



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**

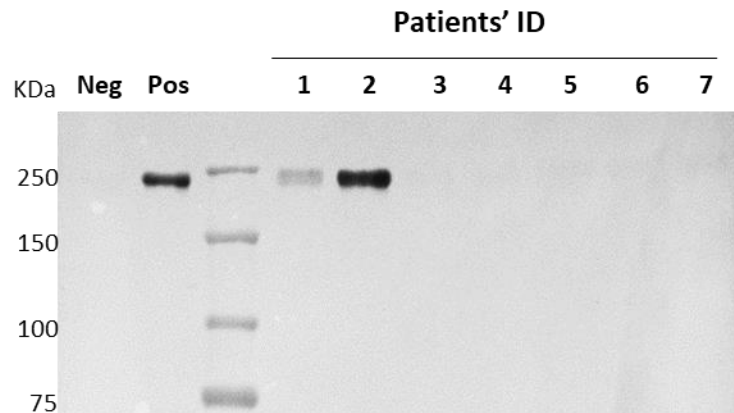
- Patient 1 : **patient connu ADA positif, publié** → **Contrôle positif**
 - Patient 2 : **clinique et biologie** en faveur d'un **ADA** mais **jamais mis en évidence** → **très probablement positif**
 - Patient 3 : concentration emicizumab **transitoirement <1µg/mL + saignement (traumatique)**
 - Patients 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

