



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTE DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Evaluation de la stabilité des taux résiduels d'infliximab et performances d'un test « rapide » chez les patients traités à une posologie optimisée pour une maladie inflammatoire chronique de l'intestin en rémission

Présentée et soutenue publiquement le 09 Octobre 2020 à 16h00
au Pôle Formation
par **Mathieu TRONCHON**

JURY

Président :

Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Benjamin PARIENTE

Madame le Docteur Stéphanie CHHUN

Madame le Docteur Maria NACHURY

Directeur de thèse :

Madame le Docteur Stéphanie ROGEAU

AVERTISSEMENT

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADA: *Anti-drug Antibody*

DD: *Death Domain*

FADD: *FAS associated Death Domain*

IFX: *Infliximab*

HBI: *Indice de Harvey-Bradshaw*

HdJ: *Hôpital de Jour*

IKK: *Inhibitor of Nuclear Factor kappa B Kinase*

IS: *Immunosuppresseur*

MC: *Maladie de Crohn*

MIC: *Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin*

NFκB: *Nuclear Factor kappa B*

RCH: *Rectocolite hémorragique*

RIP: *Receptor Interacting Protein*

TNF: *Tumor Necrosis Factor*

TNFR: *Tumor Necrosis Factor Receptor*

TRADD: *Tumor Necrosis Factor Receptor associated Death Domain*

TRAF: *Tumor Necrosis Factor Receptor associated Factor*

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| RESUME | 1 |
| INTRODUCTION..... | 4 |
| 1. LE TNF α | 4 |
| 2. LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN | 8 |
| 3. L'INFLIXIMAB ET LES TRAITEMENTS PAR ANTI-TNF α | 10 |
| 4. OBJECTIFS DE L'ETUDE..... | 14 |
| MATERIEL ET METHODES | 15 |
| 1. POPULATION | 15 |
| 2. RECUEIL DES DONNEES | 16 |
| 3. TECHNIQUES DE DOSAGE..... | 17 |
| a. <i>Méthode ELISA</i> | 17 |
| b. <i>Test « rapide »</i> | 18 |
| 4. ANALYSES STATISTIQUES..... | 19 |
| RESULTATS..... | 22 |
| 1. POPULATION DE L'ETUDE | 22 |
| 2. ETUDE DES TAUX D'IFX | 27 |
| a. <i>Résultats des dosages</i> | 27 |
| b. <i>Etude de la stabilité des taux d'IFX</i> | 32 |
| c. <i>Paramètres associés à une variation des taux d'IFX</i> | 33 |
| 3. COMPARAISON ENTRE LA TECHNIQUE ELISA ET LA TECHNIQUE « RAPIDE » | 37 |
| DISCUSSION | 43 |
| CONCLUSION | 53 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 54 |
| ANNEXES | 58 |

RESUME

Introduction : Le TNF α est une cytokine qui possède un rôle central dans le déclenchement de la réponse inflammatoire. L'infliximab, un anticorps monoclonal anti-TNF α , est utilisé dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et a fait la preuve de son efficacité. Certains patients se trouvent malheureusement face à une perte d'efficacité nécessitant une adaptation des doses administrées. La gestion de ce traitement est aidée par la possibilité de doser le médicament.

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer la stabilité des taux résiduels d'infliximab chez des patients souffrant de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin en rémission sous traitement à une posologie optimisée. Le second objectif était de réaliser une comparaison entre deux méthodes de dosage : la technique ELISA standard et une technique « rapide ».

Matériel et Méthodes: Nous avons inclus entre le 1^{er} novembre 2019 et le 31 juillet 2020 trente patients traités par infliximab à posologie optimisée en gastroentérologie au CHU de Lille, en rémission au moment des dosages. Les résultats de dosage résiduels de l'infliximab étaient récupérés pendant cette période jusqu'à en obtenir 3 valeurs par patient. La variation du taux mesuré par dosage ELISA, a été calculée en soustrayant la valeur du dosage à la première visite, à chacune des valeurs des dosages des visites ultérieures. Pour évaluer la stabilité des variations de taux résiduels, celles-ci ont été comparées à la valeur nulle à l'aide d'un test non paramétrique de Wilcoxon après conversion en valeurs absolues. La recherche de

facteurs associés à cette variation du taux ont été réalisées par la construction de modèles mixtes en données répétées.

Les dosages des taux résiduels d'infliximab ont été réalisés en double par une technique ELISA et une technique « rapide » afin de comparer les 2 tests. La corrélation entre les deux méthodes a été étudiée par régression linéaire simple. Le biais moyen entre les kits et les limites d'agrément ont été étudiés par la construction de diagrammes des différences selon Bland et Altman

Résultats: Les résultats de 28 patients ont pu être analysés. La médiane des différences était de 2,05 µg/ml (IQR : 0,68-2,98) entre le deuxième et le premier dosage, elle était de 1,70 µg/ml (IQR : 0,70-3,40) entre le troisième et le premier dosage. Ces résultats étaient significativement différents de la valeur nulle ($p < 0,001$). Les variations moyennes des taux résiduels d'infliximab étaient associées négativement au délai théorique entre 2 injections estimé en pourcentage (-0,13 µg/ml (IC95 % : [-0,20; -0,06], $p < 0,001$)) et associées positivement à un traitement concomitant par immunosuppresseur (+1,95 µg/ml (IC95 % : [0,50; 3,40], $p = 0,010$)).

La comparaison entre la technique ELISA et la technique « rapide » retrouvait un coefficient de détermination $r^2 = 0,88$. L'étude des différences entre les 2 techniques mettait en évidence un biais proportionnel avec un biais moyen exprimé en pourcentage à +27,6 % (IC95 %: [23; 32,2]).

Conclusion: Les taux résiduels d'infliximab n'étaient pas stables en médiane durant le suivi de notre cohorte. Les principaux paramètres identifiés comme liés à cette variation des taux étaient un dépassement du délai théorique entre deux perfusions et un traitement immunosuppresseur associé au moment des dosages. Nous avons également comparé une technique « rapide » à la technique ELISA utilisée en

routine dans notre laboratoire pour le dosage de l'IFX. Cette comparaison mettait en évidence un biais proportionnel entraînant une surestimation des résultats de 27,6 % en moyenne par le test « rapide » par rapport à la technique ELISA.

INTRODUCTION

1. Le TNF α

Le *Tumor Necrosis Factor* est une cytokine identifiée en 1975 dans le sérum d'animaux auxquels des endotoxines bactériennes ont été injectées. L'effet de lyse observé au sein de tumeurs greffées chez ces animaux lui valut son nom. La caractérisation du gène codant pour le TNF en 1984 mit en évidence qu'une autre protéine appelée cachectine, identifiée comme responsable de cachexie (perte de poids, fatigue...) lors de cancers et de réactions inflammatoires, était identique ; preuve que le TNF possédait des propriétés plus variées que supposé initialement. L'étude du gène mit également en lumière une très forte ressemblance avec une autre protéine produite par les lymphocytes T appelée *Lymphotoxin α* . Le TNF fut alors renommé TNF α et la LT α , TNF β (1-3).

La multiplication des études au cours du temps a démontré que le TNF α faisait partie, avec le TNF β , d'une superfamille composée d'antigènes proches du TNF α (CD40 ligand, FAS ligand, RANK ligand...) et de leurs récepteurs (CD40, FAS, RANK...) (1) ayant tous un rôle central dans diverses voies de signalisation cellulaire. Elles ont également mis en évidence que le TNF α était lui-même à l'origine ou participait à un large éventail de manifestations physiologiques et pathologiques.

Les principales cellules productrices de TNF α sont les monocytes et macrophages, suivies par les lymphocytes T et B. Il peut aussi être synthétisé dans une moindre mesure par les polynucléaires, les cellules musculaires lisses, les kératinocytes, les cellules de Paneth, les astrocytes ou les cellules de la microglie. Enfin, paradoxalement à son premier effet décrit, il peut aussi être produit par certaines cellules tumorales à l'origine de cancers solides (fibrosarcomes, tumeurs épithéliales) ou d'hémopathies (myélomes, leucémies) (2,3). Sa synthèse peut être induite par de nombreux stimuli d'origine infectieuse : en premier lieu, le lipopolysaccharide bactérien, mais aussi les érythrocytes infectés par *Plasmodium falciparum*, certaines toxines, un certain nombre d'espèces bactériennes (mycobactéries, bactéries à Gram positif ou négatif) ou virales. Des stimuli non infectieux tels que d'autres cytokines, des facteurs de croissance, le facteur C5a du complément, la 1,25 dihydroxyvitamine D, l'irradiation par des rayons X ou les cristaux d'urate (3) entraînent également sa production.

Une fois synthétisé le TNF α se retrouve sous une forme membranaire (mTNF α) qui peut être clivée par la *TNF α Converting Enzyme* pour libérer une forme soluble (sTNF α) (2). Les deux formes possèdent une activité biologique et agissent en se fixant à l'un des deux récepteurs du TNF α : TNFR1 et TNFR2.

TNFR1 est présent à la surface de très nombreux types cellulaires et TNFR2 se retrouve principalement à la surface des leucocytes ou des cellules endothéliales. Ils diffèrent par l'affinité de leur liaison avec le sTNF α et par leur domaine intracellulaire (4).

Les voies de signalisations recrutées par la fixation du TNF α sur TNFR1 sont principalement liées à une activité pro-inflammatoire. TNFR1 possède sur sa partie intracellulaire une structure appelée *Death Domain* (DD). Ce DD lui permet de lier la

TNFR associated Death Domain protein (TRADD) qui à son tour recrute la *Receptor Interacting protein 1* (RIP-1) et le *TNFR Associated Factor 2* (TRAF2). RIP-1 va, avec l'aide d'autres médiateurs, activer la sous-unité β de l'*Inhibitor of κ B Kinase complex* (IKK) qui a pour rôle de phosphoryler cet inhibiteur. Une fois phosphorylé I κ B va être dégradé au niveau du protéasome ce qui libère le *Nuclear Factor κ B* (NF κ B). Ce dernier peut alors rejoindre le noyau et y exercer son activité de facteur de transcription. Le NF κ B se fixe sur la région promotrice de nombreux gènes impliqués dans la survie cellulaire et la réponse inflammatoire, dont celui du TNF α , et induit leur transcription. TRAF2 permet aussi, par le biais d'une autre voie de signalisation, l'action de l'*Activator Protein 1* un autre facteur de transcription intervenant sur des gènes impliqués dans la survie et la prolifération cellulaire. L'autre grande voie de signalisation déclenchée par la liaison du TNF α sur TNFR1 fait intervenir la liaison de *Fas Associated Death Domain protein* (FADD) à TRADD ce qui entraîne l'activation de la voie des caspases conduisant à l'apoptose. Les effets de la liaison du TNF α , et principalement du mTNF α , à son deuxième récepteur TNFR2 sont plus tournés vers une modulation de la réponse immunitaire, mais peuvent également rejoindre ceux de TNFR1. La structure intracellulaire de TNFR2 diffère de celle de TNFR1, en ne possédant notamment pas de DD. TNFR2 active des kinases impliquées dans des phénomènes d'adhésion cellulaire, de migration et de survie, il agit aussi en liant directement les TRAF à son domaine intracellulaire. De plus, son action sur I κ B rejoint l'activité du TNFR1 avec la libération de NF κ B au niveau nucléaire (Figure 1)

(5,6).

Soluble TNF receptors bind to TNF preventing interaction with cellular TNF receptors

Membrane bound TNF may preferentially activate TNFR2 and be more avidly bound by anti-TNF antibodies

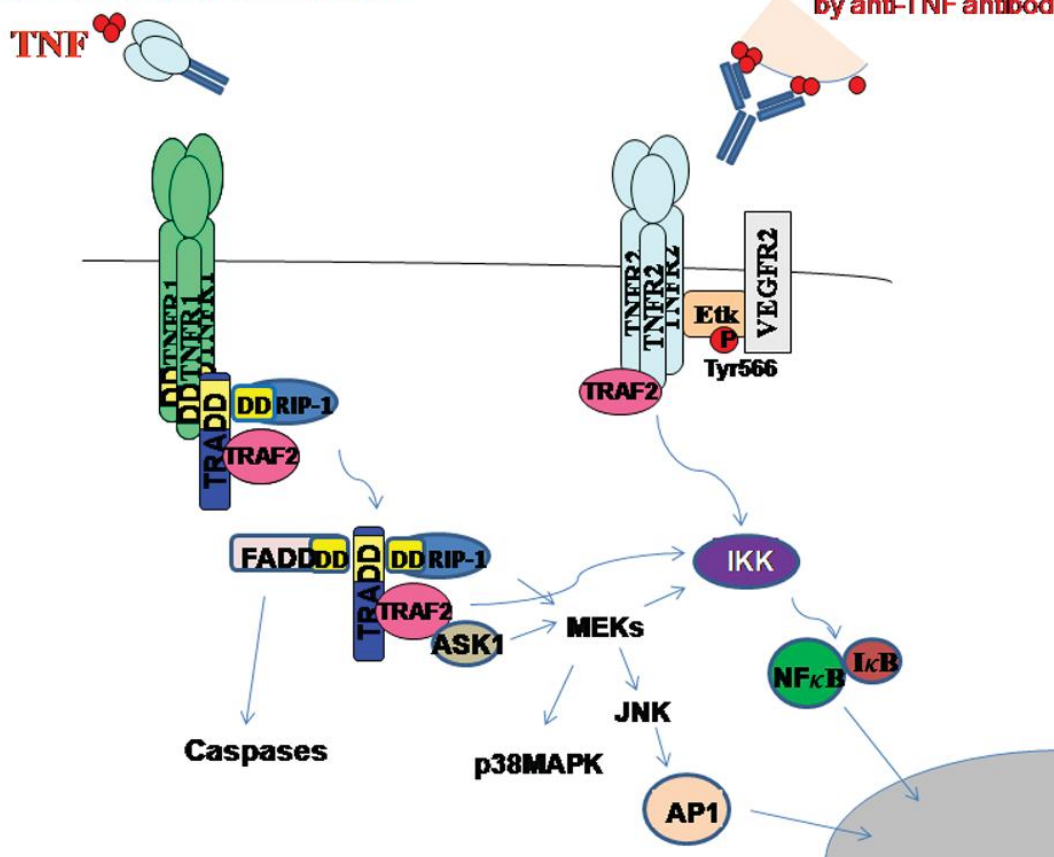


Figure 1 : Principales voies de signalisation du TNF α

D'après JR Bradley (5)

La diversité des cellules cibles et des voies de signalisation qu'il déclenche font du TNF α un acteur impliqué dans de nombreuses réponses cellulaires. Il est un acteur de la réponse immunitaire anti-infectieuse en initiant une réponse inflammatoire et en potentialisant le recrutement et la prolifération des polynucléaires neutrophiles, monocytes ou lymphocytes au niveau des sites inflammatoires, notamment par une adhésion facilitée au niveau des cellules endothéliales. C'est également un acteur indispensable à la formation et au maintien de la structure des granulomes nécessaires pour la défense contre des infections comme la tuberculose. Des études chez la souris ont aussi démontré son implication dans d'autres fonctions

physiologiques comme le développement embryonnaire, le cycle veille-sommeil et la formation des follicules lymphoïdes et des centres germinatifs au sein des ganglions lymphoïdes. Sa présence en excès ou une altération du fonctionnement de ses voies de signalisation peut cependant être à l'origine d'états pathologiques. De façon aiguë il est le principal médiateur des chocs septiques secondaires à la présence d'endotoxines ; il est également responsable d'atteintes neurologiques graves lors de paludisme à *Plasmodium falciparum*. Sur un plan chronique, son rôle a été mis en évidence dans la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante ou les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (2,5-7).

2. Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) sont des pathologies caractérisées par une inflammation de la paroi du tube digestif. Elles évoluent de façon chronique par la succession de poussées de durée et de fréquence variables, entrecoupées de phases de rémission. Dans la Maladie de Crohn, l'inflammation peut concerner l'ensemble du tube digestif (de la bouche à l'anus) mais se retrouve principalement au niveau de l'intestin grêle. Dans la Rectocolite Hémorragique l'inflammation commence au niveau du rectum et va avoir une progression ascendante le long du colon. La prévalence en France est d'environ 5 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants pour la MC comme pour la RCH. Environ 226 000 personnes étaient prises en charge en France pour une MICI en 2017 (8). Le diagnostic est plus souvent porté chez l'adulte jeune (20-30 ans) mais il peut être porté à tout âge (9).

La symptomatologie est principalement marquée par des douleurs abdominales et des diarrhées, parfois très nombreuses et invalidantes, ou un syndrome dysentérique ; peuvent s'y associer des lésions proctologiques, une altération de l'état général et des manifestations inflammatoires extradiigestives (arthrites, uvéites, aphtes buccaux...) (10). L'inflammation chronique peut se compliquer de manifestations à type de sténose ou de fistules nécessitant fréquemment un recours à la chirurgie. Des anomalies biologiques sont associées à la symptomatologie de manière inconstante : syndrome inflammatoire, anémie, stigmates de malabsorption. Le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments regroupant l'ensemble de ces éléments accompagnés de résultats endoscopiques (types de lésions, topographie, réalisation de biopsies), histologiques et iconographiques (11,12). Une fois le diagnostic établi une stratification de la sévérité de la maladie et des risques évolutifs, basée sur une classification clinique (13), les comorbidités et les complications au diagnostic, est réalisée pour permettre une prise en charge adaptée à chaque patient (12,14).

Il n'existe pas de traitement curatif pour ces pathologies et les stratégies thérapeutiques actuelles visent à contrôler la maladie, c'est-à-dire obtenir un état de rémission le plus prolongé possible au niveau clinique et endoscopique, afin d'éviter les complications et d'obtenir la meilleure qualité de vie possible. Le traitement médicamenteux repose donc sur des médicaments anti-inflammatoires, immunomodulateurs ou immunosuppresseurs afin de contrôler l'inflammation au niveau du tube digestif et des éventuels sites extradiigestifs (12,14).

Des études ont mis en évidence le rôle dans la physiopathologie des MICI du TNF α par sa présence en quantité augmentée dans les selles, au sein des muqueuses digestives lésées et son implication dans la production de métalloprotéases par les

cellules stromales, responsables de ces lésions (15). Une prévention de la survenue de colites dans des modèles murins de MICI après l'usage de bloqueurs du TNF α a également été constatée (12,16). Des essais chez l'être humain ont rapidement montré l'effet bénéfique de telles thérapeutiques dirigées contre le TNF α sur la symptomatologie (17,18). Les anti-TNF α sont depuis devenus des outils incontournables pour la prise en charge des MICI.

3. L'infliximab et les traitements par anti-TNF α

La première molécule anti-TNF α utilisée en thérapeutique humaine est l'infliximab (IFX) qui fut approuvé par la *FDA* en 1998 et reçut l'AMM en France en 1999 pour les MICI échappant aux traitements de première ligne. Il s'agit d'un anticorps monoclonal chimérique composé d'une partie variable de souris reconnaissant de manière spécifique le sTNF α et le mTNF α , fusionnée avec une partie constante d'IgG1 humaine (Figure 2). En fixant le TNF α il l'empêche de se lier à ses récepteurs et neutralise son action. L'IFX entraîne une diminution locale et systémique de la production de cytokines pro-inflammatoires, une diminution de l'expression par les cellules endothéliales de molécules d'adhésion et donc une baisse de la migration des leucocytes au niveau des sites inflammatoires. La fixation au mTNF α déclenche également *in vitro* l'apoptose des cellules productrices de TNF α par le biais de mécanismes de type *Antibody-dependant cell-mediated cytotoxicity* (ADCC) ou par l'utilisation du complément. Il y a également une diminution de la production de métalloprotéases qui ont une action pathogène directe sur les tissus (19). L'IFX est

toujours l'un des principaux anti-TNF α utilisés aujourd'hui dans le traitement des MICI mais aussi de la polyarthrite rhumatoïde, de la spondylarthrite ankylosante et du psoriasis. Il s'administre par voie intra-veineuse sous la forme d'un schéma d'induction (plusieurs perfusions rapprochées au début du traitement) puis d'un traitement d'entretien (perfusions à intervalle régulier de plusieurs semaines), une stratégie qui a su montrer un bénéfice pour la prise en charge des patients (20).

D'autres molécules anti-TNF α existent (Figure 2) : l'adalimumab et le golimumab sont deux autres anticorps monoclonaux, cette fois entièrement humains, le certolizumab est composé d'un fragment Fab' d'anticorps humanisé recombinant, conjugué à du Polyéthylène Glycol et l'éta nercept est une protéine de fusion constituée du domaine extra-cellulaire de TNFR2 et de la portion Fc d'une immunoglobuline de type IgG1. Ces molécules ont toutes leur place dans le traitement de maladies inflammatoires chroniques avec des indications variables, l'éta nercept et le certolizumab n'ont par exemple pas l'AMM pour les MICI. En plus des médicaments princeps, il existe pour l'IFX, l'adalimumab et l'éta nercept des médicaments biologiques similaires, appelés biosimilaires, de plus en plus utilisés en pratique courante. Ces biosimilaires sont des médicaments semblables mais qui présentent tout de même de petites différences de structure par rapport aux médicaments de référence. Ils ont montré des propriétés physico-chimiques et biologiques, pharmacodynamiques, toxicologiques et cliniques comparables au médicament de référence. Ils peuvent donc être utilisés pour les mêmes indications que les médicaments biologiques, à la même dose et selon le même schéma d'administration. Leur présence sur le marché a généré une baisse des prix, permettant un accès plus large à ces traitements, et diminue le risque d'éventuelles difficultés d'approvisionnement (21,22).

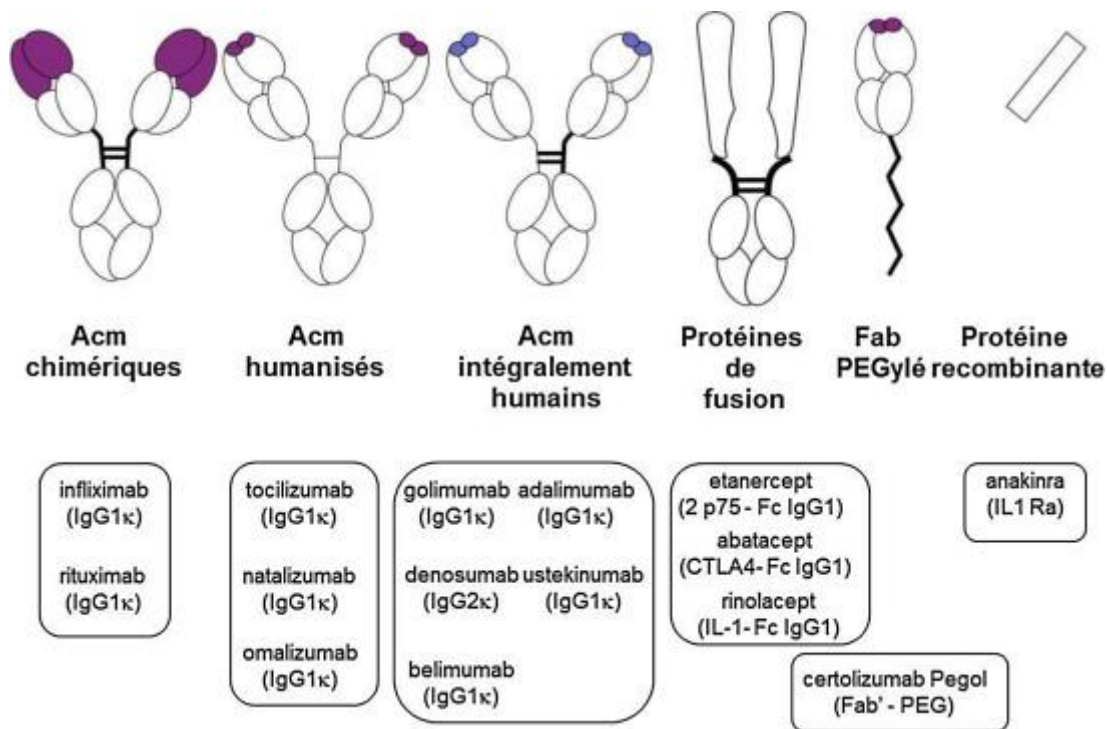


Figure 2 : Principaux biomédicaments utilisés dans les maladies inflammatoires

D'après P. Goupille (23)

Bien que l'IFX ait montré une grande efficacité dans le traitement des MICI, il n'est pas efficace chez tous les patients, son effet peut s'avérer insuffisant dès l'initiation (absence de réponse primaire) ou bien diminuer au cours du temps (perte de réponse secondaire) (24,25) ce qui entraîne la nécessité d'une adaptation thérapeutique, soit en optimisant la posologie du traitement (augmentation de la dose et/ou rapprochement des perfusions) soit en changeant le traitement pour un autre anti-TNF α ou pour une autre classe thérapeutique.

Cette décision est aidée par la possibilité de doser le taux résiduel d'IFX, qu'il s'agisse du médicament de référence ou de l'un de ses biosimilaires, dans le sang des patients ; ainsi le monitoring du traitement par l'intermédiaire du dosage a pris une place de plus en plus importante dans la gestion du traitement (26,27). Bien qu'il n'y ait pas encore de recommandations précises sur les cibles thérapeutiques à atteindre, une corrélation entre les taux résiduels et la rémission clinique, biologique et endoscopique a été montrée et différents seuils ont été suggérés : la première fenêtre thérapeutique préconisée par Vande Casteele et al. lors de l'étude TAXIT était comprise entre 3 µg/ml à 7 µg/ml (28), alors que les dernières recommandations de l'*American Gastroenterological Association* ciblent un taux résiduel minimum de 5 µg/ml, tout en précisant qu'il convient de tenir compte de la situation de chaque patient (29). Malgré cette absence de cibles parfaitement établies, le taux résiduel peut orienter vers la cause d'un échec de traitement. La présence de taux considérés comme « adéquats » ou « élevés » malgré une rechute de la maladie peut faire évoquer une inefficacité de la classe thérapeutique utilisée et donc la nécessité de cibler un autre mécanisme d'action, un taux considéré comme faible pourra faire suspecter un excès de clairance éventuellement associé à la mise en évidence d'anticorps anti médicament (*Anti-Drug Antibody* ou ADA), pouvant également être dosés, justifiant alors le recours à un autre anti-TNFα ou l'ajout d'un immunosuppresseur. L'IFX étant un anticorps monoclonal chimérique, il est possible que l'organisme s'immunise vis-à-vis de ce dernier ; les ADA produits sont majoritairement bloquants et dirigés contre la partie variable murine de l'anticorps monoclonal (30). Ils vont empêcher son action et favoriser sa clairance. Ils peuvent également être incriminés dans certains effets indésirables liés aux perfusions (23,31,32). Il a aussi été démontré que des concentrations suffisamment élevées en IFX

étaient liées à une rémission endoscopique (33) ce qui pose la question de la stratégie de dosage à utiliser, encore débattue aujourd'hui: être réactif (doser l'IFX en cas symptômes afin de guider l'adaptation du traitement) ou proactif (doser pour essayer de maintenir des concentrations élevées de médicament indépendamment de la clinique) (27,29,34). Le recours aux dosages d'IFX permet aussi une meilleure gestion des coûts occasionnés par le traitement (35) en évitant sa poursuite lorsqu'il est inefficace.

Les traitements au long cours par IFX sont une contrainte impactant la qualité de vie des patients d'autant plus si les perfusions doivent être rapprochées, ils constituent également un coût de santé publique non négligeable si l'on additionne le prix du médicament et la mobilisation de secteurs d'hospitalisation courte et de personnel hospitalier.

La question d'une diminution du traitement chez des patients pour qui la maladie est bien contrôlée est donc importante d'autant plus si celui-ci a déjà dû être optimisé.

4. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude visait à évaluer la stabilité des taux d'IFX chez des patients souffrant de MICI en rémission sous traitement optimisé. Dans un deuxième temps nous avons recherché les facteurs pouvant être associés à une variation des taux de médicament.

L'étude visait également à évaluer les performances d'un test « rapide » récemment mis sur le marché, par rapport à la technique actuellement utilisée par notre laboratoire pour le dosage des taux résiduels d'infliximab.

MATERIEL ET METHODES

1. Population

Toutes les demandes de dosages d'IFX envoyées au laboratoire d'immunologie du CHU de Lille entre le 1^{er} novembre 2019 et le 31 Juillet 2020 étaient évaluées à la recherche des critères d'inclusion et d'exclusion.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Patient connu et suivi pour une MICI au CHU de Lille
- En rémission
- En cours de traitement par IFX pour cette indication, que ce soit en monothérapie ou en combothérapie.
- A une posologie optimisée
- En phase d'entretien
- Pour lequel un dosage de la biothérapie était prescrit

Les critères d'exclusion étaient :

- Demande de dosage d'IFX provenant d'établissements extérieurs au CHU de Lille

- Demande de dosage d'IFX provenant d'un service du CHU de Lille autre que la gastroentérologie
- Demande de dosage d'IFX prescrite par un gastroentérologue du CHU de Lille ne participant pas à l'étude
- Maladie active
- Posologie du traitement à des doses non optimisées
- Posologie du traitement à des doses optimisées en phase d'induction

2. Recueil des données

Les patients étaient inclus de façon prospective sur la base d'informations indiquées sur une feuille de renseignements accompagnant les demandes de dosage de biothérapies (Annexe 1). En cas de fiche manquante ou incomplète le dossier médical informatique était consulté à la recherche des critères d'inclusion. Les patients étaient considérés en rémission d'après les conclusions du clinicien prenant en charge le patient au moment de son inclusion.

Les patients inclus étaient suivis afin de récupérer les résultats de deux dosages postérieurs à celui réalisé le jour de l'inclusion.

Le reste des informations était recueilli de manière rétrospective grâce aux courriers et comptes-rendus contenus dans le dossier médical informatique des patients.

Pour tous les patients inclus le dosage était réalisé à la fois par la technique de routine du laboratoire (méthode ELISA) et par une technique « rapide » en cours d'évaluation.

Les rendez-vous des patients étaient planifiés dans le cadre du suivi habituel de leur maladie.

