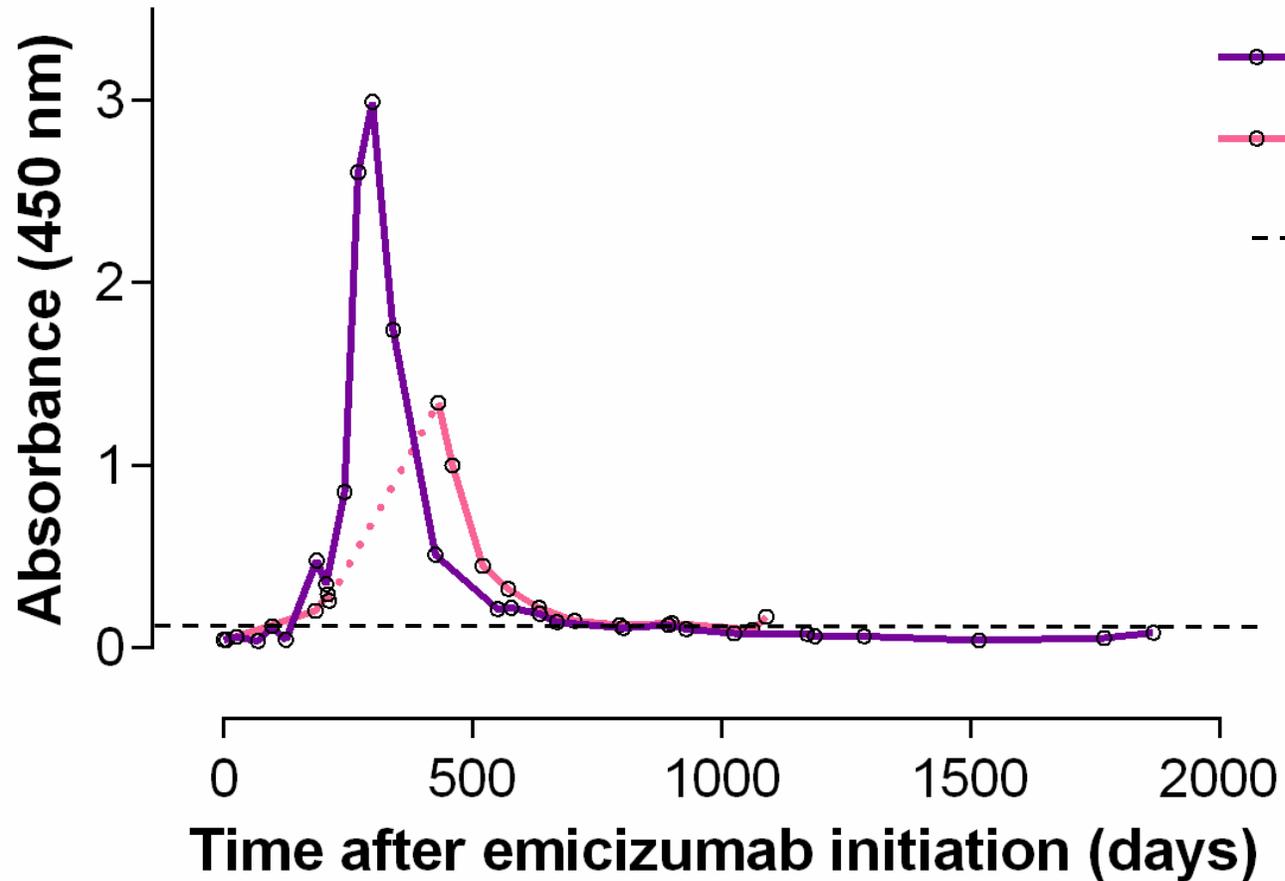
# CINETIQUE D'APPARITION/DISPARITIONS DES ADA

## Patient 1



--- Seuil de positivité ADA

# CINETIQUE D'APPARITION/DISPARITIONS DES ADA



—○— Patient 1

—○— Patient 2

--- Seuil de positivité ADA

➔ Cinétiques **très similaires**  
entre les 2 patients

# PERFORMANCES DE LA METHODE

## Seuil de positivité :

Déterminé à partir de 30 échantillons de sujets sains : moyenne + 3SD = 0,11

## Contrôles positifs : 2 sources possibles

1. Les échantillons des patients connus positifs
2. Un anticorps anti-emicizumab (Nogami et al., JTH, 2018, produit à l'UMR\_S 1176)