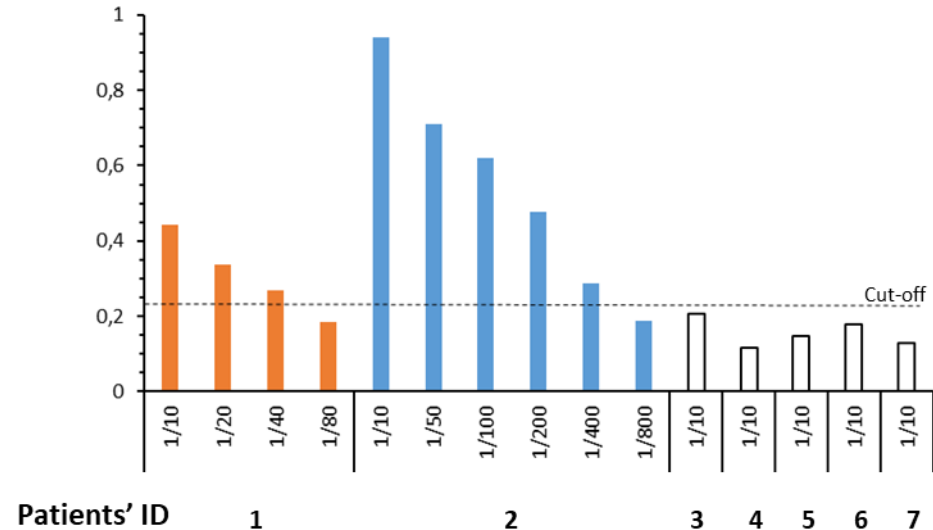
RESULTATS

Western blot

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

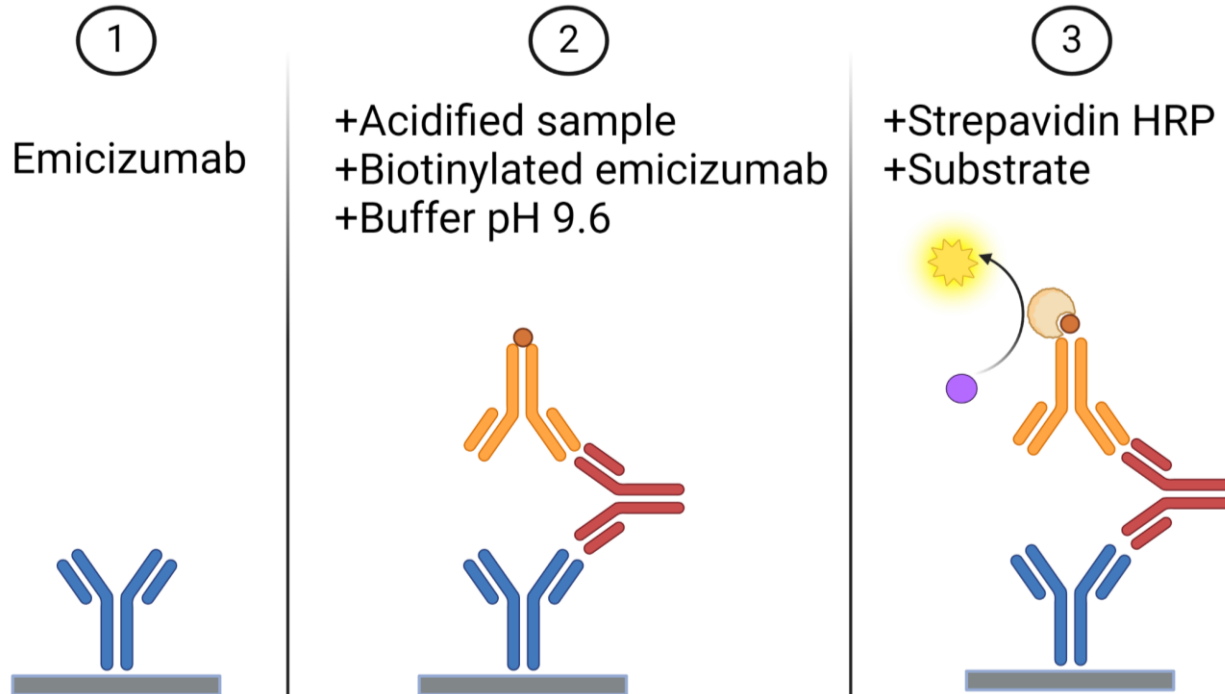


Modified ELISA



- 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 $<1\mu\text{g/mL}$ + 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

