



*Agence française de sécurité sanitaire  
des produits de santé*

Direction de l'Evaluation des Dispositifs Médicaux  
Département Surveillance du Marché  
Unité Evaluation et Contrôle du Marché - DIV

**RAPPORT DU CONTROLE DE MARCHE  
DES DISPOSITIFS MEDICAUX  
DE DIAGNOSTIC IN VITRO  
DE DOSAGE DE CICLOSPORINE**

(Version du 28 avril 2009)

# PLAN

- I- Introduction – Problématique**
- II- Méthodologie- Actions menées par l’Afssaps**
- III- Résultats de l’évaluation des notices**
  - III-1 Calibration des dosages**
  - III-2 Performances dans les valeurs basses**
  - III-3 Raccordement métrologique**
  - III-4 Destinations cliniques des dosages**
  - III-5 Spécificité (réactions croisées)**
  - III-6 Autres**
- IV- Discussion –Conclusions -Recommandations**

## Annexes :

Annexe I : Liste des membres du groupe de travail

Annexe II : Listes des dispositifs de dosage de ciclosporine du marché

Annexe III : Calibration des dosages de ciclosporine

Annexe IV : Performances analytiques des dosages de ciclosporine dans les valeurs basses

## **I- Introduction – Problématique**

La ciclosporine (ou cyclosporine, CsA) est un immunosuppresseur utilisé dans la plupart des protocoles de transplantation (rein, foie, cœur, poumon, pancréas, moelle osseuse,...) ainsi que pour de nombreuses affections autoimmunes ou inflammatoires (diabète de type I, polyarthrite rhumatoïde, ...).

La ciclosporine présente cependant de nombreux effets secondaires, probablement dose-dépendants, dont le principal est sa néphrotoxicité. Compte tenu que la pharmacocinétique de la CsA est sujette à une très forte variabilité inter-individuelle (nombreux facteurs physiopathologiques et génétiques influençant l'absorption, distribution et métabolisme), et que sa marge thérapeutique est étroite, la surveillance des taux de CsA circulante s'impose.

Au cours du temps, les protocoles ont considérablement réduit les concentrations de ciclosporine pour limiter sa toxicité, grâce notamment à la prescription de cocktail de plusieurs immunosuppresseurs. Ainsi, désormais, les taux résiduels (C0) souhaités sont souvent inférieurs à 100 ng/ml voire 50 ng/ml. De même, les concentrations souhaitées deux heures après la prise (C2) tendent à être inférieures à 500 ng/ml à distance de la transplantation. Il y a quelques années les C0 et C2 souhaités étaient encore deux à trois fois plus élevés. Par exemple, il est habituel en transplantation cardiaque après 2 à 3 ans de greffe de maintenir le C0 dans une fourchette de 80 à 100 ng/ml. De surcroît, lorsque le protocole d'immunosuppression utilisé comporte de l'everolimus (Certican®), le C0 souhaité est très fréquemment inférieur à 50 ng/ml. Dans ce dernier cas, les performances de précision du dispositif sont d'autant plus importantes que l'attitude thérapeutique sera différente selon que le C0 sera proche de 20 ng/ml ou de 50 ng/ml.

Or, depuis 2005, neuf signalements ont été déclarés en réactovigilance concernant le dosage de CsA. Le problème décrit par les signalants porte sur des défauts de précision pour des échantillons de faibles concentrations. L'Afssaps s'est donc interrogée au sujet des performances des trousseaux pour des faibles concentrations compte tenu que les réactifs ont initialement été conçus (calibration notamment) pour mesurer des concentrations plus élevées.

Dans ce contexte, l'Afssaps a mis en place, en collaboration avec des experts, un contrôle du marché des dispositifs de dosage de la ciclosporine afin de réaliser un état des lieux des dispositifs du marché français et d'étudier en particulier les performances de ces dispositifs pour les concentrations faibles.

## **II- Méthodologie- Actions menées par l'Afssaps**

Le contrôle du marché des dispositifs de dosage de ciclosporine a consisté à recenser l'ensemble des dosages et à évaluer les notices au regard des exigences essentielles de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro transposée par l'ordonnance n° 2001-198 du 1er mars 2001, avec un examen particulier de leur calibration et des performances analytiques pour les valeurs faibles.

Un groupe d'experts (annexe I) a lu les notices et rendu un avis sur les 10 dispositifs du marché français (annexe II). L'ensemble des non-conformités et remarques a été signifié par courrier aux fabricants.

## **III- Résultats de l'évaluation des notices**

### **III-1 Calibration des dosages**

Le tableau de l'annexe III présente les points de calibration ainsi que les matrices choisies par les fabricants pour la conception de leur réactif.