—  
**Répétabilité** : mesurée avec l'anticorps anti-emicizumab à la concentration de 15µg/mL et 50µg/mL (n=10)

- Contrôle bas :  $0,219 \pm 0,021$  → **CV 9,75%**

- Contrôle haut :  $0,600 \pm 0,045$  → **CV 7,48%**

**Reproductibilité** : mesurée sur un échantillon de patient n= 10

Moyenne  $0,348 \pm 0,081$  → **CV 23,4%**

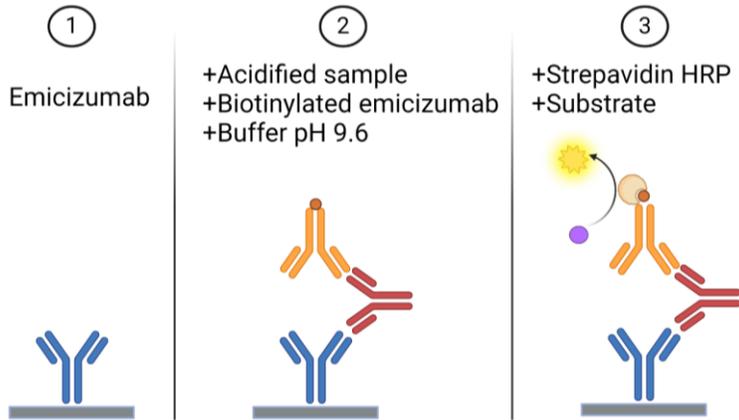
## **Ratio Cpos/patient**

*Pour prendre en compte la **variabilité entre les expérimentations**, on calcule aussi le **ratio entre l'absorbance du contrôle positif du jour et l'absorbance obtenue pour le patient***

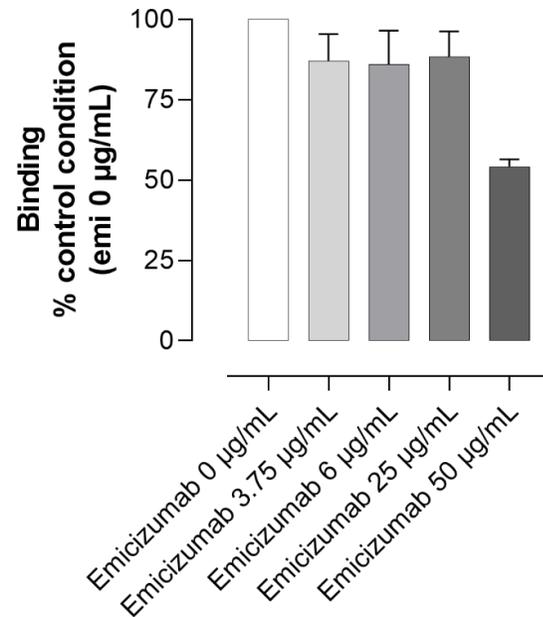
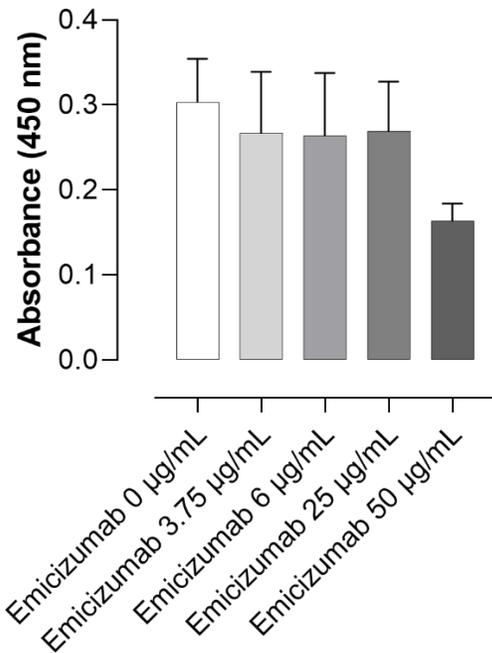
**Calcul du ratio seuil : rapport entre l'absorbance du contrôle positif et l'absorbance du plasma de 30 volontaires sains → 99<sup>ème</sup> percentile : 3,6**