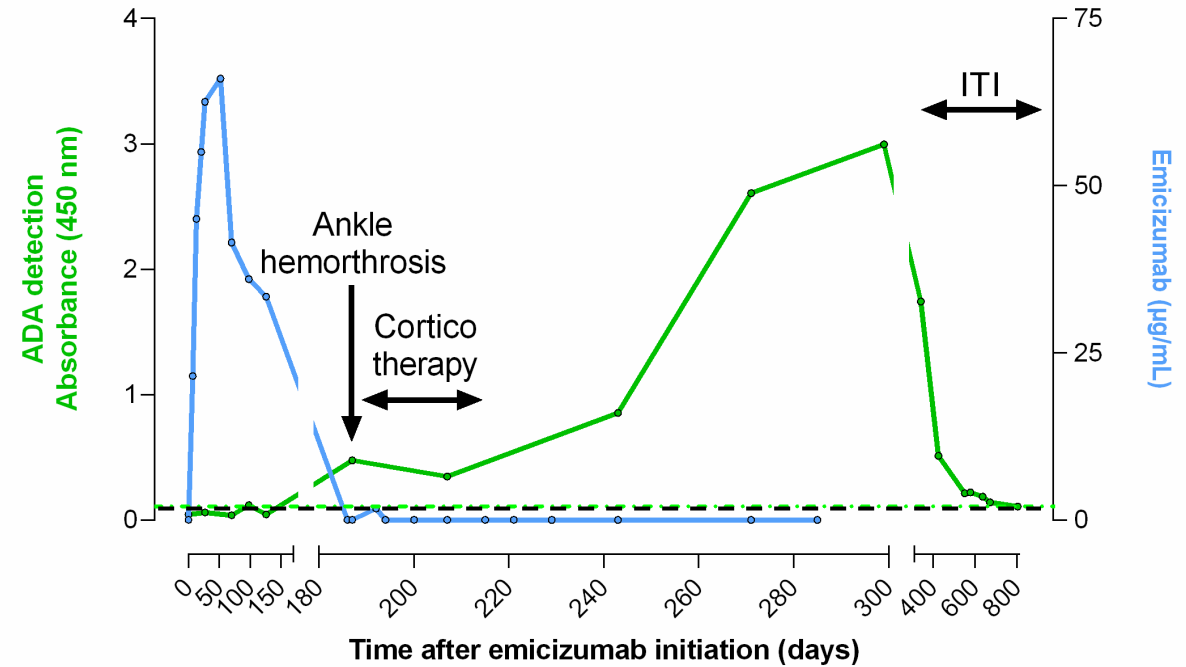
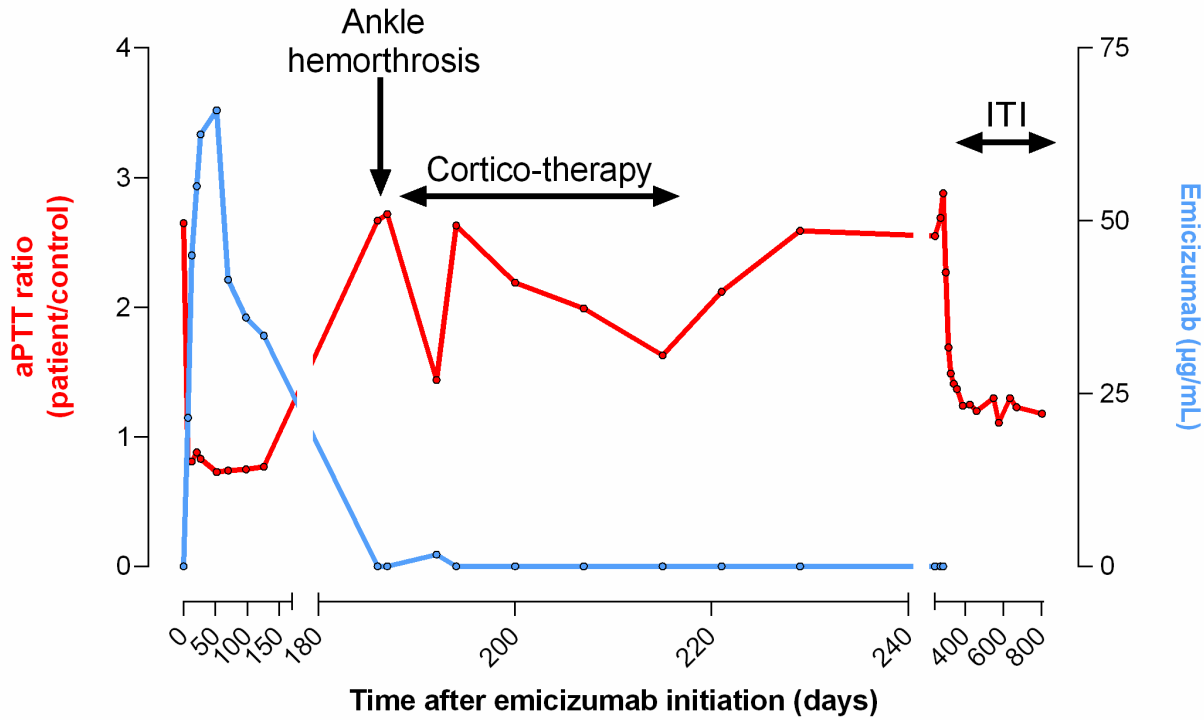
Orange: Emicizumab biotinylé

▪ 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)