3. Techniques de dosage

a. Méthode ELISA

La technique ELISA (de l'anglais « Enzyme-linked immunosorbent assay ») est une technique immuno-enzymatique reposant sur la spécificité d'une réaction antigène-anticorps et sur la révélation de celle-ci par l'action d'une enzyme sur son substrat.

Du TNF α est fixé au fond des puits d'une microplaque où se déroule la réaction. On ajoute le sérum du patient préalablement dilué et dans lequel se trouve le médicament à doser. Après un temps d'incubation, pendant lequel la liaison TNF α -IFX se produit, on réalise un lavage pour éliminer tout anticorps non fixé. Le conjugué, un anticorps spécifique de l'IFX couplé à de la peroxydase de raifort, est ensuite ajouté. Un sandwich antigène-anticorps constitué de TNF α , d'IFX et d'anticorps anti-IFX se forme lorsque du médicament est présent. On effectue une nouvelle incubation suivie d'un lavage avant d'ajouter le substrat de l'enzyme (peroxyde d'hydrogène) et, après quelques minutes, la solution stop permet l'arrêt de la réaction enzymatique. L'action de l'enzyme sur son substrat colore le milieu de réaction en bleu qui devient ensuite jaune sous l'action de la solution stop.

Le résultat est déterminé par une mesure de l'absorbance du milieu de réaction final par spectrophotométrie, l'intensité de la coloration croît avec la concentration en IFX. Six calibrants de concentration en IFX connue et croissante sont passés en début de chaque série, les résultats de densité optique obtenus pour ces calibrants permettent de tracer une courbe de calibration représentant la densité optique en fonction de la concentration. Les résultats patients obtenus sont rapportés sur cette courbe ce qui permet d'en déduire leur concentration en IFX.

Le dosage de l'IFX résiduel est réalisé sur sérum obtenu après centrifugation d'un prélèvement de sang réalisé sur tube sec juste avant une nouvelle perfusion chez le patient. A leur réception les échantillons sont aliquotés puis congelés à -20°C en attendant d'être dosés. Chaque sérum est dosé à 2 dilutions différentes (RIDASCREEN® IFX Monitoring, laboratoire RBiopharm, Darmstadt, Allemagne) au 1/100^{ème} et au 1/400^{ème}, ce qui permet à la fois d'élargir la gamme de mesure et de confirmer le premier résultat obtenu.

La gamme de mesure s'étend de 0,5 à 12 µg/ml, élargie jusqu'à 48 µg/ml avec la dilution au 1/400^{ème}.

b. Test « rapide »

Il se présente sous la forme d'un test unitaire reposant sur le principe de l'immunochromatographie. Le sérum est dilué au 1/50^{ème} et incubé 5 minutes avec les réactifs (RIDA®QUICK IFX Monitoring, laboratoire RBiopharm, Darmstadt, Allemagne) puis est déposé dans une cassette à usage unique. Le mélange va migrer le long d'une bandelette jusqu'au site où la révélation s'effectue. L'IFX est

déecté par la formation d'un sandwich antigène-anticorps constitué de TNF α , d'IFX et d'un anticorps anti-IFX qui est identique à celui utilisé dans la méthode ELISA. La réaction est rendue visible par le biais de nanoparticules d'or colloïdal. Le signal généré est lu à l'aide d'un scanner dédié et la concentration d'IFX, proportionnelle à l'intensité de la bande réactive, est calculée à l'aide de courbes de calibration intégrées dans l'instrument.

La technique « rapide » mesure la concentration dans la même unité que le test ELISA, la gamme de mesure s'étend de 0,5 à 10 $\mu\text{g/ml}$ et peut être élargie jusqu'à 40 $\mu\text{g/ml}$ par l'ajout d'une étape de dilution au $\frac{1}{4}$ supplémentaire de l'échantillon (pour une dilution finale au 1/200^{ème}).

Pour chaque patient inclus, le test « rapide » a été réalisé à la suite du test ELISA, le même jour et sur le même aliquot.

4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS® (SAS Institute version 9.4, Cary, NC, USA).

Les paramètres qualitatifs sont décrits par les effectifs et pourcentages. Les paramètres quantitatifs sont exprimés en médiane (minimum-maximum).

La variable principale d'intérêt étudiée, la variation du taux mesuré par dosage ELISA, a été calculée en soustrayant la valeur du dosage à la première visite (V1), à chacune des valeurs des dosages des visites ultérieures (V2 et V3). Toutes les

données disponibles sur la base de données et le suivi des patients ont été utilisées sans imputation pour les éventuelles données manquantes.

Pour évaluer la stabilité des variations de taux résiduels, celles-ci ont été comparées à la valeur nulle à l'aide d'un test non paramétrique de Wilcoxon après conversion en valeurs absolues.

Dans un deuxième temps, l'étude de la variable d'intérêt et la recherche de facteurs associés à cette variation du taux ont été réalisées par la construction de modèles mixtes en données répétées (*mixed models of repeated measurements*, MMRM) par l'intermédiaire de la PROC MIXED dans SAS®. Les données répétées étaient prises en charge par l'intermédiaire d'un REPEATED *statement*, en utilisant une structure de covariance de type « *variance components* ». Les modèles construits étaient systématiquement ajustés (i) sur le taux de base en dosage ELISA (mesuré à la V1), (ii) la posologie (dose injectée/kg/semaine) et (iii) la durée de l'optimisation (inclus par l'intermédiaire du RANDOM *statement* de la PROC MIXED).

Après réalisation systématique d'analyses univariées avec contrôle de la linéarité de la relation pour les variables quantitatives, un modèle multivarié a été construit à partir des variables ayant une p-value < 0,20 en univarié. Si nécessaire, les variables explicatives étaient incluses par l'intermédiaire d'un modèle linéaire par morceaux. La présence d'interaction était systématiquement recherchée, en laissant dans le modèle les variables indépendantes lorsqu'une interaction était introduite. L'absence d'*outliers* et/ou de points influents était vérifiée par analyse des résidus studentisés et de la distance de Cook. La présence d'une collinéarité était systématiquement exclue par calcul du *Variance Inflation Factor*. Aucune transformation de la variable-réponse n'était nécessaire.

La comparaison entre la technique ELISA et le test « rapide », ainsi que toutes les représentations graphiques, étaient réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). La corrélation entre les deux méthodes a été étudiée par régression linéaire simple et calcul du coefficient de Pearson après vérification des hypothèses sous-jacentes. Le biais moyen (intervalle de confiance à 95 %) entre les kits et les limites d'agrément ont été étudiés par la construction de diagrammes des différences (différence brute et différence exprimée en pourcentage de la moyenne des deux mesures) selon Bland et Altman ⁽³⁶⁾. Les éventuelles observations aberrantes (*outliers*) mises en évidence ont été exclues de l'analyse.

Pour l'ensemble des tests statistiques réalisés, le niveau de significativité était fixé à 5 %.

RESULTATS

1. Population de l'étude

Sur la période du 1^{er} novembre 2019 au 31 juillet 2020, 1066 demandes de dosages d'IFX ont été adressées au laboratoire d'immunologie du CHU de Lille pour un total de 708 patients. Ces demandes provenaient d'établissements extérieurs ou de services autres que l'Hôpital de Jour (HdJ) des Maladies de l'Appareil Digestif dans 794 cas. Parmi les prescriptions restantes, 86 étaient demandées pour 30 patients répondant aux critères d'inclusion.

30 patients étaient donc initialement inclus. Parmi ces 30 patients, 24 ont eu au moins 3 dosages réalisés sur la période, 5 en ont eu 2 et 1 n'a eu qu'un seul dosage. Les résultats de dosage au-delà du troisième n'ont pas été étudiés car trop peu nombreux.

Deux patients étaient exclus des analyses statistiques, celui n'ayant bénéficié que d'un seul dosage et un autre ayant reçu l'IFX à une posologie modifiée au cours du suivi (Figure 3).

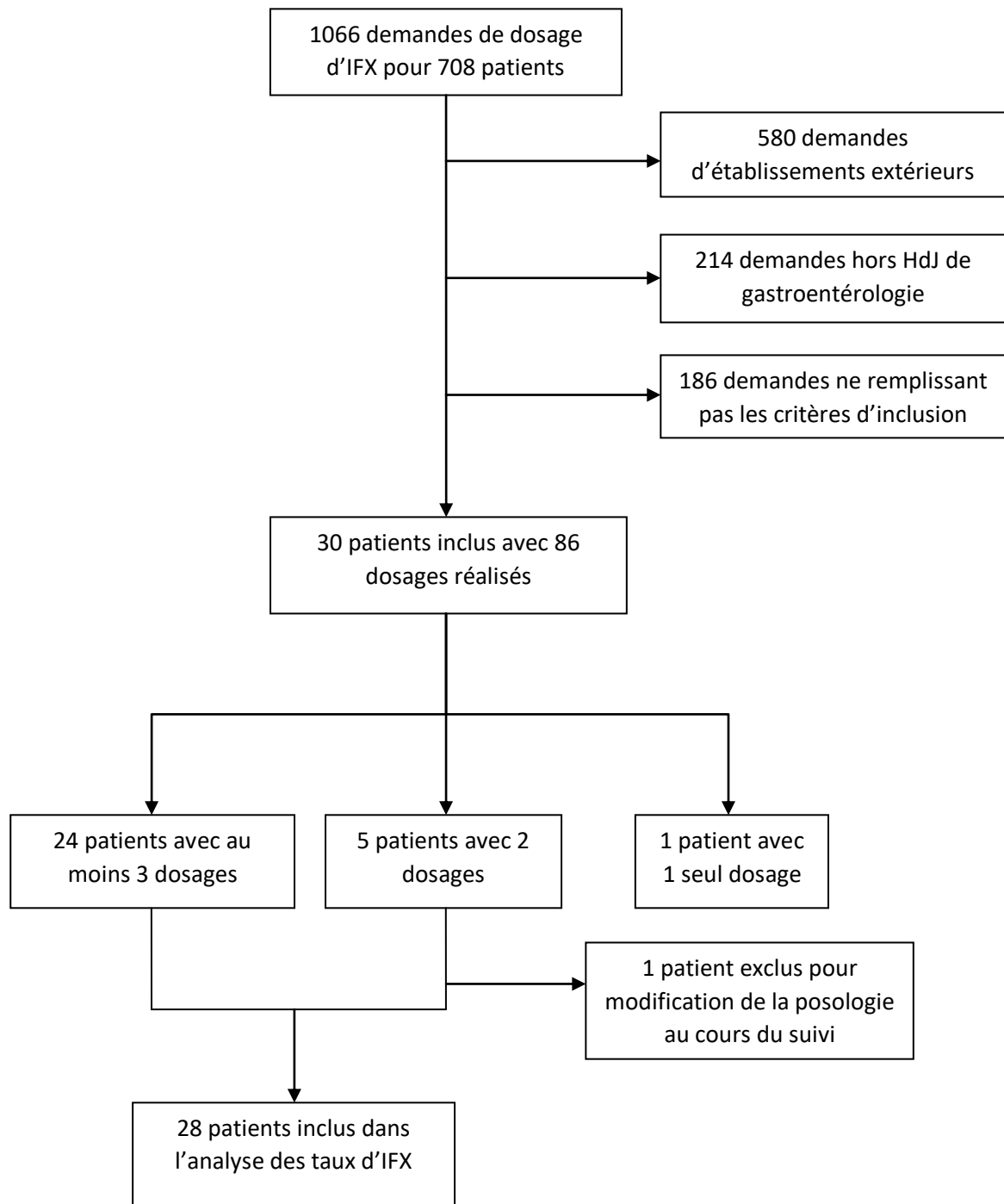


Figure 3: Diagramme de flux

Les caractéristiques générales de la population sont décrites dans le Tableau 1. Parmi les 28 patients étudiés 12 (42,9 %) étaient des femmes, 22 (78,6 %) souffraient d'une maladie de Crohn et 6 (21,4 %) d'une RCH. Treize des patients suivis pour une MC (59,1 %) présentaient une maladie de localisation iléale, 3 (13,6 %) de localisation colique et 6 (27,3 %) iléo-colique, elle était fistulisante chez 7 patients (31,8 %), sténosante chez 5 patients (22,7 %) et non sténosante et non fistulisante dans le reste des cas (45,5 %). Une atteinte ano-périnéale était associée chez 5 patients (22,7 %). Parmi les patients suivis pour une RCH, un tiers présentait une extension de type proctite, un tiers une extension colique gauche et un tiers présentaient une colite étendue. L'âge médian à l'inclusion était de 35,5 ans pour un âge médian au diagnostic de 23,5 ans et une durée médiane depuis le diagnostic de 95 mois, soit 7,9 ans. La médiane du score clinique à l'inclusion était de 2 pour l'indice de Harvey-Bradshaw (patients suivis pour une MC) et de 0 pour le score partiel de la Mayo Clinic (patients suivis pour une RCH). La CRP médiane à l'inclusion était de 2 mg/l. Sept patients (25 %) étaient également suivis pour des manifestations extra-digestives. Une consommation tabagique à l'inclusion était relevée pour 11 patients (40,7 %), le statut tabagique n'était pas connu pour 1 patient. Enfin, 11 patients (39,3 %) avaient nécessité une prise en charge chirurgicale en lien avec leur maladie au moins une fois au cours de son évolution. Les patients ayant bénéficié de 3 dosages sur la période de l'étude ont été suivis une médiane de 110,5 jours et ceux n'ayant eu que 2 dosage une médiane de 56 jours.

Les caractéristiques liées au traitement des patients sont exposées dans le Tableau 2. L'IFX était administré à une posologie optimisée pour tous les patients : 10 mg/kg toutes les 8 semaines chez 15 patients (53,6 %), toutes les 7 semaines chez 3 patients (10,7 %), toutes les 6 semaines chez 7 patients (25,0 %) et toutes les 4

semaines chez 3 patients (10,7 %). La durée médiane de traitement était de 41 mois et la durée médiane depuis l'optimisation était de 9,5 mois. Un patient avait été optimisé pour absence de réponse primaire, 15 pour une rechute clinique, 7 pour une persistance ou aggravations des signes à l'endoscopie ou à l'imagerie sans symptômes et 4 pour un autre motif (manifestations articulaires, psoriasis associé mal contrôlé ou taux bas isolés d'IFX), le motif d'optimisation n'était pas connu pour 1 patient. Aucun patient n'était sous corticothérapie à l'inclusion mais 19 (67,9 %) en avaient déjà bénéficié au cours de l'évolution de leur maladie. Un immunosuppresseur était associé à la biothérapie dans 13 (46,4 %) cas à l'inclusion, avec une durée médiane sous immunosuppresseur de 10 mois, et dans 22 (78,6 %) cas à l'induction du traitement par IFX. Les patients avaient bénéficié au préalable d'une biothérapie anti-TNF α avant la mise sous IFX dans 10 (35,7 %) cas (dans 8 cas de l'adalimumab, 1 cas de l'éta nercept et 1 cas éta nercept et adalimumab).

