



Vorläufige Empfehlung zur Bestimmung der Aktivität von Altuvoct® (Efanesoctocog alfa)

Einleitung

Efanesoctocog alfa (Altuvoct) ist ein B-Domänen-depletiertes, einkettiges FVIII-Molekül, das mit der D'D3-Domäne des von Willebrand-Faktors (vWF) fusioniert ist. Das Design von Efanesoctocog alfa ermöglicht es unabhängig von endogenem vWF zu wirken, was zu einer deutlich verlängerten Halbwertszeit führt. Letztere wird durch eine ebenfalls fusionierte Fc-Domäne für das neonatale Fc-Rezeptor-Recycling und 2 XTEN-Polypeptide zur Verringerung der Clearance weiter verbessert (1).

In einer Dosisfindungsstudie zeigte sich bei Applikation von 50 IU/kg KG eine Halbwertszeit von ca. 40 Stunden mit durchschnittlichen FVIII-Aktivitäten von ca. 0,5 IU/ml nach 3 Tagen und ca. 0,1 IU/ml nach 7 Tagen (2). Diese im Vergleich zu Standard-FVIII bzw. EHL-Faktoren der 1. Generation deutlich verbesserten Pharmakokinetiken konnten in nachfolgenden Phase III-Studien mit Erwachsenen als auch Kindern bestätigt werden (3,4).

Aufgrund der umfangreichen Modifikationen wird Efanesoctocog alfa von verschiedenen, gegen plasmatischen Faktor FVIII kalibrierten FVIII-Testsystemen unterschiedlich erfasst, was sich in entsprechenden Assay-Diskrepanzen ausdrückt, die hier adressiert werden sollen.

Zusammenfassung der Ergebnisse der internationalen Feldstudie (5)

In einer internationalen Feldstudie wurde mit Efanesoctocog alfa als auch Octocog alfa (rekombinater FL-FVIII) gespiketes, kongenitales FVIII-Mangelplasma an 35 Labore in 13 Ländern zur Analyse versendet. Die nominalen Aktivitäten in den Präparationen lagen bei jeweils 0,80 IU/ml (80%), 0,20 IU/ml (20%) und 0,05 IU/ml (5%). Insgesamt standen somit 51 Ergebnisse von Einstufentesten unter Verwendung von 14 verschiedenen aPTT-Reagenzien und 42 Ergebnisse erhoben mit 8 verschiedenen chromogenen FVIII-Testverfahren zur Verfügung. Bei den am häufigsten verwendeten aPTT-Reagenzien handelte es sich um SynthASil (n = 10, IL Werfen, Silica-basiert), Actin FS (n = 10, Siemens, Ellagsäure-basiert), Actin FSL (n = 7, Siemens, Ellagsäure-basiert) und Pathromtin SL (n = 4, Siemens, Silica-basiert). Die am häufigsten verwendeten chromogenen Testverfahren waren FVIII chromogen (n = 10, Siemens), Biophen FVIII (n = 9, Hyphen BioMed) sowie Coamatic FVIII (n = 9, Werfen). Hinsichtlich der Firma Stago, dem dritten größeren Player im Feld der hämostaseologischen Plattformdiagnostik in der DACH-Region, lagen Daten zu den folgenden aPTT-Reagenzien bzw. chromogenen Testverfahren aus zumindest 2 Laboren vor: CK Prest (Kaolin, n = 4), PTT-A (Silica, n = 2) und TriniCHROM FVIII:C (chromogen, n = 4).

Während die Präparation enthaltend Octocog alfa mit allen Methoden in allen 3 adressierten Aktivitätsbereichen im Mittel im Großen und Ganzen zielwertig (+/- 25%) gefunden wurden, zeigten sich bei Efanesoctocog alfa signifikante Reagenzien- aber auch Aktivitäts-abhängige Unterschiede. So wurde Efanesoctocog alfa durch die chromogenen Testverfahren im Mittel, über alle 3 Aktivitätsbereiche hinweg, um ca. 170% überschätzt. In der Publikation entsprechend ausgewiesene Zielbereiche (Faktor x3 > +/- 25%) lassen erkennen, dass sich die chromogenen Testverfahren von Hyphen (Biophen FVIII) sowie Werfen (Coamatic FVIII, aber auch Coatest SP [n=3]) in allen 3 Aktivitätsbereichen mehr oder weniger mittig innerhalb dieser bewegen.