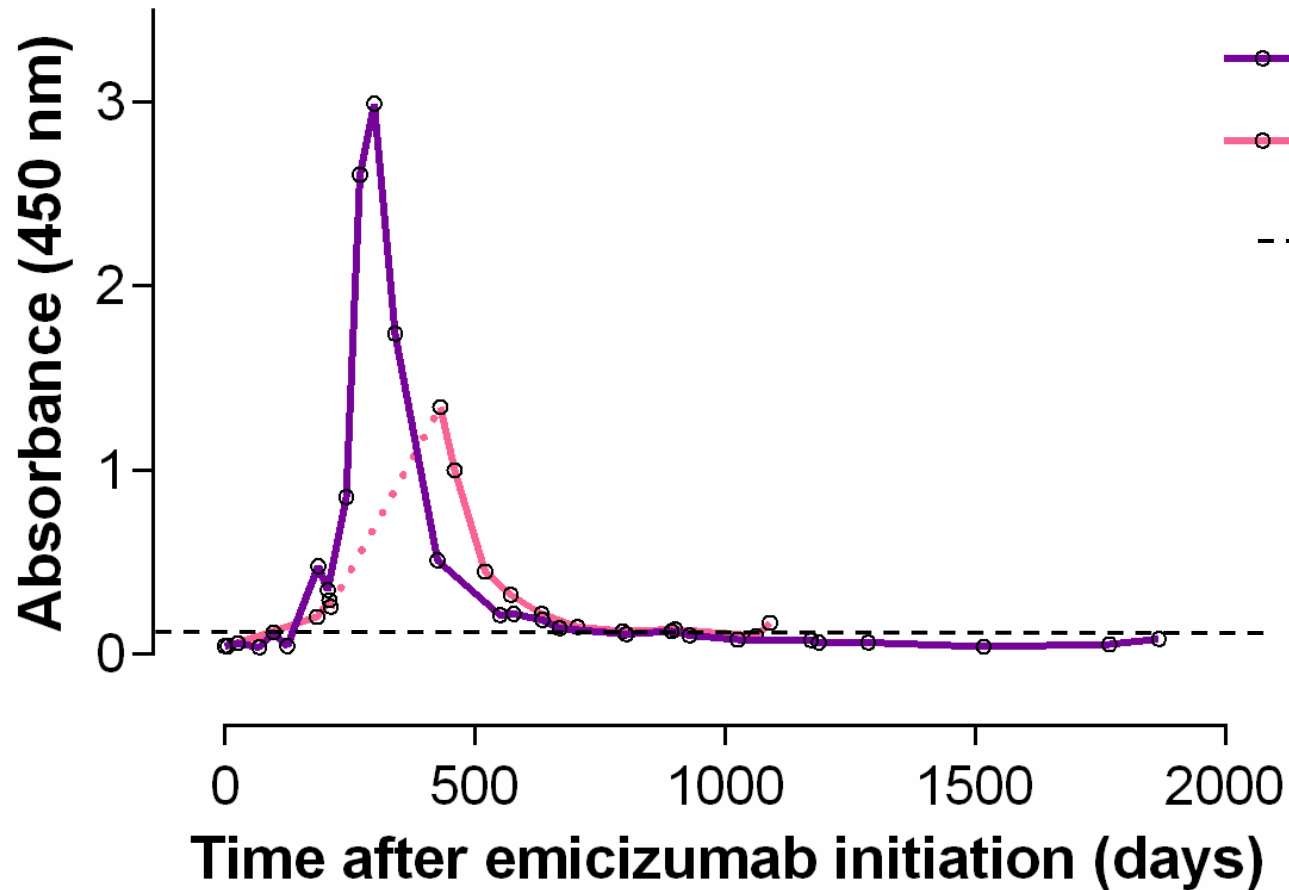
CINETIQUE D'APPARITION/DISPARITIONS DES ADA

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 : $0,219 \pm 0,021 \rightarrow \text{CV } 9,75\%$