Tableau 1: Caractéristiques générales des patients à l'inclusion

| Variable | | N=28 | |
|-----------------------------------|---------------------------|-------------------|----------------|
| Sexe | | | |
| | <i>Femme</i> | N (%) | 12 (42,9) |
| | <i>Homme</i> | N (%) | 16 (57,1) |
| Age (années) | | Médiane (min-max) | 35,5 (20-71) |
| Age au diagnostic (années) | | Médiane (min-max) | 23,5 (13-61) |
| Tabagisme | | N (%) | 11 (40,7) |
| | <i>Données manquantes</i> | N | 1 |
| Durée de la maladie (mois) | | Médiane (min-max) | 95 (14-342) |
| Pathologie | | | |
| Maladie de Crohn | | N (%) | 22 (78,6) |
| Localisation | <i>iléale</i> | N (%) | 13 (59,1) |
| | <i>colique</i> | N (%) | 3 (13,6) |
| | <i>iléo-colique</i> | N (%) | 6 (27,3) |
| Phénotype | <i>inflammatoire</i> | N (%) | 10 (45,5) |
| | <i>sténosant</i> | N (%) | 5 (22,7) |
| | <i>fistulisant</i> | N (%) | 7 (31,8) |
| Atteinte périnéale | | N (%) | 5 (22,7) |
| Harvey-Bradshaw | | médiane (min-max) | 2 (1-4) |
| RCH | | N (%) | 6 (21,4) |
| Extension | <i>proctite</i> | N (%) | 2 (33,3) |
| | <i>colite gauche</i> | N (%) | 2 (33,3) |
| | <i>colite étendue</i> | N (%) | 2 (33,3) |
| Mayo partiel | | Médiane (min-max) | 0 (0-0) |
| Symptômes extra-digestifs | | N (%) | 7 (25) |
| Antécédent chirurgical | | N (%) | 11 (39,3) |
| CRP (mg/l) | | Médiane (min-max) | 2 (0,1-26) |
| Durée de suivi (jours) | 3 dosages | Médiane (min-max) | 110,5 (64-217) |
| | 2 dosages | Médiane (min-max) | 56 (28-104) |

Tableau 2: Caractéristiques liées au traitement

| Variable | Unité | N=28 |
|--|-------------------|-------------|
| Posologie | | |
| 10 mg/kg/4 sem | N (%) | 3 (10,7) |
| 10 mg/kg/6 sem | N (%) | 7 (25,0) |
| 10 mg/kg/7 sem | N (%) | 3 (10,7) |
| 10 mg/kg/8 sem | N (%) | 15 (53,6) |
| Durée du traitement (mois) | Médiane (min-max) | 41 (4-151) |
| <i>Données manquantes</i> | N | 1 |
| Durée d'optimisation (mois) | Médiane (min-max) | 9,5 (0-60) |
| Motif d'optimisation | | |
| <i>Absence de réponse primaire</i> | N (%) | 1 (3,6) |
| <i>Rechute clinique</i> | N (%) | 15 (53,6) |
| <i>Rechute endoscopique ou iconographique</i> | N (%) | 7 (25) |
| <i>Autre</i> | N (%) | 4 (14,3) |
| <i>Données manquantes</i> | N | 1 |
| Immunosuppresseur à l'induction | N (%) | 22 (78,6) |
| Immunosuppresseur à l'inclusion | N (%) | 13 (46,4) |
| Durée sous immunosuppresseur (mois) | Médiane (min-max) | 10 (2-114) |
| Traitement préalable par un autre anti-TNFα | N (%) | 10 (35,7) |
| Corticothérapie systémique au cours de la maladie | N (%) | 19 (67,9) |

2. Etude des taux d'IFX

a. Résultats des dosages

Les résultats de 80 dosages d'IFX par technique ELISA ont été récupérés, leur répartition selon la posologie est présentée sur la Figure 4, les seuils thérapeutiques de 3 à 7 $\mu\text{g/ml}$ recommandés par l'étude TAXIT (28) et le seuil de 5 $\mu\text{g/ml}$ recommandé par l'*American Gastroenterological Association* (29) sont également

indiqués. Le taux médian d'IFX lors du premier dosage en technique ELISA était de 4,9 µg/ml (n=28) avec des taux mesurés allant de 1,7 µg/ml à 14,5 µg/ml, celui du deuxième dosage était de 6,6 µg/ml (n=28), les taux allant de 1,9 µg/ml à 15,4 µg/ml et celui du dernier dosage était de 6,0 µg/ml (n=24) avec des taux mesurés entre 2,6 µg/ml et 20,1 µg/ml (Tableau 3). Les taux résiduels étaient inférieurs au seuil de 5 µg/ml recommandé par l'AGA chez 15 (53,6 %), 10 (35,7 %) et 10 (35,7 %) patients, pour les dosages 1, 2 et 3 respectivement. Ils étaient en dehors des bornes recommandées par l'étude TAXIT chez 14 (50 %), 17 (60,7 %) et 15 (53,6 %) patients pour les dosages 1, 2 et 3 respectivement.

L'évolution des taux d'IFX pour chaque patient au cours des différents dosages est présentée dans la Figure 5.

Aucune recherche d'anticorps anti-IFX n'a été réalisée, aucun taux mesuré ne descendant en dessous de 1 µg/ml, seuil en dessous duquel la recherche d'immunisation est effectuée dans notre laboratoire.

Tableau 3: Résultats des dosages par technique ELISA

| | | ELISA |
|-------------------------|-----------------------|-------------------|
| | | Médiane (min-max) |
| Dosage 1 (µg/ml) | 10 mg/kg/4 sem (n=3) | 8,7 (7,2-11,5) |
| | 10 mg/kg/6 sem (n=7) | 3,8 (2,3-8,0) |
| | 10 mg/kg/7 sem (n=3) | 4,8 (3,7-11,9) |
| | 10 mg/kg/8 sem (n=15) | 4,9 (1,7-14,5) |
| | Total (n=28) | 4,9 (1,7-14,5) |
| Dosage 2 (µg/ml) | 10 mg/kg/4 sem (n=3) | 11,7 (11,3-15,4) |
| | 10 mg/kg/6 sem (n=7) | 6,2 (1,9-9,5) |
| | 10 mg/kg/7 sem (n=3) | 4,6 (4,5-10,2) |
| | 10 mg/kg/8 sem (n=15) | 6,3 (2-14,8) |
| | Total (n=28) | 6,6 (1,9-15,4) |
| Dosage 3 (µg/ml) | 10 mg/kg/4 sem (n=2) | 12,2 (4,2-20,1) |
| | 10 mg/kg/6 sem (n=7) | 5,4 (2,7-12,9) |
| | 10 mg/kg/7 sem (n=2) | 6,7 (4,2-9,1) |
| | 10 mg/kg/8 sem (n=13) | 6,5 (2,6-14,3) |
| | Total (n=24) | 6 (2,6-20,1) |

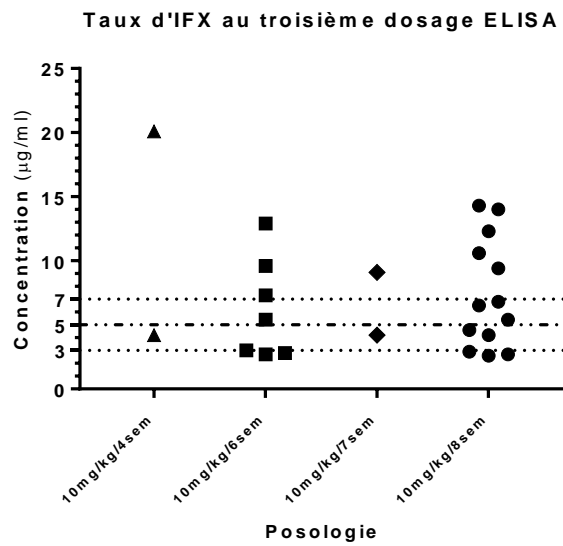
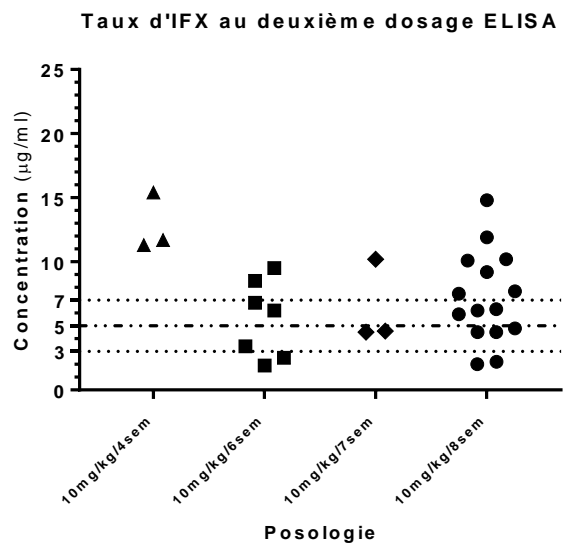
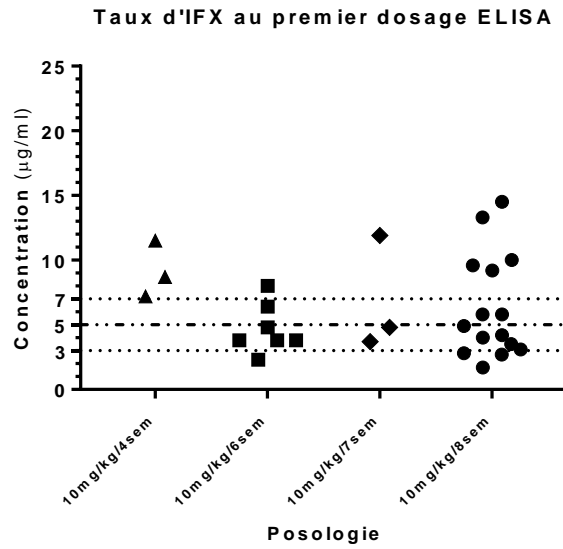


Figure 4 : Taux d'IFX à chaque dosage obtenus par technique ELISA et présentés selon la posologie administrée

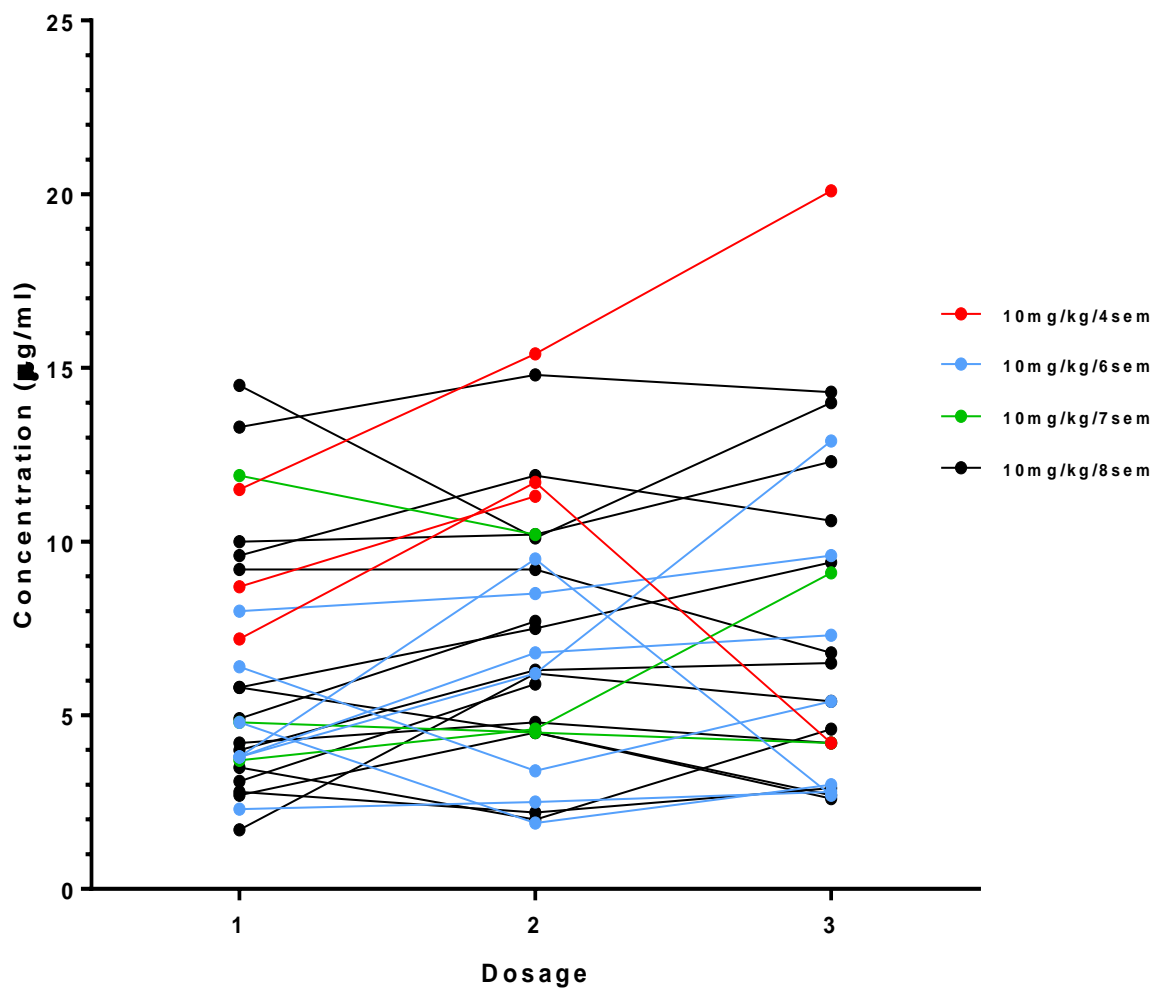


Figure 5 : Evolution des taux d'IFX au cours des dosages selon la posologie administrée

b. Etude de la stabilité des taux d'IFX

Nous avons calculé les différences de taux résiduels entre le résultat obtenu à la visite 2 ou la visite 3 et le résultat obtenu lors du premier dosage de l'étude. Ces différences ont ensuite été comparées à la valeur nulle. La médiane des différences entre le deuxième et le premier dosage était de 2,05 µg/ml (IQR : 0,68-2,98), et de 1,70 µg/ml (IQR : 0,70-3,40) entre le troisième et le premier dosage (Figure 6). En moyenne les différences calculées par rapport aux taux de base étaient significativement différentes de la valeur nulle pour chacun des deux dosages ($p < 0,001$).