*A recalculer si changement de source de contrôle positif*

# PRESENCE d'EMICIZUMAB DANS LE PRELEVEMENT

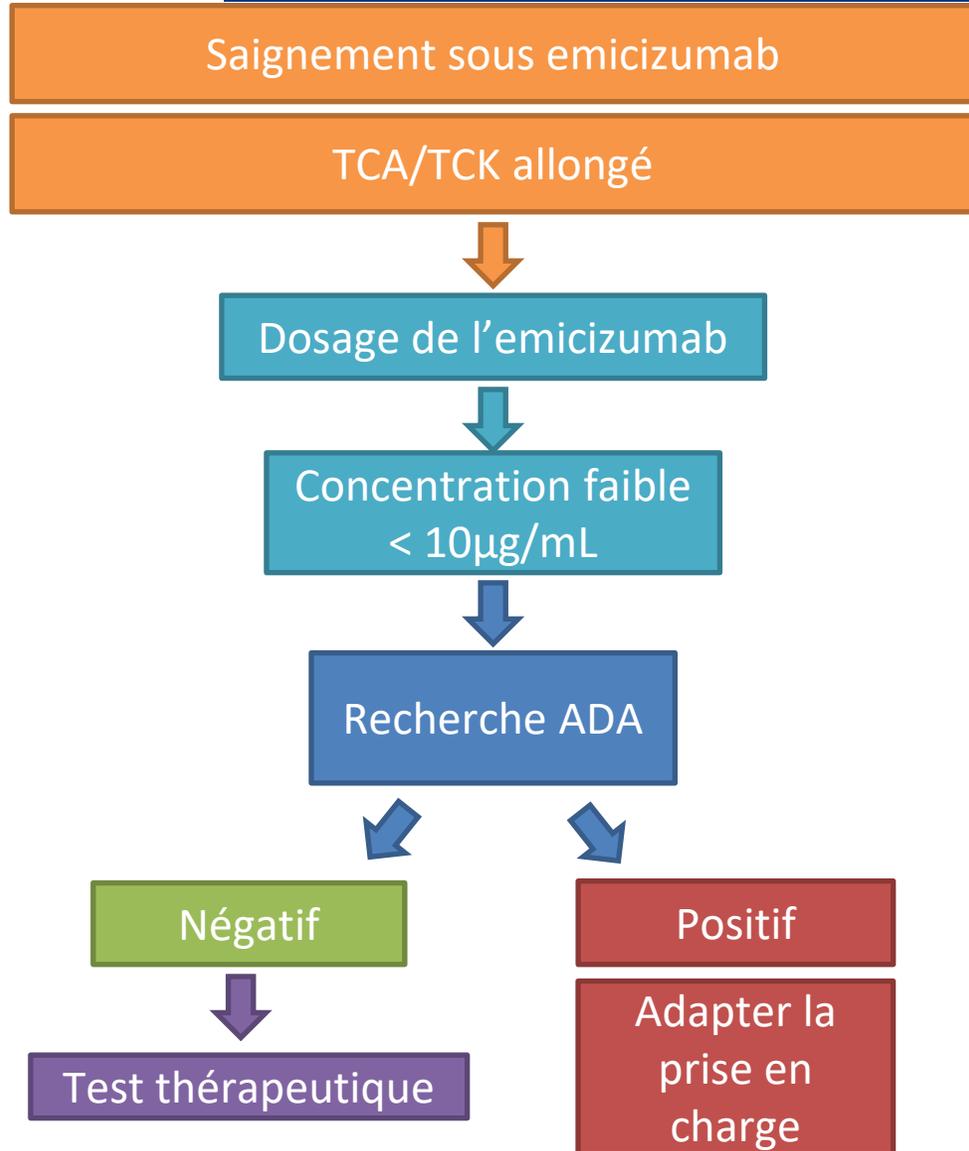


Bleu : Emicizumab  
 Rouge: ADA  
 Orange: Emicizumab biotinylé

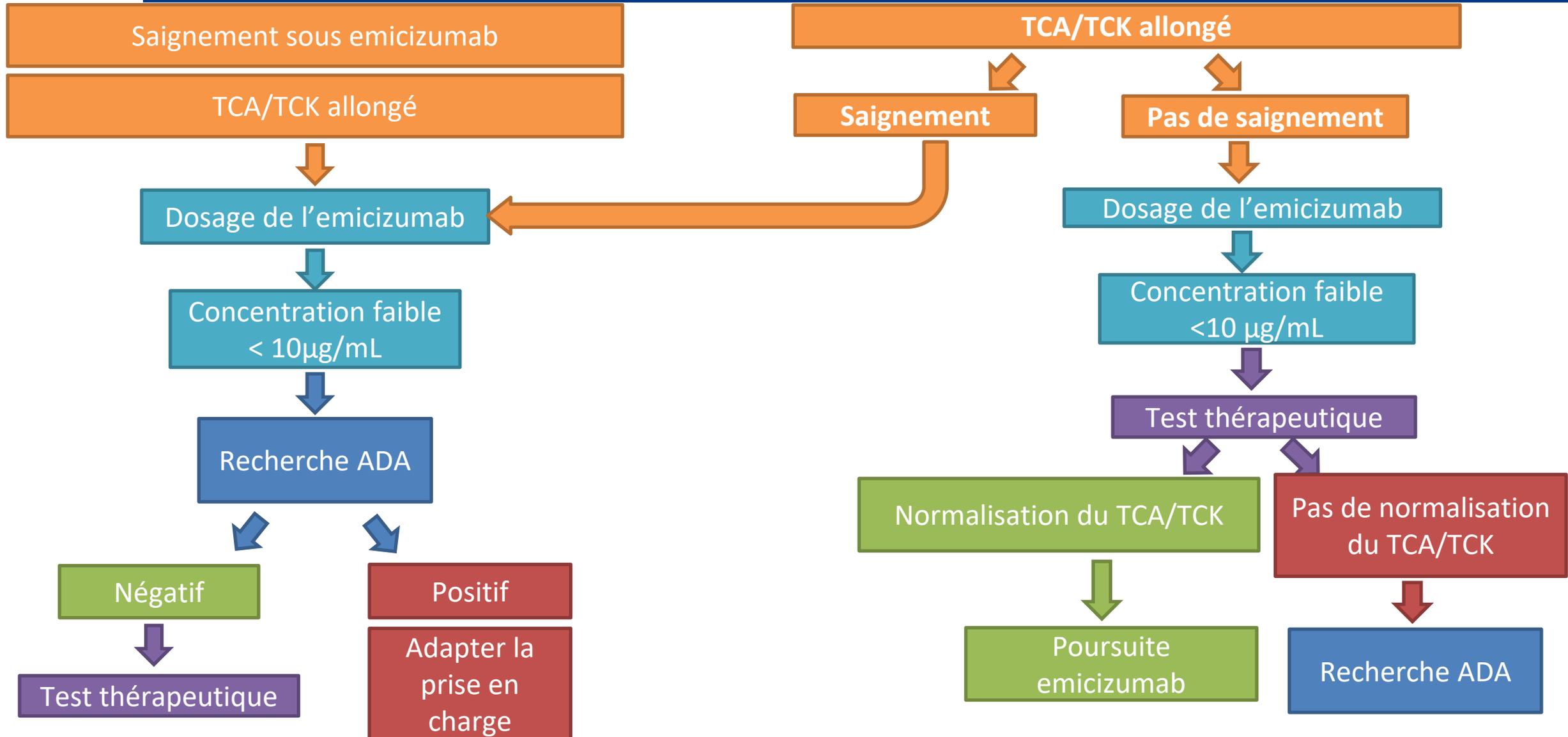


→ Test peu sensible à la présence d'emicizumab dans le prélèvement

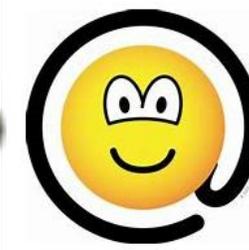
# QUELLE PLACE POUR CE TEST ?



# CONCLUSION : QUELLE PLACE POUR CE TEST ?



# NOUS CONTACTER



- Par mail :
  - [claire.auditeau@aphp.fr](mailto:claire.auditeau@aphp.fr)
  - [dominique.lasne@aphp.fr](mailto:dominique.lasne@aphp.fr)
  - [delphine.borgel@aphp.fr](mailto:delphine.borgel@aphp.fr)
- Renseignements cliniques et biologiques
  - Saignement
  - TCK et si possible concentration d'emicizumab
  - Délai depuis l'introduction de l'emicizumab
- Après confirmation de l'indication :
  - Envoyer un échantillon de plasma au laboratoire d'hématologie générale de Necker du Pr Delphine Borgel à Necker (Paris)
  - A l'attention de : Dr Claire Auditeau/Dr Dominique Lasne/Pr Delphine Borgel
  - Délai de rendu : environ 1 semaine

# Remerciements



Claire Auditeau  
Kalim Bentounes  
Amandine Le Goff  
Annie Harroche  
Cécile Bally  
Delphine Borgel  
Thibaud Sefiane  
Peter Lenting

Carla Valsecchi  
Flora Peyvandi