Somit erscheint, unter der Annahme, dass sich gespikete Proben ähnlich wie Post-Infusionsproben verhalten, die Anwendung eines generischen Korrekturfaktors zur Annäherung an den tatsächlich vorliegenden Aktivitätsspiegel theoretisch möglich. Im Vergleich hierzu zeigte der FVIII chromogen (Siemens) unter Anwendung von Sysmex CS/CN-Systemen eine mittlere Lage der Messwerte in allen 3 Aktivitätsbereichen am unteren Rand des 3x-Akzeptanzbereiches, was einer durchschnittlichen Überbewertung um den Faktor 2,3 (+130%) entspricht. Im Gegensatz zu den vorstehend aufgeführten chromogenen Testverfahren zeigte der TriniCHROM FVIII:C-Assay (Stago) in den Aktivitätsbereichen 0,8 IU/ml (80%) und 0,2 IU/ml (20%) eine mittlere Überbewertung um den Faktor $\sim 1,8$ (+80%) und im niedrigeren Aktivitätsbereich (0,05 IU/ml [5%]) um den Faktor $\sim 2,5$ (+150%), letzteres unter auffälliger Clusterbildung innerhalb einer breiten Streuung der zugrundeliegenden Einzelwerte.

Die beobachtete relative Überbewertung durch chromogene Testverfahren ist auf den Umstand zurückzuführen, dass Efanesoctocog alfa durch einen Actin FSL-basierten Einstufentest (Siemens) bzgl. der spezifischen Aktivität charakterisiert wird ('potency labelling'). Dementsprechend kam dieser Einstufentest auch in den Zulassungsstudien zum Einsatz, so dass es nahelegt, dass Actin FSL das Reagenz der Wahl zur Bestimmung von Efanesoctocog alfa in klinischen Postinfusionsproben darstellt. In der Tat zeigten sich auch in der Laborfeldstudie mit Actin FSL akzeptable Ergebnisse, dies jedoch mit einem Trend zur höheren Bewertung unter ebenfalls höherer Streuung der Einzelwerte insbesondere im niedrigen Aktivitätsbereich von 0,05 IU/dl (5%). Interessanterweise zeigte sich hier eine Abhängigkeit von der verwendeten Analyseplattform. So wurden mit dem BCS XP-System (n = 3) in allen 3 Aktivitätsbereichen zielwertige, mit CS2500/5100- (n=3) oder Atellica Coag 360-Systemen (n = 1) im niedrigen Aktivitätsbereich um den Faktor 1,4-1,5 (+40%-50%) höhere Ergebnisse gefunden, was bei der Befundinterpretation zu beachten ist. Während für die nun im Feld zur Anwendungen kommenden CN-6000/6500-Systeme (Sysmex/Siemens) noch keine entsprechenden Daten vorliegen, sollte auch hier aufgrund der technischen Ähnlichkeit zu den CS-Systemen eine entsprechende potentielle Überbewertung im niedrigen Konzentrationsbereich in Betracht gezogen werden.

Hinsichtlich des aPTT-Reagenzes Actin FS (Siemens) zeigte sich eine aktivitätsabhängige Überwertung um den Faktor 2,3 (0,8 IU/ml) bis 2,9 (0,05 IU/ml), während eine auffallend einheitliche! Unterbewertung durch SynthASil (Werfen) um 40% bei 0,8 IU/ml (möglicher Korrekturfaktor x 1,7) und 30% (x 1,4) bei 0,2 IU/ml beobachtet wurde. Bei niedriger Aktivität (0,05 IU/ml) zeigten sich SynthASil-basierte Messwerte, unter allerdings erhöhter Streuung, im Mittel zielwertig. Ähnliche Ergebnisse wurden mit APTT SP (Silica-basiert, Werfen, n=2) gefunden. Mit Blick auf die anderen aPTT-Reagenzien zeigten sich bei 0,8 IU/ml vorwiegend akzeptable Ergebnisse, während bei niedrigeren Aktivitäten eine steigende Überbewertung zu beobachten war. Eine Übersicht zu allen in der Feldstudie in mindestens 2 unterschiedlichen Laboren zur Anwendung gekommenen Reagenzien findet sich in der beigefügten Tabelle 1 (Seite 4).

Bisherige Erfahrungen der Analysen von Efanesoctocog alfa in Postinfusionsproben zeigten eine gute Übereinstimmung von mit Actin FSL erhobenen Messwerte hinsichtlich der zu erwartenden und einleitend beschriebenen Pharmakokinetik von Efanesoctocog alfa. Eine deutliche Überbewertung durch Actin FS konnte hierbei bestätigt werden. Der FVIII chromogen (Siemens) zeigte bei niedrigeren Aktivitätswerten zu Actin FSL vergleichbare Ergebnisse, während erst bei höheren Werten die beiden Assays diskrepante Ergebnisse zeigten (chromogen > Actin FSL).



