

Contrôle du marché des tests ADN libre circulant dans le sang maternel pour évaluer le risque de trisomie 21 foetale

Mai 2019

Sommaire

- I- Introduction et contexte
- II- Méthodologie suivie
- III- Résultats de l'analyse des dossiers

Annexe I : Grille d'évaluation des réponses des fabricants de dispositifs ADNlc

Tableau I : Performances et caractéristiques des 4 dispositifs CE évalués

I- Introduction et contexte

La trisomie 21 (T21) est une aneuploïdie autosomique observée en moyenne lors de 27,3 sur 10000 grossesses et dont la fréquence augmente avec l'âge maternel¹.

Depuis 2009, la principale procédure de dépistage proposée aux femmes enceintes et aux couples est le dépistage combiné du 1^{er} trimestre, reposant sur le dosage des marqueurs sériques par une prise de sang et la mesure de la clarté nucale au cours de l'échographie. Les informations issues de ces deux examens, combinées avec l'âge de la femme enceinte, permettent d'estimer le risque que le fœtus soit porteur de la trisomie 21. En cas d'impossibilité de réaliser les examens de dépistage au 1^{er} trimestre, un dépistage de rattrapage peut être proposé au 2^{ème} trimestre, reposant sur le dosage d'autres marqueurs sériques.

A l'issue de ces examens, lorsque le niveau de risque estimé est supérieur ou égal à 1 sur 250, une confirmation diagnostique par un caryotype fœtal est proposée aux femmes enceintes, nécessitant un examen invasif (amniocentèse ou choriocentèse). Cet examen comporte un risque faible mais non nul de perte fœtale. Cette stratégie est décrite dans l'arrêté du 23 juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21².

En avril 2017, la HAS a publié un rapport recommandant qu'un test ADN libre circulant de la T21 (ADNlc T21) soit proposé à toutes les femmes enceintes dont le niveau de risque de trisomie 21 fœtale est compris entre 1/1000 et 1/51 à l'issue du dépistage par dosage des marqueurs sériques afin d'une part d'améliorer la sensibilité du dépistage et d'autre part de réduire le nombre d'amniocentèses pouvant entraîner des pertes fœtales¹.

En conséquence, l'arrêté du 23 juin 2009 a été modifié pour tenir compte de cette nouvelle stratégie par un arrêté du 14 décembre 2018³.

Dans ce contexte et dans le cadre de ses missions de surveillance du marché, l'ANSM a réalisé en 2017-2018 un contrôle du marché des tests ADNlc T21 (réactifs et logiciels) utilisés en France afin de s'assurer de leur conformité à l'état de l'art.

Ces tests ADNlc T21, développés depuis 2008, sont fondés sur la recherche d'une surreprésentation de séquences d'ADN fœtal provenant du chromosome 21 au sein de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel.

¹ Recommandation HAS « Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale », avril 2017, https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-05/dir42/synthese_et_recommandations_place_des_tests_adn_libre_circulant_dans_le_sang_maternel_dans_le_depistage_de_la_trisomie_21_f.pdf

² Arrêté du 23 juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21, <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000020814373>

³ Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21 <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000037833062&dateTexte=&categorieLien=id>

II- Méthodologie suivie

Pour identifier les dispositifs utilisés sur le marché français pour évaluer le risque de trisomie 21 fœtale par tests ADNlc, une enquête a été menée en mai 2017 par mailing auprès de 86 laboratoires de cytogénétique ou de génétique moléculaire prénatales. Vingt-quatre laboratoires ont répondu être concernés par cette analyse, renseignant l'ANSM sur les dispositifs utilisés et le nombre de tests réalisés mensuellement. Certains laboratoires ont, par la suite, informé l'ANSM d'éventuels changements (notamment de technique utilisée), les données de l'enquête ont alors été mises à jour.

L'enquête a ainsi permis d'identifier que les biologistes français utilisaient principalement des dispositifs marqués CE mis sur le marché par 4 fabricants (MULTIPLICOM, ILLUMINA, PREMAITHA HEALTH et ARIOSAROCHE) et que quelques laboratoires avaient mis au point une technique maison en utilisant un outil de calcul permettant de mettre évidence les surexpressions de certains chromosomes, outil publié et mis à disposition gratuitement sur internet :

Tests commercialisés (CE)	Clarigo (MULTIPLICOM)
	VeriSeq Analysis Software 16 (ILLUMINA)
	VeriSeq VeriSeq Analysis Software 48 (ILLUMINA)
	Solution VeriSeq NIPT (ILLUMINA)
	Iona (PREMAITHA HEALTH)
	Harmony Prenatal Test (ARIOSAROCHE)
Outil non marqué CE	WISECONDOR (Within-Sample COpy Number aberration DetectOR)

Le présent contrôle de marché a porté sur l'analyse des données de performance des seuls dispositifs marqués CE qui disposent d'une documentation technique et d'un dossier d'évaluation des performances conformément à la réglementation.