- Contrôle haut : $0,600 \pm 0,045 \rightarrow \text{CV } 7,48\%$

Reproductibilité : mesurée sur un échantillon de patient n= 10

Moyenne $0,348 \pm 0,081 \rightarrow \text{CV } 23,4\%$

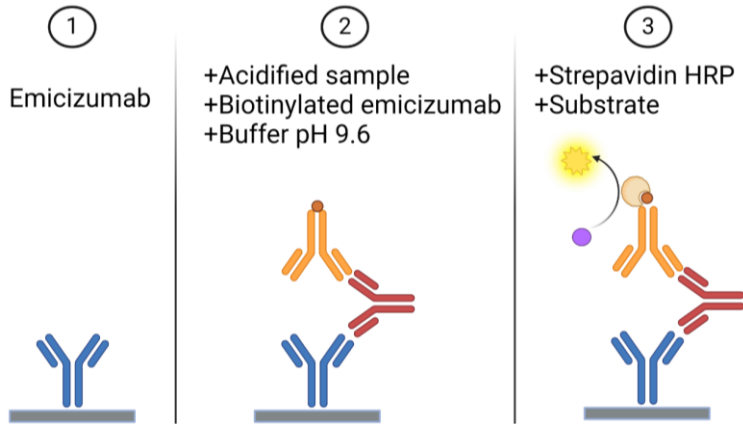
Ratio Cpos/patient

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**

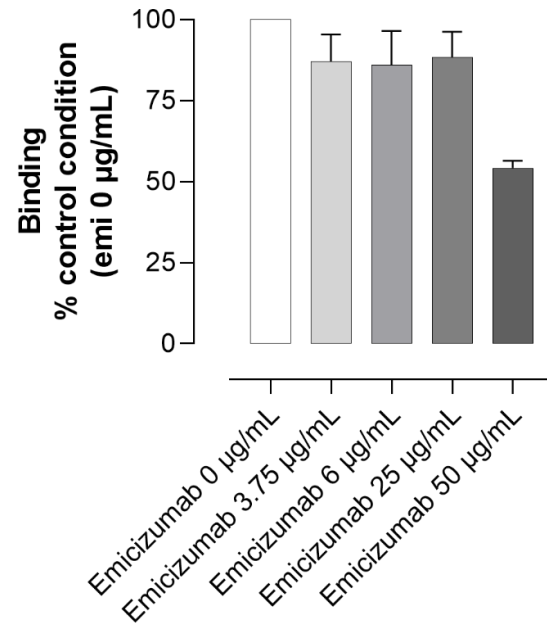
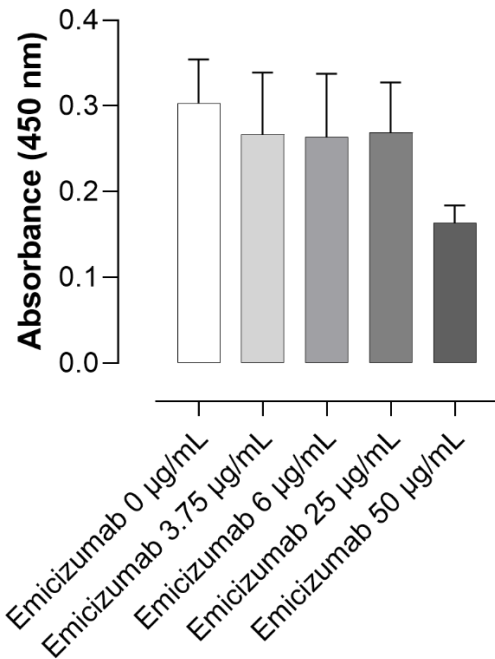
Calcul du ratio seuil : rapport entre l'absorbance du contrôle positif et l'absorbance du plasma de 30 volontaires sains \rightarrow 99^{ème} percentile : 3,6