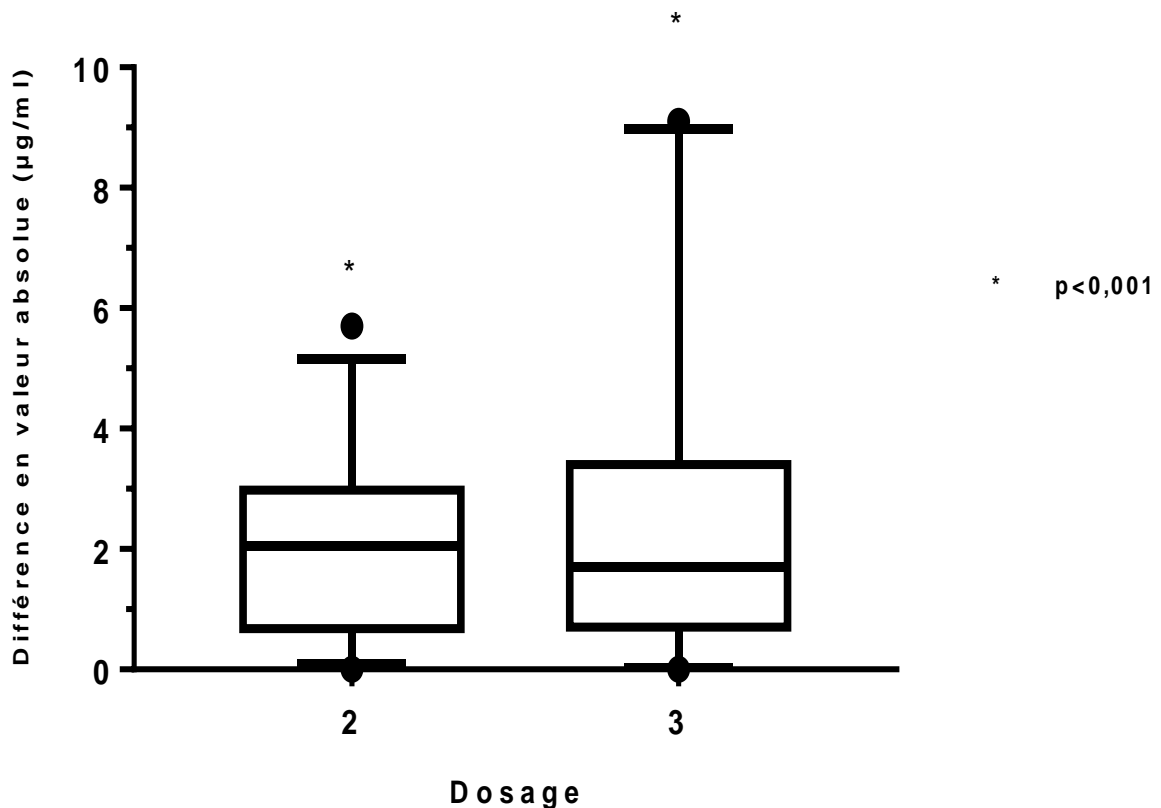


Figure 6: Différence entre les taux d'IFX aux dosages 2 et 3 et les taux de base (dosage 1)

Les bords supérieurs et inférieurs des diagrammes en boîtes symbolisent les 1^{er} et 3^{ème} quartile des différences, 95 % des valeurs sont situées entre les limites des « moustaches », les outliers sont représentés par des points indépendants

c. Paramètres associés à une variation des taux d'IFX

En analyse univariée, une variation de l'état clinique au cours de l'étude était associée à une augmentation des taux d'IFX (+3,05 µg/ml (IC95 % : [0,79; 5,31], p=0,010) pour le passage à une maladie active selon le score clinique). Un traitement par immunosuppresseur au moment du dosage était également associé à une augmentation des taux d'IFX (+1,86 µg/ml (IC95% : [0,17; 3,55], p=0,032)). A l'inverse, un allongement du délai théorique entre les deux injections était associé à une diminution des taux d'IFX (-0.13 µg/ml (IC95 % : [-0,21; -0,05], p=0,001) pour une augmentation de 1 % du délai théorique entre 2 injections). Parmi le sous-groupe de patients atteints d'une MC, la présence d'une atteinte périnéale était associée à une augmentation des taux (+2,57 µg/ml (IC95 % : [0,41; 4,73], p=0,022)). Les autres paramètres étudiés sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4: Analyse univariée (en gras: variables significatives au risque de 0.05 %)

| Variable | IC 95 % | | | Pr > t |
|---|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | Estimation | Inférieur | Supérieur | |
| sexe (F vs H) | 0,67 | -1,05 | 2,39 | 0,429 |
| Age | -0,01 | -0,09 | 0,07 | 0,828 |
| Age au diagnostic | -0,02 | -0,10 | 0,06 | 0,630 |
| Poids | -0,03 | -0,09 | 0,04 | 0,380 |
| Tabagisme | 0,05 | -1,88 | 1,99 | 0,955 |
| Durée de la maladie | 0,00 | -0,01 | 0,01 | 0,713 |
| Pathologie | 0,55 | -1,52 | 2,62 | 0,589 |
| Localisation de la MC* | | | | 0,343 |
| Phénotype de la MC* | | | | 0,211 |
| Atteinte périnéale* | 2,57 | 0,41 | 4,73 | 0,022 |
| Harvey-Bradshaw* | 0,40 | -0,02 | 0,82 | 0,061 |
| Extension de la RCH [†] | | | | 0,811 |
| Mayo partiel [†] | non estimable | | | |
| Variation clinique | 3,05 | 0,79 | 5,31 | 0,010 |
| Symptômes extra-digestifs | 1,25 | -0,82 | 3,31 | 0,227 |
| Antécédent chirurgical | 1,19 | -0,46 | 2,84 | 0,151 |
| CRP | -0,02 | -0,24 | 0,19 | 0,817 |
| Albuminémie | 0,39 | -0,12 | 0,90 | 0,130 |
| Posologie | | | | 0,150 |
| Pourcentage du délai interdose théorique | -0,13 | -0,21 | -0,05 | 0,001 |
| Durée du traitement | 0,00 | -0,02 | 0,02 | 0,967 |
| Motif d'optimisation | | | | 0,217 |
| Immunosuppresseur | 1,86 | 0,17 | 3,55 | 0,032 |
| Immunosuppresseur à l'induction | 0,00 | -2,03 | 2,03 | 0,999 |
| Durée sous immunosuppresseur | -0,01 | -0,06 | 0,04 | 0,655 |
| Traitement préalable par un autre anti-TNF α | 0,93 | -1,02 | 2,88 | 0,335 |
| Corticothérapie systémique au cours de la maladie | -0,70 | -2,49 | 1,10 | 0,433 |

* Dans le sous-groupe MC

mixed models of repeated measurements

† Dans le sous-groupe RCH

En analyse multivariée, un allongement du délai théorique entre 2 injections était significativement associé à une baisse des taux d'IFX (diminution du taux de -0,13 µg/ml (IC95 % : [-0,20; -0,06], p<0,001) pour une augmentation de 1 % du délai théorique entre deux injections). Un traitement concomitant par immunosuppresseur demeurait significativement associé à une augmentation des taux d'IFX (+1,95 µg/ml (IC95 % : [0,50; 3,40], p=0,010)) (Tableau 5).

Tableau 5: Analyse multivariée (en gras: variables significatives au risque de 0.05 %)

| Variable | Estimation | IC 95 % | | Pr > t |
|---|--------------|--------------|--------------|------------------|
| | | Inférieur | Supérieur | |
| Dosage de base | -0,28 | -0,50 | -0,07 | 0,010 |
| Dose/kg/sem | 2,61 | 0,80 | 4,42 | 0,006 |
| Durée d'optimisation | 0,01 | -0,03 | 0,05 | 0,674 |
| Immunosuppresseur | 1,95 | 0,50 | 3,40 | 0,010 |
| Pourcentage du délai interdose théorique | -0,13 | -0,20 | -0,06 | <0,001 |

mixed models of repeated measurements

Au regard de ces résultats, nous avons choisi de présenter la variation des taux d'IFX à la V2 et la V3 telle qu'estimée par le modèle multivarié, en fonction du statut de traitement par immunosuppresseur (LSMEANS statement dans SAS®). En tenant compte des effets moyens du taux de base, de la posologie administrée, de la durée d'optimisation, et de la variation du délai interdose (Tableau 6), le groupe de patients traités par immunosuppresseur associé à l'IFX présentait une variation moyenne des taux résiduels d'IFX estimée à +1,70 µg/ml (IC95 % : [0,51; 2,90], p=0,006) entre le premier et le deuxième prélèvement, et +3,11 µg/ml (IC95 % : [1,69; 4,53], p<0,001) entre le premier et le troisième prélèvement. Le groupe de patients sans traitement immunosuppresseur adjuvant présentait quant à lui des variations moyennes des taux résiduels non significatives estimée à +0,18 µg/ml (IC95 % : [-0,87; 1,23],

p=0,729) entre les deux premiers prélèvements et +0,45 µg/ml (IC95 % : [-0,68; 1,59], p=0,424) entre le premier et le troisième prélèvement (Tableau 6, Figure 7).

Tableau 6: Variation des taux d'IFX en fonction du traitement par immunosuppresseur avec ajustement sur les effets moyens du taux de base, de la posologie administrée, de la durée d'optimisation, et de la variation du délai interdose (en gras: variables significatives au risque de 0.05 %)

| visite | immunosuppresseur | Estimation | IC95% | Pr > t | |
|----------|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 2 | oui | 1,70 | 0,51 | 2,90 | 0,006 |
| 2 | non | 0,18 | -0,87 | 1,23 | 0,729 |
| 3 | oui | 3,11 | 1,69 | 4,53 | <0,001 |
| 3 | non | 0,45 | -0,68 | 1,59 | 0,424 |

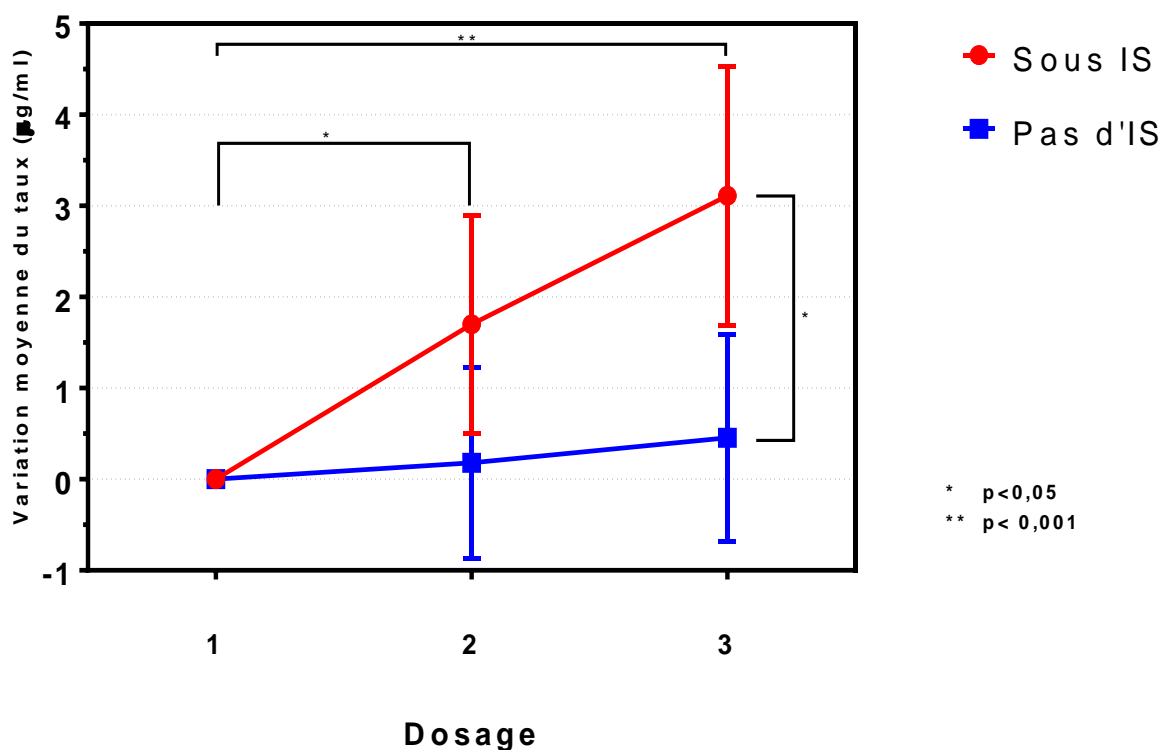


Figure 7: Variation des taux d'IFX en fonction de la présence ou non d'un immunosuppresseur associé (cf. Tableau 6).

Au total, les variations de taux résiduels d'IFX entre les groupes avec et sans immunosuppresseur associé n'étaient pas significativement différentes à la V2 ($p=0,067$), mais l'étaient à la V3 ($p=0,007$).

L'atteinte périnéale étant un paramètre uniquement présent dans le sous-groupe de patients atteints de MC, elle ne pouvait être étudiée avec le modèle multivarié.

3. Comparaison entre la technique ELISA et la technique « rapide »

Le test « rapide » immunochromatographique a été réalisé pour 80 dosages d'IFX. Trois *outliers* ont été exclues des analyses. La répartition des taux selon la posologie est présentée dans la Figure 8, les seuils thérapeutiques recommandés par l'étude TAXIT et l'AGA sont également indiqués à titre indicatif. Le taux médian d'IFX pour le premier dosage était de 6,3 $\mu\text{g/ml}$ (de 2,3 à 17,0 $\mu\text{g/ml}$), celui du deuxième dosage de 11,8 $\mu\text{g/ml}$ (de 2,6 à 17,7 $\mu\text{g/ml}$) et celui du dernier dosage de 6,7 $\mu\text{g/ml}$ (de 4,3 à 19,3 $\mu\text{g/ml}$) (Tableau 7).

Tableau 7: Résultats des dosages par technique « rapide »

| | | Test « Rapide » |
|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| | | Médiane (min-max) |
| Dosage 1 (µg/ml) | 10 mg/kg/4 sem (n=3) | 12,9 (7,9-15,7) |
| | 10 mg/kg/6 sem (n=7) | 5,4 (3,8-9,9) |
| | 10 mg/kg/7 sem (n=3) | 9,1 (6,0-17,0) |
| | 10 mg/kg/8 sem (n=15) | 5,3 (2,3-16,7) |
| | Total (n=28) | 6,3 (2,3-17,0) |
| Dosage 2 (µg/ml) | 10 mg/kg/4 sem (n=3) | 17,4 (12-17,4) |
| | 10 mg/kg/6 sem (n=7) | 7,6 (2,6-15,6) |
| | 10 mg/kg/7 sem (n=2) | 9,5 (5,5-13,5) |
| | 10 mg/kg/8 sem (n=15) | 7,3 (2,8-17,7) |
| | Total (n=27) | 11,8 (2,6-17,7) |
| Dosage 3 (µg/ml) | 10 mg/kg/4 sem (n=1) | 5,9 |
| | 10 mg/kg/6 sem (n=7) | 6,9 (4,7-17,9) |
| | 10 mg/kg/7 sem (n=2) | 8,0 (5,2-10,7) |
| | 10 mg/kg/8 sem (n=12) | 7,7 (4,3-19,3) |
| | Total (n=22) | 6,7 (4,3-19,3) |