Les courriers de demande d'information ont été envoyés aux fabricants entre juin et octobre 2017. Les demandes portaient sur les points suivants :

- la notice d'utilisation,
- le certificat de marquage CE,
- une explication de la méthodologie à suivre pour la réalisation du test (les différentes étapes techniques) précisant le cas échéant les dispositifs (équipement, matériel) à utiliser en combinaison,
- les études démontrant la sensibilité et la spécificité diagnostiques du dispositif,
- les données ayant permis la détermination du seuil de positivité,
- les données relatives aux limites d'utilisation (notamment fraction fœtale, nombre de séquences minimales lues, autres ...),

- les données relatives au taux de résultats non-rendus,
- la description des contrôles internes de qualité.

L'expertise des dossiers reçus a été finalisée en août 2018⁴.

Ainsi, compte tenu de la méthodologie suivie, d'éventuels nouveaux dispositifs arrivés sur le marché français après l'enquête menée par l'ANSM n'ont pas été pris en compte dans le présent contrôle de marché.

III- Résultats de l'analyse des dossiers

Les principales performances et caractéristiques des 4 dispositifs CE (Clarigo de MULTIPLICOM, Solution VeriSeq NIPT d'ILLUMINA, Harmony Prenatal Test d'ARIOSA/ROCHE et Iona test de PREMAITHA HEALTH) sont rapportées dans le tableau I.

Les réponses des fabricants ont été analysées grâce à une grille d'évaluation (cf annexe I). L'analyse des données transmises par le fabricant ILLUMINA a montré que seul le dispositif Solution VeriSeq NIPT disposait de données d'évaluation des performances. Les dispositifs VeriSeq Analysis Software 16 et VeriSeq Analysis Software 48, qui sont commercialisés en tant que logiciels seuls n'ont donc pas pu faire l'objet d'une évaluation. L'ANSM a informé le fabricant que l'absence de données cliniques/diagnostiques dans le dossier de marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic in vitro et par conséquent dans sa notice d'instruction constitue une non-conformité. En octobre 2018, ILLUMINA a fait part à l'ANSM d'une mise à jour des notices d'instruction des deux dispositifs incluant désormais des données d'évaluation. Ces données n'ont pas été analysées dans le présent contrôle de marché.

Bilan :

- Selon l'avis de l'expert, les quatre systèmes présentent des performances conformes à l'état de l'art (littérature scientifique) avec des sensibilités diagnostiques > 99.1%, et des spécificités diagnostiques >99.5%
- Les dispositifs marqués CE des 4 systèmes comprennent au minimum un logiciel et les réactifs nécessaires à la préparation des échantillons
- Les 4 tests ADNlc n'utilisent pas tous la même technique (séquençage aléatoire tout génome, séquençage ciblé, amplification de séquences ciblées)
- Les destinations cliniques de ces tests ne se limitent pas à la trisomie 21 fœtale (trisomie 13, trisomie 18, sexe fœtal notamment)

Remarques et réserves :

- Le marquage CE : Les dispositifs utilisés pour le dépistage de trisomie 21, qu'il s'agisse de logiciels ou de réactifs, répondent à la définition de dispositif médical de diagnostic in vitro et doivent à ce titre répondre aux exigences de la directive européenne 98/79/CE et être marqués CE. Cette directive prévoit de surcroît des dispositions particulières pour les dispositifs spécifiquement destinés à l'évaluation du risque de trisomie 21 puisque, en tant que produits mentionnés dans la liste B de l'annexe II, leur marquage CE nécessite

⁴ Le présent contrôle de marché a été réalisé en collaboration avec un expert externe, le Pr Claude FEREC (CHU de Brest).

un examen du dossier de marquage CE par un organisme notifié avant la mise sur le marché des dispositifs. Selon l'ANSM, les tests ADNlc sont des dispositifs destinés à l'évaluation du risque de la trisomie 21, leur mise sur le marché nécessite donc un examen préalable de leur dossier par un organisme notifié. Cette position réglementaire est actuellement en cours de discussion au niveau européen. Une enquête récente devrait conclure rapidement sur ce point.

Le présent contrôle de marché a identifié que parmi les 4 systèmes évalués, 3 ont été marqués CE conformément aux produits listés en annexe II (certificat de marquage CE par un organisme notifié) et un des tests a été mis sur le marché en autocertification (cf tableau I). Le fabricant de ce dispositif pourrait être amené à en modifier le marquage CE, en fonction des conclusions de l'enquête européenne.