Il apparaît que la calibration des dispositifs prévoit désormais un premier point de gamme inférieur ou proche de 50 ng/ml (à partir de 20 ng/ml). Seules les trousse Dimension et Dimension Vista de Siemens présentent un premier point de gamme à 100 ng/ml.

Concernant les matrices utilisées, compte tenu que l'analyse est réalisée sur sang total (tube EDTA en général), la plupart des fabricants a choisi une matrice se rapprochant du sang total. Notons cependant que quatre dispositifs (Cyclosporine direct RIA d'Immunotech, CYCLO-Trac SP Whole Blood RIA de Diasorin, Test CEDIA cyclosporine Plus de Microgenics et Cyclosporine ADVIA de Siemens) affichent une calibration diluée dans un milieu sérique bien que les échantillons soient des sangs totaux.

### **III-2 Performances dans les valeurs basses**

La directive européenne 98/79/CE précise que la notice d'utilisation doit comprendre les caractéristiques de performance analytique du dispositif notamment les données de sensibilité, les limites de détection, la plage de mesure, la répétabilité et la reproductibilité (annexe I B.8.7.h).

Les informations affichées dans les notices des 10 dispositifs du marché concernant ces performances sont rapportées à l'annexe IV du présent document.

Selon ces données, il apparaît d'une part que plusieurs notices n'affichent pas la sensibilité fonctionnelle des dispositifs et d'autre part que les concentrations basses choisies par les fabricants pour l'étude de la précision sont parfois très distantes de la limite basse de plage de mesure pourtant annoncée (exemple : Cyclosporine direct RIA d'Immunotech présentant une limite basse de plage de mesure à 5 ng/ml et des données de précision calculées à 137 et 195 ng/ml).

L'étude des plages de mesure montre également que la plupart des fabricants choisit comme limite basse la sensibilité analytique de leur trousse. Seul le dispositif Architect affiche une limite basse de plage de mesure au niveau de sa sensibilité fonctionnelle.

Des non-conformités seront adressées aux fabricants concernés par ces points.

### **III-3 Raccordement métrologique**

La directive 98/79/CE indique d'une part que les dispositifs doivent être conçus selon l'état de l'art de la technique généralement reconnu (« state of art » dans la version anglaise de la directive) et d'autre part que la traçabilité des valeurs attribuées aux matériaux d'étalonnage doit être garantie par des procédures de mesure de référence existantes et/ou des matériaux de référence disponibles de niveau supérieur (annexe I.A.3).

L'étude des notices a montré que la majorité des réactifs des dispositifs est raccordée à la chromatographie liquide haute performance (CLHP) reconnue comme technique de référence pour ce type de dosage qu'elle soit couplée ou non à la spectrométrie de masse (Taylor PJ 2004 Ther Drug Monitor 26: 215-219 ; Yang Z, Peng Y, Wang S (2005) Clin and Applied Immunology Reviews 5: 405-430 ; Yang Z, Wang S. Recent development in application of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in

therapeutic drug monitoring of immunosuppressants. J Immunol Methods. 2008 Jul 31;336(2):98-103. ; Deters M, Kaefer V, Kirchner G (2003) Anal Chim Acta 492:133–145).

Seuls les dispositifs Cobas INTEGRA Cyclosporine II de Roche diagnostic et Cyclosporine RIA KIT d'Immunotech n'affichent pas un tel raccordement. Une non-conformité leur sera adressée à ce sujet.

### **III-4 Destinations cliniques des dosages**

Selon son autorisation de mise sur le marché, la ciclosporine (nom de spécialité Néoral® ou Sandimmun®) est prescrite dans de nombreuses indications dont les greffes d'organes, de tissus, de moelle osseuse, des formes de polyarthrite rhumatoïde, de psoriasis, de dermatite atopique,...

Or, plus de la moitié des fabricants limite l'utilisation du dosage aux seules transplantations rénale, hépatique ou cardiaque selon leur notice. Les fabricants seront interrogés sur ce point.

### **III-5 Spécificité (réactions croisées)**

La directive européenne 98/79/CE précise que la notice d'utilisation doit rapporter notamment les données de spécificité analytique (annexe I B.8.7.h).

Après analyse des notices, il apparaît qu'un nombre variable de métabolites a été testé selon les dispositifs. La pertinence de ces composés n'est pas toujours justifiée.

Selon les experts, les dérivés monohydroxylés de la ciclosporine (métabolites AM9 et AM1), et à moindre titre la ciclosporine N-déméthylée (AM4N), représentent les métabolites principaux. Les concentrations du métabolite AM1 sont comparables à celles de la molécule mère alors que les concentrations d'AM9 sont inférieures de moitié. Le présent rapport propose des recommandations sur ce point (voir chapitre IV).