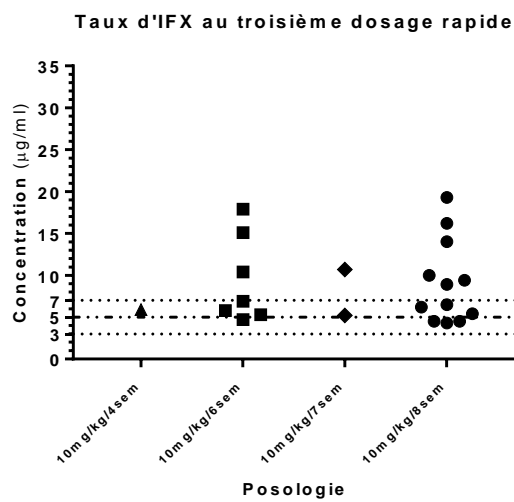
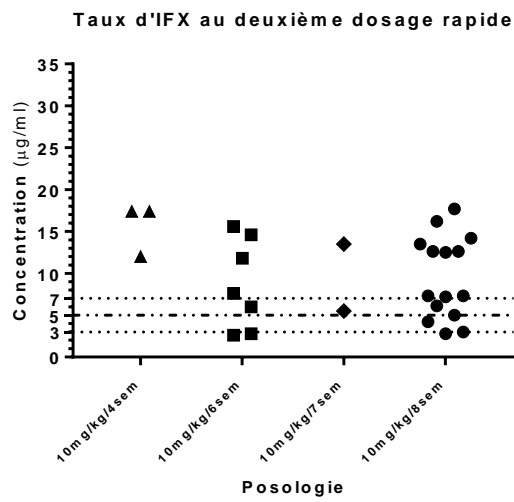
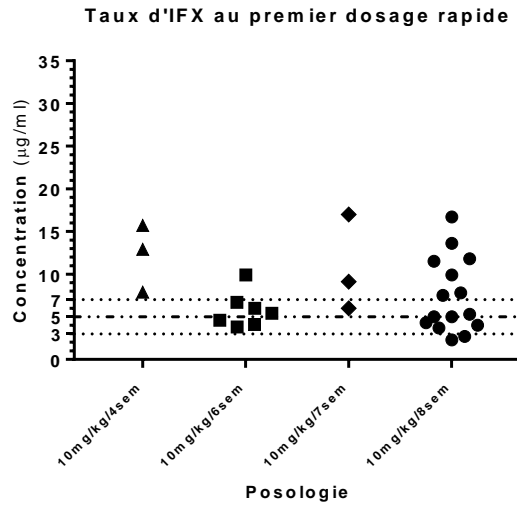


Figure 8: Taux d'IFX à chaque dosage obtenus par technique « rapide » et présentés selon la posologie administrée

L'étude de la corrélation entre les deux tests par régression linéaire mettait en évidence un coefficient de détermination $r^2 = 0,88$ (Figure 9) avec une droite de corrélation d'équation $Y = 1,19 \cdot X + 0,82 \mu\text{g/ml}$

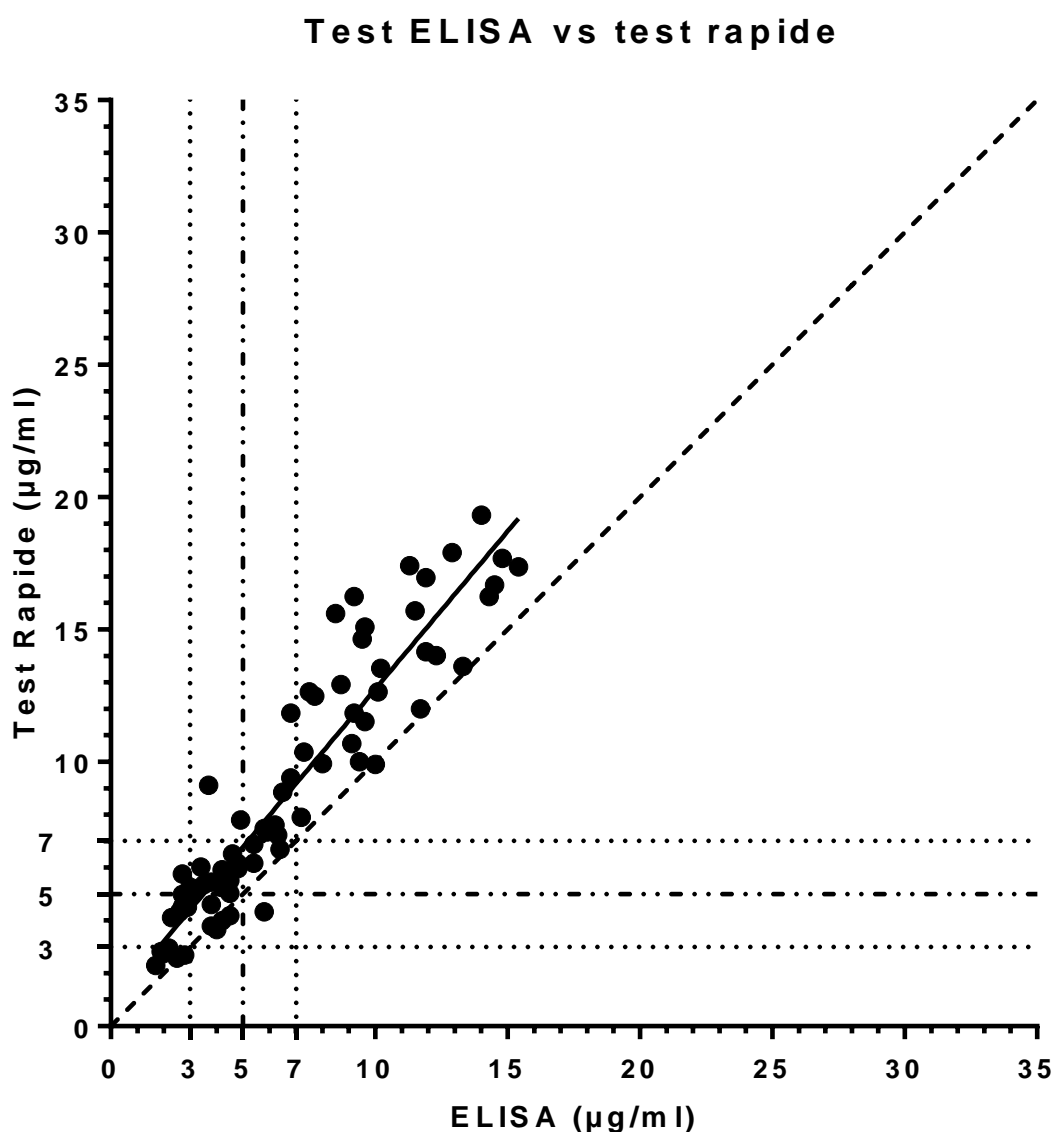


Figure 9: Corrélation entre le test ELISA et le test « rapide » (en pointillés: ligne d'identité)

Les diagrammes des différences réalisés selon la méthode de Bland et Altman sont présentés en Figure 10 pour les différences exprimées en valeurs brutes et en Figure 11 pour celles exprimées en pourcentages. Les différences brutes augmentaient avec la concentration en IFX à doser. Le biais moyen était de +2,1 µg/ml (IC95%: [1,7; 2,5]) avec des limites d'agrément allant de -1,4 µg/ml (IC95%: [-2,2; -0,7]) à +5,7 µg/ml (IC95%: [5,0; 6,4]). La droite de corrélation entre les différences brutes et la moyenne des taux d'IFX était d'équation $Y = 0,25 \cdot X + 0,17$ avec une pente significativement différente de 0 ($p < 0,001$). Les différences en pourcentage étaient de distribution normale, sans corrélation avec la moyenne des taux d'IFX ($p=0.70$). Le biais moyen en pourcentage était de +27,6 % (IC95%: [23,0; 32,2]) avec des limites d'agrément de -12,1 % (IC95%: [-20,1; -4,2]) à 67,3 % (IC95%: [59,3; 75,2]).

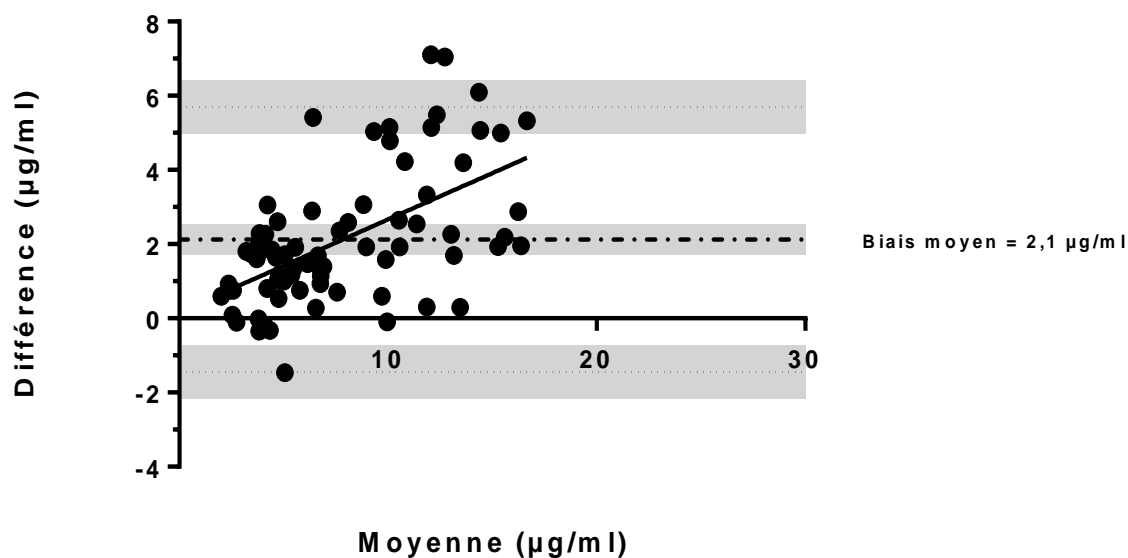


Figure 10 : Diagramme des différences en valeurs brutes

*Le trait continu représente la droite de corrélation ($Y = 0,25 \cdot X + 0,17$).
 Le biais moyen est symbolisé par les pointillés épais et les limites d'agrément par les pointillés fins.
 Les intervalles de confiance sont représentés par les zones grisées.*

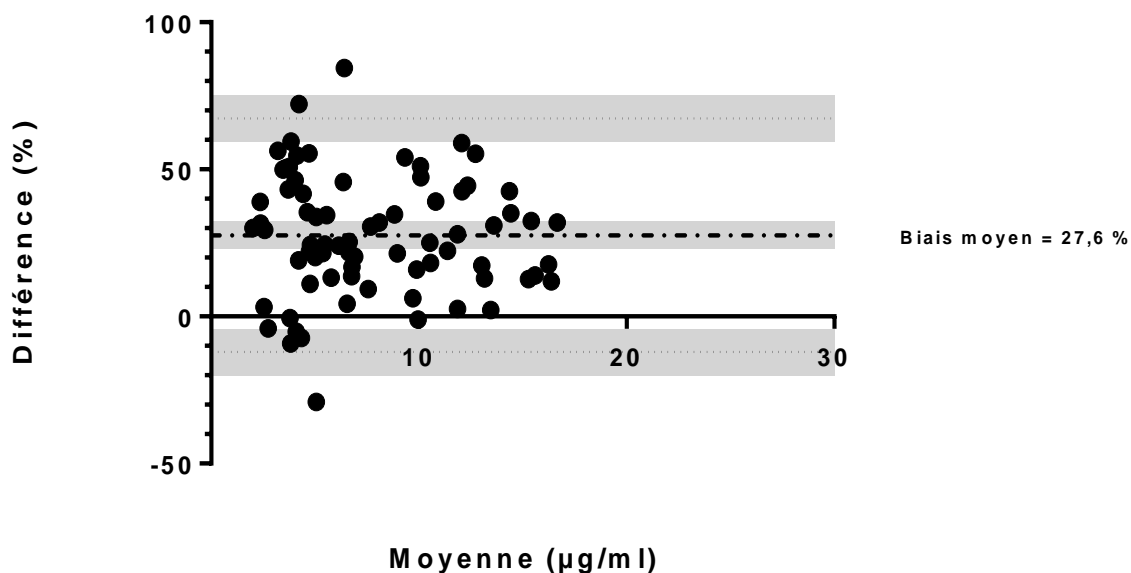


Figure 11 : Diagramme des différences en pourcentages

*Le biais moyen est symbolisé par les pointillés épais et les limites d'agrément par les pointillés fins.
 Les intervalles de confiance sont représentés par les zones grisées.*

DISCUSSION

Nous avons étudié la stabilité des taux résiduels d'infliximab chez des patients traités à une posologie optimisée inchangée au cours du suivi pour une maladie inflammatoire chronique de l'intestin en rémission au moment de l'inclusion dans l'étude et avons recherché si des facteurs influençaient une variation de ces taux.

La répartition des résultats de dosages selon la posologie montre une importante variabilité parmi des patients traités à une posologie équivalente avec, à titre d'exemple, des concentrations allant de 1,7 µg/ml à 14,5 µg/ml lors du premier dosage pour les patients traités à 10 mg/kg toutes les huit semaines. Ces résultats illustrent la grande variabilité interindividuelle qui a déjà été décrite à plusieurs reprises lors d'études concernant la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux (32,37,38). Les taux résiduels d'IFX ne semblent pas plus élevés dans un sous-groupe de posologie par rapport à un autre, le faible effectif de certains de ces sous-groupes ne permet cependant pas de conclure sur ce point.

La différence entre les taux résiduels d'infliximab du deuxième dosage et ceux du premier dosage ainsi que la différence entre les taux du troisième dosage et ceux du premier dosage sont significativement différentes de la valeur nulle. Ces résultats sont en faveur d'une absence de stabilité des taux résiduels d'IFX dans l'ensemble chez les patients de notre cohorte sur la période de temps où nous les avons suivis. Certains patients semblent cependant présenter des taux d'IFX qui ont peu varié au cours des dosages réalisés. Un des patients suivi a, par exemple, présenté des taux résiduels mesurés à 4,2 µg/ml, 4,8 µg/ml et 4,2 µg/ml sur une période de 4 mois

alors qu'un autre patient a présenté des taux résiduels mesurés à 1,7 µg/ml, 6,2 µg/ml et 5,4 µg/ml sur une période de temps similaire. Il y a donc une variabilité interindividuelle également en termes de stabilité, sans tenir compte de la variabilité de la méthode (CV à 10%). Ces résultats sont, de plus, le reflet d'une période brève de suivi de la maladie de ces patients ; la durée médiane du suivi dans notre étude, tous patients confondus, était de 105,5 jours avec un minimum de 28 jours et un maximum de 217 jours pour une médiane de durée de traitement par IFX de 41 mois (soit environ 1230 jours) et une médiane de durée depuis l'optimisation de 9,5 mois (soit environ 285 jours).

Notre étude met en évidence un lien significatif entre l'allongement du délai entre deux perfusions par rapport au délai théorique et une diminution des taux d'IFX. Cela peut avoir un impact assez significatif sur les taux mesurés en cas de décalage important de la perfusion, parfois jusqu'à une quinzaine de jours, ce qui peut arriver en cas de virose chez le patient.