En tout état de cause, l'évolution de la réglementation en matière de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro, notamment l'application du Règlement 2017/746 qui sera effective au plus tard en 2022 imposera aux fabricants de tests ADNlc de marquer leurs dispositifs selon les exigences requises pour la nouvelle classe C, nécessitant un certificat émis par un organisme notifié.

- La fraction fœtale (FF) : elle correspond à la part fœtale de l'ADN libre circulant dans le sang maternel composé d'un mélange d'ADN maternel et fœtal et elle varie notamment en fonction de l'âge gestationnel (elle augmente au cours de la grossesse). La FF est connue pour être un point limitant de l'interprétation des résultats. Il est donc important pour l'interprétation des résultats que les dispositifs ADNlc permettent à l'utilisateur, d'une part de connaître la valeur seuil déterminée par le fabricant en dessous de laquelle les résultats ne sont pas interprétables (souvent 4%), et d'autre part de connaître la FF mesurée dans chaque échantillon. Seuls deux des systèmes évalués par le présent contrôle de marché permettent à l'utilisateur de connaître ces deux caractéristiques. Le test Iona de Premaitha tient compte de la fraction fœtale mesurée dans la validation du test réalisé par le logiciel, cependant ni la valeur du seuil ni la FF mesurée pour chaque échantillon n'est communiquée à l'utilisateur. Pour le dispositif VeriSeq, le résultat rendu à l'utilisateur indique la valeur de la FF de chaque échantillon et un contrôle appelé iFACT est calculé par le logiciel. Ce contrôle iFACT tient compte de la FF et du taux de couverture du séquençage réalisé. Le résultat final n'est validé que si la valeur de ce contrôle dépasse un certain seuil. Illumina ne fixe donc pas de seuil pour la fraction fœtale mais un seuil pour le iFACT.
- Le taux de non-rendus : certains fabricants ont inclus dans leur calcul les échantillons dont la fraction fœtale est inférieure au seuil qu'ils ont choisi (dépendant des échantillons), d'autres n'ont retenu que les échecs techniques (dépendant uniquement du test), ce qui rend une comparaison impossible. Cette information est importante pour les utilisateurs pour choisir la technique à installer dans leur laboratoire et pour fixer les délais de rendu des résultats, en plus des performances diagnostiques (sensibilité et spécificité).
- Les seuils/ cut-off : il s'agit de la valeur fixée par le fabricant suite aux études cliniques qu'il a menées à partir de laquelle le résultat obtenu pour un échantillon est rendu positif

et en deçà de laquelle il est considéré comme négatif. L'étude des dossiers techniques des fabricants a montré que les seuils de positivité des différents dispositifs s'expriment différemment : cut-off, rapports de vraisemblance (RV), Z score ou probabilité. Les valeurs rendues ne sont donc pas comparables entre les techniques.

- Grossesses multiples : trois systèmes sur quatre revendiquent une utilisation possible en cas de grossesse multiple (avec 2 fœtus au maximum). Pour confirmer l'utilisation possible de leur test pour des grossesses gémellaires, les fabricants ont fait part de données cliniques/diagnostiques complémentaires à celles fournies initialement se référant à ce type d'indication. Ces données n'étaient pas clairement indiquées dans les notices des systèmes, aussi l'ANSM a rappelé aux 3 fabricants leurs obligations liées aux exigences essentielles de la directive 98/79/CE, notamment celle de faire figurer ces informations ainsi que la mention de conditions particulières d'utilisation pour cette population le cas échéant. L'ANSM suivra avec attention les mises à jour des notices.

Annexe I : Grille d'évaluation des réponses des fabricants de dispositifs ADNic

Nom de l'expert :

Date :

Nom du test, version le cas échéant	
Fabricant	
Mandataire, le cas échéant	
Distributeur en France	
Marquage CE ? Annexe II ou non ?	
Type(s) de dispositif concerné	
Tube de prélèvement requis	
Technique utilisée (séquençage tout génome, ciblé, autre)	
Destination clinique (trisomie 21, autres aneuploidies, grossesses simples, jumeaux, ...) <i>Préciser termes exacts</i>	
Equipements à utiliser en combinaison pour le test (quel séquenceur, autres)	