Vorläufige STAEKOLA-Empfehlung zur Bestimmung von Efanesoctocog alfa

Die vorstehend beschriebenen Beobachtungen zusammenfassend empfehlen wir aktuell auf die Testsysteme zurückzugreifen, die innerhalb der Feldstudie Ergebnisse möglichst nahe an den jeweiligen Zielwerten zeigten. Somit sollte mit Blick auf Siemens / Sysmex-Systeme ein Actin FSL-basierter Einstufentest verwendet werden, wobei auf Basis der aktuellen Datenlage eine potentielle Überbewertung von 40%-50% im niedrigen Aktivitätsbereich in Betracht gezogen werden muss. Ein ähnliches Bild zeigte sich mit dem Kaolin-basierten aPTT-Reagenz CK Prest der Firma Stago (STA MAX). Labore die mit Werfen-Systemen arbeiten, sollten unseres Erachtens auf einen SynthASil-basierten Einstufentest zurückgreifen. Hierbei erscheint aufgrund der sehr guten Vergleichbarkeit von Testergebnissen aus insgesamt 15 Laboren (ACL TOP) die Anwendung der oben und in der Tabelle aufgeführten orientierenden Korrekturfaktoren im höheren bzw. mittleren Aktivitätsbereich legitim.

Referenzen

- 1) Dargaud Y, Leuci A, Ruiz AR, Lacroix-Desmazes S. Efanesoctocog alfa: the renaissance of Factor VIII replacement therapy. *Haematologica*. 2024; 109: 2436-2444. doi: 10.3324/haematol.2023.284498.
- 2) Lissitchkov T, Willemze A, Katragadda S, Rice K, Poloskey S, Benson C. Efanesoctocog alfa for hemophilia A: results from a phase 1 repeat-dose study. *Blood Adv*. 2022 Feb 22;6(4):1089-1094. doi: 10.1182/bloodadvances.2021006119. Erratum in: *Blood Adv*. 2022; 6: 3625. doi: 10.1182/bloodadvances.2022007724.
- 3) von Drygalski A, Chowdary P, Kulkarni R, Susen S, Konkle BA, Oldenburg J, Martino D, Klamroth R, Weyand AC, Jimenez-Yuste V, Nogami K, Poloskey S, Winding B, Willemze A, Knobe K; XTEND-1 Trial Group. Efanesoctocog Alfa Prophylaxis for Patients with Severe Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2023; 388: 310-318. doi: 10.1056/NEJMoa2209226.
- 4) Malec L, Peyvandi F, Chan AKC, Königs C, Zulfikar B, Yuan H, Simpson M, Álvarez Román MT, Carcao M, Staber JM, Dunn AL, Chou SC, d'Oiron R, Albisetti M, Demissie M, Santagostino E, Yarramaneni A, Wong N, Abad-Franch L, Gunawardena S, Fijnvandraat K; XTEND-Kids Trial Group. Efanesoctocog Alfa Prophylaxis for Children with Severe Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2024; 391: 235-246. doi: 10.1056/NEJMoa2312611.
- 5) Pipe S, Sadeghi-Khomami A, Konkle BA, Kitchen S, Negrier C, Liu M, Santagostino E, Willemze A, Abad-Franch L, Knobe K, Seth Chhabra E. A global comparative field study to evaluate the factor VIII activity of efanesoctocog alfa by one-stage clotting and chromogenic substrate assays at clinical haemostasis laboratories. *Haemophilia*. 2024; 30: 214-223. doi: 10.1111/hae.14831.

Tab.1. Übersicht der Ergebnisse der internationalen Feldstudie (1)

aPTT-Reagenzien	Efanesoctocog alfa (IU/ml)		
	0.8	0.2	0.05
Aktivator: Ellagsäure			
Actin FS (Siemens)	+130%	+150%	+190%
Actin FSL (Siemens)			+40%-50%*°

Aktivator: Silica			
Pathromtin SL (Siemens)		+40%	+60%
PTT-A (Stago)		+30%	+70%
SynthASil (Werfen)	-40%	-30%	
APTT SP (Werfen)	-40-50%	-40%	

Aktivator: Kaolin			
CK Prest (Stago)			+50%

Chromogene Testverfahren			
Biophen FVIII (Hyphen)	+200%	+200%	+200%
Coatest SP (Werfen)	+200%	+200%	+200%
Coamatic FVIII (Werfen)	+200%	+200%	+200%
TriniCHROM FVIII:C (Stago)	+80%	+80%	+150%**
Chromogenic Factor VIII(PBI CCCF08, PrecisionBioLogic)	+150%	+140%**	+140%
FVIII chromogen (Siemens)	+130%	+130%°	+130%°

1) Pipe et al. Haemophilia. 2024; 30: 214-223

Mittelwert der Messwerte innerhalb +/-25% vom Zielwert

Mittelwert der Messwerte außerhalb +/- 25%

Anwendung von Korrekturfaktoren (1,7 bzw. 1,4) erscheint möglich

* abhängig von Geräteplattform (BCS XP erscheint zielwertig, siehe Supplement zu Ref. #1)

** auffällige Clusterbildung unter zugrundeliegenden Einzelwerten

° bei Postinfusionsproben erscheinen diese beiden Teste (Actin FSL und FVIII chromogen von Siemens) in diesem Aktivitätsbereich vergleichbare (zielwertige) Ergebnisse zu liefern.