Un lien entre le traitement par une combothérapie (immunosuppresseur associé à l'anticorps monoclonal) et des taux résiduels d'IFX plus élevés a été démontré par le passé (39,40). Nos résultats semblent mettre en évidence un lien entre recevoir une combothérapie au moment des dosages et une augmentation des taux d'IFX au cours du temps ; en effet, les patients de notre cohorte sous immunosuppresseur ont des taux d'IFX significativement plus élevés lors de leur deuxième visite par rapport à la première ce qui n'est pas le cas pour les patients sous IFX seul. Cette tendance se confirme lorsque l'on compare la troisième visite à la première. Pour explorer plus finement ce lien il serait intéressant de regarder les mesures suivantes des patients de notre cohorte afin de voir si cette augmentation est suivie d'une décroissance ou d'un plateau ; il est en effet peu vraisemblable que les taux d'IFX croissent

indéfiniment. La question d'un effet lié à la mise récente sous immunosuppresseur peut se poser car la moitié des patients sous immunosuppresseur au moment des dosages le sont depuis moins d'un an (la médiane est de 10 mois avec des durées allant de 2 à 114 mois), cependant on constate une croissance dans les taux d'IFX mesurés même chez des patients sous immunosuppresseur depuis plus de cinq ans sans modification récente de leur traitement. De plus il n'y avait pas d'association positive significative entre la variation du taux résiduel d'IFX et la durée sous IS au moment des dosages. En outre, quatre patients n'avaient que deux dosages à leur actif au moment de l'analyse des résultats ; parmi ceux-ci, trois étaient sous immunosuppresseur et un était traité par une monothérapie. Avoir un troisième point de mesure pour ces patients renforcerait le poids de ce résultat. D'autre part, alors que cela aurait pu être pressenti, il n'y a pas non plus d'association significative entre la variation des taux résiduels d'IFX et le délai depuis l'optimisation, alors que la moitié des patients était à moins d'un an de leur optimisation (la médiane est de 9,5 mois avec des durées allant de 3 semaines à 60 mois).

Lors de l'étude, un lien significatif était retrouvé par un modèle univarié entre l'aggravation de la symptomatologie et une augmentation des taux d'IFX au cours du temps ce qui semble contre intuitif. En effet une recrudescence des symptômes devrait en théorie s'accompagner d'une augmentation de l'inflammation digestive et donc de la charge antigénique ; une augmentation de la clairance du médicament serait donc attendue ⁽³²⁾. Aucune modification de la posologie n'a été effectuée chez les patients pour qui une aggravation des symptômes a été relevée, l'augmentation des concentrations n'est donc pas expliquée par un apport plus important du médicament. Cependant il faut noter que l'évaluation de l'activité de la maladie lors de notre étude est basée sur les résultats de scores cliniques utilisés en pratique

courante (indice de Harvey-Bradshaw (HBI) dans la MC et le score partiel de la Mayo Clinic (PMS) dans la RCH). Le HBI est d'utilisation facile dans la pratique quotidienne et est fortement corrélé au Crohn's Disease Activity Index ⁽⁴¹⁾, principal score utilisé pour classer l'activité de la maladie lors des études consacrées à la MC, mais il peut présenter des fluctuations importantes d'un jour à l'autre, est assez peu corrélé aux marqueurs biologiques et endoscopiques d'inflammation et est sujet à une surestimation de l'activité de la maladie en cas de symptomatologie fonctionnelle ⁽⁴²⁾. Des marqueurs d'activité biologique, endoscopique ou l'imagerie sont des outils supplémentaires qui auraient permis une évaluation plus complète de cette activité mais de tels résultats n'étaient que rarement disponibles durant le suivi de notre cohorte. C'est une des faiblesses de notre étude que de ne pas avoir pu nous intéresser à certains des principaux paramètres utiles au suivi des MICI ou de la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux. La calprotectine fécale, qui est le marqueur biologique de choix pour apprécier la présence d'une inflammation digestive ⁽⁴³⁾, n'a pas pu être prise en compte dans notre étude du fait de données manquantes trop importantes sur la période de suivi. Le taux d'albumine, qui est un facteur fortement associé à la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux thérapeutiques ⁽³²⁾ a été étudié mais un nombre de données manquantes important rend son interprétation difficile. Enfin les résultats d'endoscopie ou d'imagerie digestive étaient disparates entre les patients de notre cohorte, dans près d'un tiers des cas ils dataient de plus d'un an avant l'inclusion, et étaient parfois antérieurs à l'optimisation du traitement. Seule la CRP a pu être étudiée. Une élévation de la CRP au-delà de 5 mg/l était objectivée lors de 14 dosages pour un total de 9 patients, mais il n'était pas mis en évidence d'association significative avec une variation des taux résiduels d'IFX. Si l'on se penche sur les patients qui ont présenté une altération

clinique et donc une modification notable du score établi lors de leurs visites (n=4), on constate une diminution spontanée du score clinique et un retour à la normale lors de la venue suivante en hospitalisation de jour sans qu'aucune adaptation thérapeutique n'ait été nécessaire. La calprotectine fécale d'un des patients était dosée au moment de la perfusion où une augmentation de l'activité de sa maladie était relevée et celle-ci était normale (< 30 µg/g de selles). Un autre patient a pu bénéficier d'une imagerie quelques jours après une perfusion au cours de laquelle une reprise de l'activité de sa maladie était envisagée, celle-ci ne mettait pas en évidence de signes d'inflammation au niveau digestif. Ce lien statistique entre activité clinique de la maladie et augmentation des taux sériques d'IFX semble donc à interpréter avec prudence et à relativiser. Un suivi plus prolongé de ces quelques patients permettrait d'une part de conclure quant à une réelle poussée de leur maladie (symptômes prolongés, arguments supplémentaires en endoscopie ou à l'imagerie) ; les premiers éléments disponibles pour certains de ces patients allant plutôt à l'encontre de cette hypothèse ; et d'autre part, de vérifier si cette tendance se confirme ou s'infirme sur des points de mesure supplémentaires. Il est également à noter que l'analyse par un modèle multivarié ne retrouvait pas cette association, diminuant ainsi grandement son poids.

Aucune recherche d'anticorps anti-IFX n'a été réalisée durant notre étude. En effet le seuil en dessous duquel cette recherche est pertinente et déclenchée au sein de notre laboratoire est de 1 µg/ml et aucun des patients suivi n'est descendu à des taux inférieurs. Cette recherche n'est normalement pas réalisée en cas de taux détectables d'IFX car la majorité des techniques utilisées pour le dosage des anticorps anti-IFX, dont celle de notre laboratoire, ne sont pas capables de les détecter lorsque ceux-ci sont complexés à l'anticorps thérapeutique ⁽⁴⁴⁾, on parle de

techniques *drug-sensitive*. L'immunisation vis à vis de l'IFX est cependant un facteur majeur intervenant dans sa pharmacocinétique (31,32) et une des principales causes de perte d'effet au cours du maintien du traitement (31). Des techniques existent pour permettre de doser les anticorps anti-infliximab lorsque l'IFX est toujours détectable, à des concentrations plus ou moins élevées selon les techniques (45,46), mais l'apport des résultats obtenus dans la prise en charge des patients est encore flou (46). La question d'une immunisation non détectée par nos techniques actuelles qui serait concomitante d'une chute des taux d'IFX et précéderait une perte d'efficacité du traitement peut se poser. Kharlamova et al. ont en effet montré que l'utilisation de ces tests, dits *drug-tolerant*, permettait de détecter une immunisation plus précoce au cours du suivi de patients traités par IFX pour des rhumatismes inflammatoires chroniques (45). Van Stappen et al. concluaient quant à eux dans une analyse post-hoc de l'étude TAXIT que ces tests conduisaient surtout à détecter plus d'anticorps anti-IFX qui s'avéraient ne pas avoir d'impact clinique (46). Ces techniques n'ont, à l'heure actuelle, pas pu être testées sur notre cohorte de patients.

Le monitoring des taux résiduels d'IFX s'inscrit dans une démarche cherchant à adapter au mieux le traitement au profil de chaque patient. La démarche « réactive », c'est-à-dire utiliser le dosage pour aider à l'adaptation du traitement lors d'apparition de signaux en faveur d'une évolutivité de la maladie, a montré son intérêt par rapport à des adaptations basées empiriquement sur la clinique ; cependant de plus en plus de données se montrent en faveur d'une démarche « proactive » qui cherche à maintenir les taux résiduels d'IFX suffisamment élevés, et ce avant toute manifestation clinique, afin de garantir une efficacité continue du traitement (27,47). Au sein de notre cohorte, certains patients ont eu tout au long du suivi des taux résiduels considérés comme bas. Aucune adaptation thérapeutique n'a été réalisée

sur la période et aucun argument pour une évolutivité de leur maladie n'a été mis en évidence. Les limites de notre étude déjà évoquées plus haut, à savoir un effectif réduit de patients et une durée de suivi courte, ne permettent pas de savoir si le recours à une prise en charge « proactive », avec majoration de la posologie du traitement par IFX chez ces patients, leur aurait été bénéfique à long terme.

Le deuxième objectif de ce travail était de comparer la technique ELISA utilisée pour le dosage de l'IFX dans la pratique courante du laboratoire d'immunologie du CHU de Lille avec un test « rapide » immunochromatographique conçu par le même fournisseur. Un travail préliminaire avait déjà été réalisé au sein du laboratoire sur 18 prélèvements pour évaluer ce test « rapide » montrant une bonne corrélation entre les deux tests avec un r^2 à 0,75. Cependant ce travail réalisé sur moins de 20 dosages ne nous avait pas permis de nous intéresser à des taux résiduels d'IFX très importants et l'évaluation demeurait incomplète. Notre cohorte nous a permis de poursuivre cette évaluation sur un effectif plus important de dosages chez des patients dont les taux résiduels d'IFX étaient détectables et répartis sur une large plage de valeurs. Les deux tests sont bien corrélés avec un coefficient de détermination $r^2=0,88$, l'étude des différences par la méthode de Bland et Altman met en évidence un biais moyen de +2,1 $\mu\text{g/ml}$ en valeur brute rapportée à +27,6 % en pourcentage, traduisant une surestimation des résultats par le test « rapide » par rapport à la technique ELISA. Le diagramme des différences brutes montre un aspect croissant des différences alors que le diagramme des différences exprimées en pourcentages montre des résultats centrés autour de la valeur du biais moyen. Ces aspects sont en faveur d'un biais proportionnel, un résultat de dosage rendu par la technique ELISA est donc surestimé d'en moyenne +27,6 % par le test « rapide ». Notre résultat est confirmé dans la littérature par d'autres études comparant les tests

rapides d'autres fournisseurs aux ELISA standards ⁽⁴⁸⁾. Cette différence implique que le test « rapide » n'est pas interchangeable avec le test ELISA et servira plutôt à donner une idée générale des concentrations sériques en IFX. Il est a fortiori moins précis que le test ELISA pour plusieurs raisons, il ne peut pas être automatisé, sa réalisation est entièrement manuelle, il est donc sujet à une variabilité inter-opérateur. Cependant ce point est à relativiser par la formation des techniciens de laboratoire et la réalisation d'une habilitation avant de travailler en autonomie à la paillasse. De plus, lors de la technique ELISA, une courbe de calibration est réalisée à chaque série, associée au passage de contrôles de qualité permettant de s'assurer de la fiabilité des résultats et permettant ainsi de s'affranchir de la variabilité liée aux conditions environnementales. Lors du test « rapide », la courbe de calibration est incluse dans le lecteur et n'est donc pas accessible au biologiste ni refaite pour chaque test. De même si des contrôles de qualité existent il est difficilement envisageable de les réaliser à chaque utilisation de l'appareil. Cependant ce test « rapide » présente l'avantage de répondre au coup par coup alors que la technique ELISA exige la réalisation de séries. Ce type de test peut donc s'inscrire dans la stratégie thérapeutique des patients traités par infliximab dans les cas où le résultat du dosage est nécessaire rapidement pour aider à la prise de décision d'une adaptation de traitement. Bien qu'assez simple d'utilisation il y a cependant plusieurs facteurs qui compliquent leur mise à disposition au sein des unités de soin ou de consultation et ne permettent pas d'envisager une utilisation en biologie délocalisée à l'heure actuelle. Le test s'effectue sur du sérum, une étape de centrifugation est donc nécessaire avant sa réalisation, plusieurs étapes de dilution et pipetage sont également requises nécessitant le matériel adéquat (micropipettes, cônes) et une gestion de la métrologie des instruments utilisés. Si l'ensemble de ces contraintes

font partie du quotidien de l'activité d'un laboratoire de Biologie Médicale, les professionnels de santé travaillant dans les secteurs de soins n'y sont pas formés. La stratégie envisageable à l'heure actuelle serait donc de proposer sa réalisation par le laboratoire de façon ponctuelle dans certaines circonstances et de confirmer le résultat obtenu par la technique ELISA standard. En effet, le suivi d'un patient nécessite d'utiliser toujours la même technique. Cependant, comme mentionné plus haut, proposer le test « rapide » en routine face à une demande de résultat en urgence permettrait au laboratoire de s'affranchir de la réalisation d'une série, parfois incomplète, générant ainsi un coût de dosage plus élevé, et de façon rapprochée, bouleversant l'organisation prévue du laboratoire. Il permettrait aussi aux cliniciens de bénéficier d'un résultat dans les heures qui suivent le prélèvement. Le bénéfice clinique apporté par ce test « rapide » sera à évaluer au regard de la surestimation des taux d'IFX par rapport aux résultats rendus par la technique ELISA. Le principal risque serait qu'un résultat surestimé par le test « rapide » conduise à une diminution de la posologie du traitement par anti-TNF α pour un patient en réalité à des taux considérés comme acceptables par technique ELISA standard. Cela pourrait alors être responsable d'une perte d'efficacité du traitement. Etablir des seuils spécifiques à ces tests « rapides » pourrait donc s'avérer utile si leur usage venait à se démocratiser. En effet les seuils proposés jusqu'à présent lors de l'étude TAXIT ⁽²⁸⁾, ou plus récemment par l'AGA ⁽²⁹⁾ sont basés sur des résultats de dosages réalisés en ELISA.

Cette étude s'est initialement intéressée à la fois à l'infliximab et à l'adalimumab. L'étude des taux d'adalimumab n'a pas pu être exploitée faute de données suffisantes. En effet le traitement étant administré en sous-cutané, il est réalisé, lors de la phase d'entretien, au domicile du patient contrairement à l'infliximab qui

nécessite des hospitalisations courtes pour réaliser les perfusions. Les patients en rémission sont suivis par des consultations plus espacées que les perfusions d'infliximab, au minimum de 3 mois, parfois d'une année d'intervalle ce qui rendait difficile l'obtention de plusieurs points de mesure sur la période de notre étude. De plus, la situation sanitaire liée à la pandémie due au SARS-CoV2 a contraint les services à stopper toute consultation pendant plusieurs mois et souvent à les relayer par des téléconsultations, diminuant fortement la venue des patients à l'hôpital et donc les potentielles inclusions et la réalisation des dosages de suivi. Réaliser une étude similaire sur les taux d'adalimumab nécessiterait donc de prévoir une période de temps plus longue, se poserait également le problème du moment de la réalisation des dosages ; la venue des patients, et donc leur prélèvement, coïncidant rarement avec des taux résiduels. Cependant, le mode d'administration sous-cutané hebdomadaire ou bimensuel de l'adalimumab modifie sa cinétique par rapport à une administration intra-veineuse; les taux sériques d'adalimumab semblent relativement stables entre 2 injections ⁽⁴⁹⁾.

CONCLUSION

Après avoir inclus 30 patients nous avons étudié la variation des taux d'IFX sur deux à trois dosages réalisés au cours du suivi de 28 d'entre eux traités à une posologie optimisée pour une MICI en rémission à l'inclusion dans l'étude. Les taux d'IFX ne se sont pas révélés stables en médiane sur la période de suivi. Les principaux paramètres identifiés comme liés à cette variation des taux étaient un dépassement du délai théorique entre deux perfusions et un traitement immunosuppresseur associé à l'IFX au moment des dosages.