### **III-6 Autres**

Diverses autres non-conformités au regard de la directive 98/79/CE et remarques ont été relevées dans les notices des dispositifs évalués. Il s'agit notamment des plages de mesure qui ne sont parfois pas indiquées.

## **IV- Discussion –Conclusions –Recommandations**

Le dosage de la ciclosporine est un élément clé de la prise en charge thérapeutique des patients traités, permettant ainsi une adaptation individuelle de la prescription en vue d'améliorer l'efficacité et de limiter la toxicité du médicament. Le résumé des caractéristiques (RCP) du Néoral® et du Sandimmun® mentionne, notamment, que la posologie doit être adaptée en fonction du dosage régulier des concentrations dans le sang total.

La diminution des concentrations de ciclosporine permise grâce à la prescription de cocktail de plusieurs immunosuppresseurs a été cependant accompagnée d'une augmentation du nombre de signalements en réactovigilance liés à des défauts de performance, en particulier

de précision, constatés pour les concentrations faibles (<100ng/ml). Or, le manque de précision pour les concentrations faibles représente un réel problème pour le clinicien qui adapte les posologies aussi précisément que possible, limitant ainsi les effets indésirables sans accroître les risques de rejet.

La directive européenne 98/79/CE prévoit que les dispositifs doivent être conçus et fabriqués de manière qu'ils puissent être utilisés comme spécifié par le fabricant compte tenu de l'état de la technique généralement reconnu. L'évolution des prescriptions doit donc être prise en compte par le fabricant et la conception de son dispositif doit s'adapter à cette nouvelle pratique sans quoi l'utilité du dosage pourrait être remise en question.

La présente étude montre que la plupart des fabricants ont adapté les concentrations des premiers calibrateurs à cette évolution et/ou trouvé des solutions permettant aux dispositifs d'atteindre des performances de précision satisfaisantes pour les concentrations faibles.

En revanche, le choix des fabricants d'afficher comme limite basse de plage de mesure la limite de détection analytique de leur dispositif semble plus discutable. En effet, la limite de détection analytique est la plus petite concentration détectée, c'est-à-dire distincte d'une concentration nulle, et n'est pas un critère de choix pour la détermination de la limite basse de la plage de mesure dans le cas des dosages par compétition. Pour plus de rigueur, la limite de détection fonctionnelle qui représente la plus petite concentration mesurable avec un coefficient de variation inter-séries maximum de 20% est plus adaptée. Concernant la plage de mesure des réactifs, la directive précitée mentionne dans l'annexe I (exigences essentielles point B.8.7.h) que le fabricant ou mandataire doit indiquer dans la notice les caractéristiques de performance analytique notamment la plage de mesure. Le mode de détermination de la plage de mesure est sous la responsabilité du fabricant ou mandataire. Si le fabricant choisit comme limite basse de la plage de mesure la sensibilité analytique de son dispositif, il devrait afficher les performances de précision et d'exactitude dans cette zone de concentration. La sensibilité fonctionnelle de la trousse devrait systématiquement être mentionnée afin de permettre à l'utilisateur de mieux juger du cadre d'utilisation possible du produit.

Au sujet des performances des dispositifs dans les valeurs basses, les données rapportées semblent convenir à la pratique actuelle puisque parmi les sensibilités fonctionnelles affichées la plus élevée indique 40 ng/ml. Une utilisation pour un suivi des taux résiduels (C0) inférieurs à 100 ng/ml semble donc réalisable dans des conditions analytiques acceptables. Les cliniciens sont également en mesure d'adapter les posologies de ciclosporine sur la base des concentrations mesurées 2 heures après la prise (C2). Ce suivi des patients à partir des concentrations plus élevées en C2 évite les problèmes de précision éventuellement rencontrés pour le C0, mais il n'est pas envisageable d'abandonner le C0 qui reste fortement ancré dans les pratiques cliniques de routine. Les fabricants doivent donc continuer leurs efforts en vue d'assurer des performances adaptées aux pratiques actuelles.

L'Afssaps a adressé aux fabricants concernés les non-conformités et remarques relevées lors de ce contrôle, en particulier lorsque le raccordement métrologique ou bien la sensibilité fonctionnelle du dispositif ne sont pas mentionnés dans les notices. L'Afssaps accompagne les fabricants pour la mise en conformité de leurs produits et/ou de leurs notices.