A recalculer si changement de source de contrôle positif

PRESENCE d'EMICIZUMAB DANS LE PRELEVEMENT

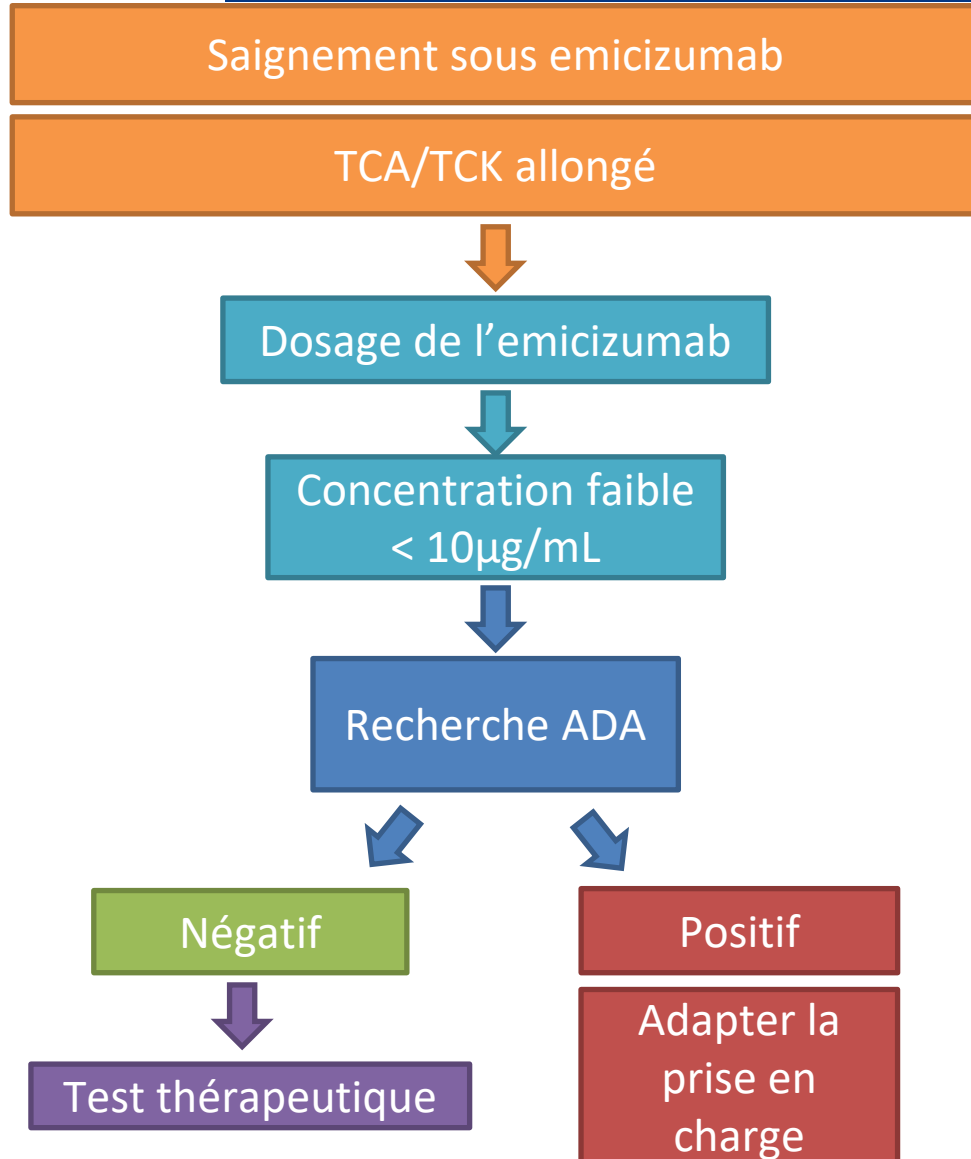


Bleu : Emicizumab
 Rouge: ADA
 Orange: Emicizumab biotinylé

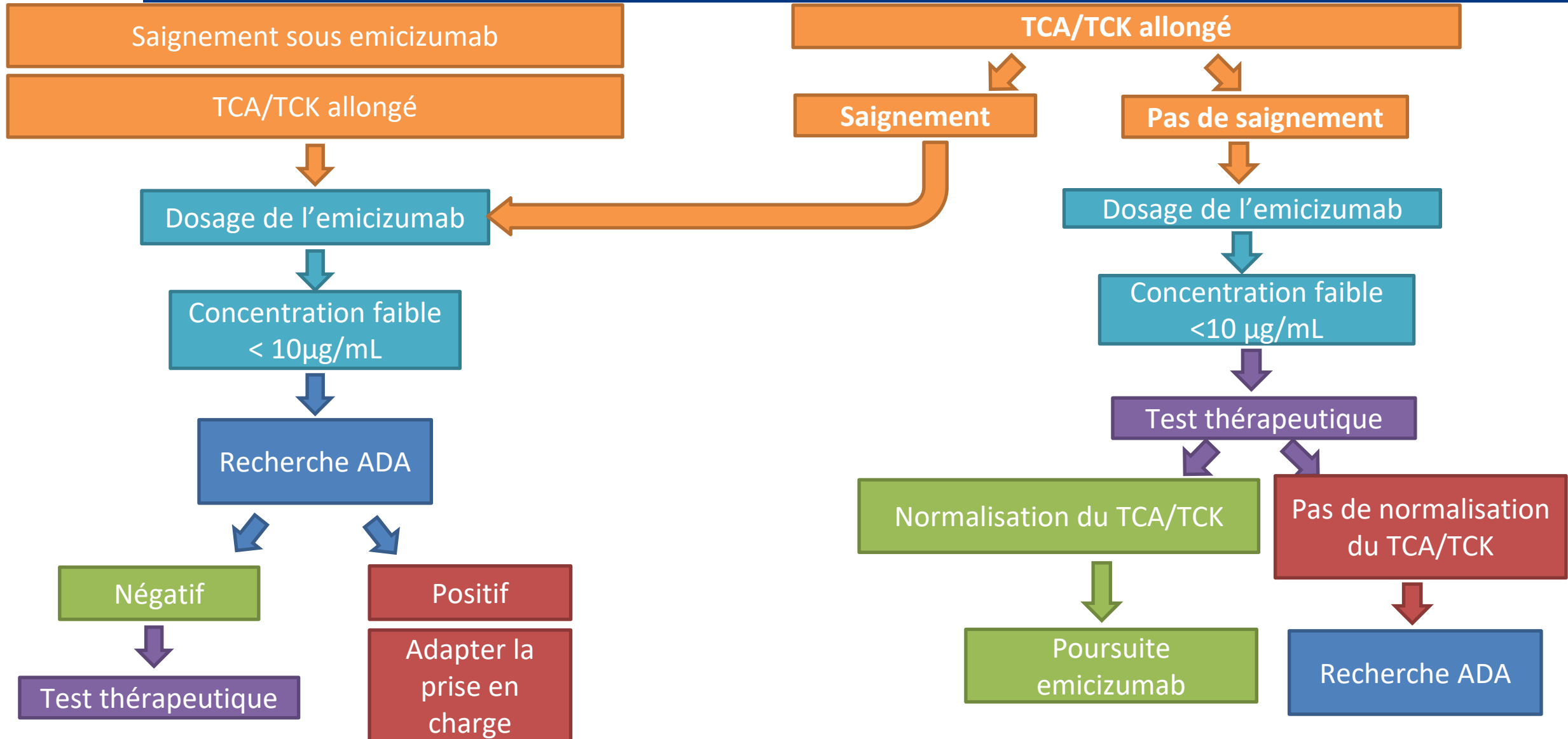


→ Test peu sensible à la présence d'emicizumab dans le prélèvement

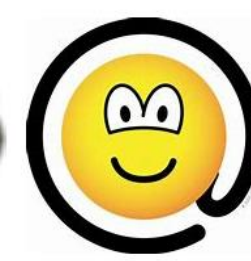
QUELLE PLACE POUR CE TEST ?



CONCLUSION : QUELLE PLACE POUR CE TEST ?



NOUS CONTACTER



- Par mail :
 - claire.auditeau@aphp.fr
 - dominique.lasne@aphp.fr
 - 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