Nous avons également comparé une nouvelle technique « rapide » à la technique ELISA utilisée en routine dans notre laboratoire pour le dosage de l'IFX. Cette comparaison mettait en évidence un biais proportionnel entraînant une surestimation des résultats de 27,6 % en moyenne par le test « rapide » par rapport à la technique ELISA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Smith CA, Farrah T, Goodwin RG. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: Activation, costimulation, and death. *Cell*. 1994 Mar;76(6):959–62.
2. Vassalli P. The Pathophysiology of Tumor Necrosis Factors. *Annu Rev Immunol*. 1992 Apr;10(1):411–52.
3. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: Biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology*. 2000 Oct;119(4):1148–57.
4. Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, Moldawer LL. Anti-TNF-alpha therapies: the next generation. *Nat Rev Drug Discov*. 2003 Sep;2(9):736–46.
5. Bradley J. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008 Jan;214(2):149–60.
6. Yang S, Wang J, Brand DD, Zheng SG. Role of TNF–TNF Receptor 2 Signal in Regulatory T Cells and Its Therapeutic Implications. *Front Immunol*. 2018 Apr 19;9:784.
7. Chu W-M. Tumor necrosis factor. *Cancer Lett*. 2013 Jan;328(2):222–5.
8. Assurance maladie. (page consultée le 25/08/2020). Personnes prises en charge pour maladies inflammatoires chroniques intestinales en 2017. [PDF]. https://www.ameli.fr/fileadmin/user_upload/documents/Maladies_inflammatoires_chroniques_intestinales_fiche_2017.pdf.
9. Inserm. (page consultée le 08/06/2020). Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/maladies-inflammatoires-chroniques-intestin-mici>.
10. Wehkamp J, Götz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF. Inflammatory Bowel Disease. *Dtsch Arzteblatt Int*. 2016 Feb 5;113(5):72–82.
11. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, Kucharzik T, Fiorino G, Annese V, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis*. 2019 Feb 1;13(2):144-164K.
12. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel J-F. Ulcerative colitis. *The Lancet*. 2017 Apr;389(10080):1756–70.
13. Satsangi J. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*. 2006 Jun 1;55(6):749–53.


14. Torres J, Bonovas S, Doherty G, Kucharzik T, Gisbert JP, Raine T, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment. *J Crohns Colitis*. 2020 Jan 1;14(1):4–22.
15. Altwegg R, Vincent T. TNF Blocking Therapies and Immunomonitoring in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:1–7.
16. Papadakis KA, Targan SR. Role of Cytokines in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Annu Rev Med*. 2000 Feb;51(1):289–98.
17. van Dullemen HM, van Deventer SJH, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GNJ, et al. Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology*. 1995 Jul;109(1):129–35.
18. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJH, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A Short-Term Study of Chimeric Monoclonal Antibody cA2 to Tumor Necrosis Factor α for Crohn's Disease. *N Engl J Med*. 1997 Oct 9;337(15):1029–36.
19. REMICADE. Janssen Inc. Toronto: Ontario; 2019.
20. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *The Lancet*. 2002 May;359(9317):1541–9.
21. European Medicines Agency. (page consultée le 14/09/2020). Biosimilars in the EU - Information guide for healthcare professionals. [PDF]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/biosimilars-eu-information-guide-healthcare-professionals_en.pdf.
22. ANSM. (page consultée le 14/09/2020). Les médicaments biosimilaires. [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Medicaments-biosimilaires/Les-medicaments-biosimilaires/\(offset\)/0](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Medicaments-biosimilaires/Les-medicaments-biosimilaires/(offset)/0).
23. Goupille P. Utilité pratique de la surveillance de l'immunogénicité des anticorps monoclonaux en thérapeutique dans la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum Monogr*. 2018 Feb;85(1):10–4.
24. Ben-Horin S, Kopylov U, Chowers Y. Optimizing anti-TNF treatments in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev*. 2014 Jan;13(1):24–30.
25. Papamichael K, Gils A, Rutgeerts P, Levesque BG, Vermeire S, Sandborn WJ, et al. Role for Therapeutic Drug Monitoring During Induction Therapy with TNF Antagonists in IBD: Evolution in the Definition and Management of Primary Nonresponse. *Inflamm Bowel Dis*. 2015 Jan;21(1):182–97.
26. Mitrev N, Vande Casteele N, Seow CH, Andrews JM, Connor SJ, Moore GT, et al. Review article: consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Dec;46(11–12):1037–53.

27. Vermeire S, Dreesen E, Papamichael K, Dubinsky MC. How, When, and for Whom Should We Perform Therapeutic Drug Monitoring? *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 May;18(6):1291–9.
28. Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, Ballet V, Compernelle G, Van Steen K, et al. Trough Concentrations of Infliximab Guide Dosing for Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2015 Jun;148(7):1320-1329.e3.
29. Feuerstein JD, Nguyen GC, Kupfer SS, Falck-Ytter Y, Singh S, Gerson L, et al. American Gastroenterological Association Institute Guideline on Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2017 Sep;153(3):827–34.
30. Garcês S, Demengeot J. The Immunogenicity of Biologic Therapies. *Curr Probl Dermatol*. 2018;53:37–48.
31. Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D' Haens G, Carbonez A, et al. Influence of Immunogenicity on the Long-Term Efficacy of Infliximab in Crohn's Disease. *N Engl J Med*. 2003 Feb 13;348(7):601–8.
32. Ternant D, Chhun S. Variabilité pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques. *médecine/sciences*. 2019 Dec;35(12):1130–6.
33. Dreesen E, Baert F, Laharie D, Bossuyt P, Bouhnik Y, Buisson A, et al. Monitoring a Combination of Calprotectin and Infliximab Identifies Patients With Mucosal Healing of Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 Mar;18(3):637-646.e11.
34. Dreesen E, Bossuyt P, Mulleman D, Gils A, Pascual-Salcedo D. Practical recommendations for the use of therapeutic drug monitoring of biopharmaceuticals in inflammatory diseases. *Clin Pharmacol Adv Appl*. 2017;9:101–11.
35. Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen OØ, Munck LK, Fallingborg J, Christensen LA, et al. Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: a randomised, controlled trial. *Gut*. 2014 Jun;63(6):919–27.
36. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet Lond Engl*. 1986 Feb 8;1(8476):307–10.
37. Dostalek M, Gardner I, Gurbaxani BM, Rose RH, Chetty M. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and physiologically-based pharmacokinetic modelling of monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet*. 2013 Feb;52(2):83–124.
38. Ternant D, Bejan-Angoulvant T, Passot C, Mulleman D, Paintaud G. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Monoclonal Antibodies Approved to Treat Rheumatoid Arthritis. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Nov;54(11):1107–23.
39. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, et al. Infliximab, Azathioprine, or Combination Therapy for Crohn's Disease. *N Engl J Med*. 2010 Apr 15;362(15):1383–95.

40. Polakovicova V, Kadleckova B, Lucenicova J, Otottova K, Kinova S, Mikus P, et al. Positive pharmacokinetic effect of azathioprine co-medication on infliximab trough levels is dose-dependent. *Dig Liver Dis*. 2019 Aug;51(8):1112–6.
41. Vermeire S, Schreiber S, Sandborn WJ, Dubois C, Rutgeerts P. Correlation between the Crohn's disease activity and Harvey-Bradshaw indices in assessing Crohn's disease severity. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2010 Apr;8(4):357–63.
42. Sturm A, Maaser C, Calabrese E, Annese V, Fiorino G, Kucharzik T, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 2: IBD scores and general principles and technical aspects. *J Crohns Colitis*. 2019 Mar 26;13(3):273–84.
43. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummeler M, Vavricka SR, Bruegger LE, et al. Fecal Calprotectin Correlates More Closely With the Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD) than CRP, Blood Leukocytes, and the CDAI: *Am J Gastroenterol*. 2010 Jan;105(1):162–9.
44. R-Biopharm AG.(page consultée le 10/09/2020). RIDASCREEN®Anti-IFX Antibodies. [PDF]. https://clinical.r-biopharm.com/wp-content/uploads/sites/3/2016/03/g09042_ridascreen-anti-ifx-antibodies_2019-11-05_fr.pdf.
45. Kharlamova N, Hermanrud C, Dunn N, Ryner M, Hambardzumyan K, Vivar Pomiano N, et al. Drug Tolerant Anti-drug Antibody Assay for Infliximab Treatment in Clinical Practice Identifies Positive Cases Earlier. *Front Immunol*. 2020 Jul 21;11:1365.
46. Van Stappen T, Vande Castele N, Van Assche G, Ferrante M, Vermeire S, Gils A. Clinical relevance of detecting anti-infliximab antibodies with a drug-tolerant assay: post hoc analysis of the TAXIT trial. *Gut*. 2018 May;67(5):818–26.
47. Santacana E, Rodríguez-Alonso L, Padullés A, Guardiola J, Bas J, Rodríguez-Moranta F, et al. Predictors of Infliximab Trough Concentrations in Inflammatory Bowel Disease Patients Using a Repeated-Measures Design: *Ther Drug Monit*. 2020 Feb;42(1):102–10.
48. Nasser Y, Labetoulle R, Harzallah I, Berger A-E, Roblin X, Paul S. Comparison of Point-of-Care and Classical Immunoassays for the Monitoring Infliximab and Antibodies Against Infliximab in IBD. *Dig Dis Sci*. 2018;63(10):2714–21.
49. Ward MG, Thwaites PA, Beswick L, Hogg J, Rosella G, Van Langenberg D, et al. Intra-patient variability in adalimumab drug levels within and between cycles in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;45(8):1135–45.

ANNEXES

PRA-TE-4MG-015 – VERSION 5 – DATE DE VALIDATION : 31 OCTOBRE 2019



INSTITUT D'IMMUNOLOGIE
PÔLE DE BIOLOGIE – PATHOLOGIE – GÉNÉTIQUE – MÉDICALE
CHU DE LILLE

Roadstead de Professeur Leclercq
59037 LILLE Cedex
☎ 03 20 44 55 74 - Fax 03 20 44 55 76

ANTI-TNF : DOSAGE DU MÉDICAMENT / DÉTECTION D'ANTICORPS ANTI-MÉDICAMENT

| | |
|---|--|
| <p>IDENTITE DU PATIENT</p> <p>Nom :</p> <p>Nom de jeune fille :</p> <p>Prénom :</p> <p>Date de naissance :</p> <p>Sexe : <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M</p> | <p>ORGANISME DEMANDEUR</p> <p><input type="checkbox"/> Laboratoire <input type="checkbox"/> Service clinique demandeur</p> <p>Service demandeur :</p> <p>Adresse :</p> <p>Téléphone :</p> |
|---|--|

MEDECIN PRESCRIPTEUR

Nom et Prénom :

Téléphone :

Date de prélèvement :

Traitement :

Infliximab
 Remicade® Inflectra® Remsima® Flixabi®

Posologie : mg/kg/..... semaines soit mg Date de la dernière perfusion :

Adalimumab
 Humira® Amgevita® Imraldi® Hulio® Hyrimoz® Idacio®

Posologie : mg/..... semaine(s) Date de la dernière injection :

Date d'initiation du traitement :

Traitement optimisé : non oui, depuis :

Traitement immunosuppresseur associé : non oui, lequel :

Activité clinique de la maladie lors du dosage :

Inactive (rémission) Active (symptomatique)

Pathologie(s) :

Maladie de Crohn Polyarthrite rhumatoïde Psoriasis

Rectocolite hémorragique Spondylarthrite Rhumatisme psoriasique

Pour tout renseignement :
 Institut d'immunologie
 Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHU de Lille
 Téléphone : 03 20 44 55 74
 Dr Stéphanie Rogeau (TSI : 29041)

© Document interne, propriété C.H.R.U. de LILLE

Annexe 1: Formulaire de demande de suivi des biothérapies

AUTEUR : Nom: Tronchon

Prénom : Mathieu

Date de soutenance : Le 09 Octobre 2020

Titre de la thèse : Evaluation de la stabilité des taux résiduels d'infliximab et performances d'un test « rapide » chez les patients traités à une posologie optimisée pour une maladie inflammatoire chronique de l'intestin en rémission

Thèse - Médecine - Lille 2020

Cadre de classement : Médecine

DES + spécialité : Biologie Médicale

Mots-clés : anti-TNF α , Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, Infliximab, monitoring, ELISA, Test « rapide »

Introduction : Le TNF α est une cytokine qui possède un rôle central dans le déclenchement de la réponse inflammatoire. L'infliximab, un anticorps monoclonal anti-TNF α , est utilisé dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et a fait la preuve de son efficacité. Certains patients se trouvent malheureusement face à une perte d'efficacité nécessitant une adaptation des doses administrées. La gestion de ce traitement est aidée par la possibilité de doser le médicament.

Matériel et Méthode: Nous avons inclus entre le 1^{er} novembre 2019 et le 31 juillet 2020 30 patients traités à posologie optimisée par infliximab en gastroentérologie au CHU de Lille, en rémission au moment des dosages. Les résultats des dosages d'infliximab étaient récupérés pendant cette période jusqu'à en obtenir 3. Nous avons calculé pour les dosages aux visites 2 et 3 la différence avec le premier dosage et comparé cette différence à la valeur nulle afin d'étudier la stabilité des taux résiduels d'infliximab. Les paramètres associés à une variation de ces taux ont également été recherchés. Les dosages des taux résiduels d'infliximab ont été réalisés par une technique ELISA et une technique « rapide » afin de comparer les 2 tests.

Résultats: La médiane des différences était de 2,05 μ g/ml entre le deuxième et le premier dosage, elle était de 1,70 μ g/ml entre le troisième et le premier dosage. Ces résultats étaient significativement différents de la valeur nulle ($p < 0,001$). Les variations moyennes des taux résiduels d'infliximab étaient associées négativement au délai théorique entre 2 injections estimé en pourcentage et associées positivement à un traitement concomitant par immunosuppresseur.

La comparaison entre la technique ELISA et la technique "rapide" retrouvait un coefficient de corrélation $r^2 = 0,88$. L'étude des différences entre les 2 techniques mettait en évidence un biais proportionnel avec un biais moyen exprimé en pourcentage à +27,6 %.

Conclusion: Les taux résiduels d'infliximab n'étaient pas stables en médiane durant le suivi de notre cohorte. Les principaux paramètres identifiés comme liés à cette variation des taux étaient un dépassement du délai théorique entre deux perfusions et un traitement immunosuppresseur associé au moment des dosages. Nous avons également comparé une technique « rapide » à la technique ELISA utilisée en routine dans notre laboratoire pour le dosage de l'IFX. Cette comparaison mettait en évidence un biais proportionnel entraînant une surestimation des résultats de 27,6 % en moyenne par le test « rapide » par rapport à la technique ELISA.

Composition du Jury :

Président : Madame le Professeur Myriam Labalette

**Asseseurs : Monsieur le Professeur Benjamin Pariente
Madame le Docteur Stéphanie Chhun
Madame le Docteur Maria Nachury**

Directeur de thèse : Madame le Docteur Stéphanie Rogeau