<p>Détermination de la sensibilité diagnostique (valeur, description des études cliniques en particulier nombre d'échantillons testés dans chaque groupe)</p>	
<p>Détermination de la spécificité diagnostique (valeur, description des études cliniques en particulier nombre d'échantillons testés dans chaque groupe)</p>	
<p>Limites d'utilisation (fraction fœtale, nombre de séquences lues minimales, autres)</p>	
<p>Taux de non rendus calculé par le fabricant</p>	
<p>Seuil de positivité (valeur du Z score, autre)</p>	
<p>Description des contrôles de qualité internes (positif, négatif, fourni, non fournis)</p>	
<p>Nombre d'échantillons max par série</p>	
<p>Commentaires</p>	

Tableau I : Performances et caractéristiques des 4 dispositifs CE évalués

Nom du test, version le cas échéant	Solution VeriSeq NIPT	CLARIGO enabling NIPT for all	HARMONY PRENATAL TEST	IONA TEST
Fabricant	ILLUMINA (US)	MULTIPLICOM (Belgique)	ARIOSIA DIAGNOSTICS (US)	PREMAITHA HEALTH (UK)
Mandataire, le cas échéant	ILLUMINA (UK)	NA	QARAD (Belgique)	NA
Distributeur en France	ILLUMINA (FR)			
Marquage CE ? Annexe II ou non ?	Marqué CE Annexe II Organisme notifié : BSI (086)	CE sans ON	CE Annexe II Organisme notifié 0843 (UL International (UK) Limited)	Marqué CE Annexe II Organisme notifié 0843 (UL INTERNATIONAL UK LTD)
Type(s) de dispositif concerné	Logiciel et réactifs	Logiciel et réactifs	Logiciel et réactifs	Logiciel et réactifs
Tube de prélèvement requis	Tube Streck Cell Free DNA BCT	Tube streck Cell-Free DNA BCT	Tube ROCHE ou Streck Cell Free DNA BCT	Tube K2EDTA ou EDTA KE ou Tube streck Cell-Free DNA BCT
Technique utilisée	Séquençage aléatoire tout génome	Séquençage ciblé	Amplification de séquences ciblées	Séquençage aléatoire tout génome
Destination clinique	T21,T13,T18, Sexe fœtal	T21,T13,T18, Sexe fœtal	T21,T13,T18, Del 22q11.2 Sexe fœtal, Monosomie X XXX,XXY,YYX	T21,T13,T18, Sexe fœtal

Détermination de la sensibilité diagnostique	<p>Etude clinique n=3107 pour les échantillons avec FF >4% :</p> <p>T21 = 100% (80/80), T18=93.3% (14/15), T13 = 100% (8/8)</p>	<p>n=1097 femmes enceintes dont 66 trisomies 21, 28 trisomies 18 et 7 trisomies 13 :</p> <p>T21 = 100% T18 = 95% T13 = 100%</p>	<p>n=791</p> <p>T21 : 99.1% (107/108) T18 : 100% (29/29) T21 : 100% (12/12)</p>	<p>n = 355</p> <p>T21 : 100% (52/52) T18 : 100% (30/30) T13 : 100% (5/5)</p> <p>n = 241,</p> <p>T21 : 100% (39/39) T18 : 91.7% (11/12) T13 : 100% (4/4)</p>
Détermination de la spécificité diagnostique	<p>Etude clinique n=3107 pour les échantillons avec FF >4% :</p> <p>T21 = 100% (2636/2636), T18=99.9% (2698/2701), T13 = 99.9% (2705/2708)</p>	<p>n=1097 femmes enceintes dont 66 trisomies 21, 28 trisomies 18 et 7 trisomies 13</p> <p>T21 = 99.94% T18 = 100% T13 = 99.88%</p>	<p>n=791</p> <p>100% (641/641)</p>	<p>n = 355</p> <p>T21 : 100% (296/296) T18 : 100% (318/318) T13 : 100% (343/343)</p> <p>n = 241,</p> <p>T21 : 99.5% (201/202) T18 : 100% (229/229) T13 : 100% (237/237)</p>
Principales limites d'utilisation	<p>Grossesse ≥ 10 semaines,</p> <p>Preuves limitées pour les grossesses gémellaires</p> <p>Seuil minimal de fraction fœtale requis (valeur du seuil non précisée)</p> <p>Seuil minimal de couverture de séquençage suffisante (iFACT) (valeur du seuil non précisée)</p>	<p>Grossesse ≥ 10 semaines,</p> <p>Non validé pour grossesse multiple</p> <p>Fraction fœtale doit être > 4%</p>	<p>Grossesse ≥ 10 semaines,</p> <p>grossesse unique ou gémellaire (≤ 2)</p> <p>Fraction fœtale doit être > 4%</p>	<p>Grossesse ≥ 10 semaines, grossesse simple ou gémellaire (≤ 2)</p> <p>Seuil minimal de fraction fœtale requis (valeur non précisée)</p>