Il semble important de signaler que les progrès technologiques permettent désormais d'envisager l'utilisation en routine d'une technique qui semblait jusqu'alors trop lourde pour

être appliquée au quotidien : la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS). De nombreux centres hospitaliers utilisent d'ores et déjà cette technique en routine pour les dosages d'immunosuppresseurs, dont la ciclosporine. Un fabricant commercialise même un dispositif marqué CE destiné au dosage quantitatif par LC/MS/MS de Tacrolimus. Ce même fabricant travaille actuellement à la mise au point d'un dispositif mesurant quatre immunosuppresseurs différents dont la ciclosporine. Le développement en routine de cette technique plus sensible modifiera sans conteste le marché des dispositifs de dosage des immunosuppresseurs.

Afin d'harmoniser les résultats des différents dosages de ciclosporine (actuels et à venir), l'Afssaps et le groupe d'experts souhaitent diffuser certaines recommandations :

### **Recommandations aux fabricants**

- **Sensibilité fonctionnelle** : la sensibilité fonctionnelle du dispositif doit figurer dans la notice
- **Plage de mesure** : la limite basse de la plage de mesure appropriée est, a minima, la sensibilité fonctionnelle. Dans le cas où l'industriel souhaite fixer une concentration inférieure, la précision attendue (coefficient de variation) à cette concentration devra être mentionnée.
- **Exactitude (justesse)** : le dispositif doit être corrélé à la technique de référence, c'est-à-dire la chromatographie liquide haute performance couplée ou non à la spectrométrie de masse. Le biais attendu du dispositif avec la technique de référence devra être indiqué dans la notice s'il existe.
- **Interférences pertinentes** : en plus des interférences généralement recherchées (hémoglobine, lipides, bilirubine,...), il est recommandé de rechercher a minima les dérivés monohydroxylés de la ciclosporine (métabolites AM9 et AM1) et la ciclosporine N-déméthylée (AM4N).

## **ANNEXE I**

### **Liste des membres du groupe de travail**

Pr Bruno LACARELLE- Hôpital de la Timone de Marseille - Coordonnateur

Dr. Franck SAINT-MARCOUX- CHU de Limoges

Dr Annick MOULY-BANDINI - Hôpital de la Timone de Marseille

Dr Gaëlle LE BRUN – Afssaps

Dr Françoise CHEVENNE – Afssaps

Dr Jean-Marc HATTCHOUEL – Afssaps



## ANNEXE II

### Listes des dispositifs dosage de ciclosporine du marché

| FABRICANT          | NOM DU DISPOSITIF                     |
|--------------------|---------------------------------------|
| BECKMANN COULTER   | Cyclosporine direct RIA               |
| DIASORIN           | CYCLO-Trac SP Whole Blood             |
| MICROGENICS        | Test CEDIA cyclosporine Plus          |
| ROCHE DIAGNOSTICS  | Cyclosporine II Cobas Intergra        |
| ABBOTT GmbH        | Architect Cyclosporine                |
|                    | AXSYM cyclosporine                    |
| SIEMENS HEALTHCARE | DIMENSION Cyclosporine (CSA)          |
|                    | DIMENSION VISTA Cyclosporine (CSA)    |
|                    | EMIT 2000 Cyclosporine Specific Assay |
|                    | Cyclosporine ADVIA                    |

**ANNEXE III**  
**Calibration des dosages de ciclosporine**

| <b>FABRICANT</b>      | <b>NOM DU DISPOSITIF</b>  | <b>Calibrateurs<br/>(hors 0)<br/>(ng/ml)</b> | <b>Matrice<br/>calibrateurs<br/>(hors<br/>conservateurs)</b> |
|-----------------------|---|--|--|
| IMMUNOTECH            | Cyclosporine direct RIA   | Environ 35, 95, 205,<br>535, 2000            | Sérum bovin  |
| DIASORIN              | CYCLO-Trac SP Whole<br>Blood RIA                                    | Environ 20, 61,154,<br>379,1099              | Sérum  |
| MICROGENICS           | Test CEDIA cyclosporine<br>Plus                                     | Environ 25, 442                              | BSA  |
| ROCHE<br>DIAGNOSTICS  | Cyclosporine II Cobas<br>Integra                                    | 50, 100, 200, 350,<br>500                    | Hémolysat de sang<br>total humain                            |
| ABBOTT GmbH           | Architect Cyclosporine  | 40, 150, 400, 800,<br>1500                   | Sang total humain  |
|                       | AXSYM Ciclosporine  | 40, 100,200,400,800                          | Sang humain  |
| SIEMENS<br>HEALTHCARE | DIMENSION CSA   | 100, 200, 350, 500                           | Sang total humain  |
|                       | DIMENSION VISTA CSA   | 100, 200, 350,500                            | Hémolysat de sang<br>total humain                            |
|                       | EMIT 2000 Cyclosporine<br>Specific Assay –<br>Calibration EMIT 2000 | 50, 100, 200, 350,<br>500                    | Hémolysat de sang  |
|                       | Calibration CSAE  | 200, 400, 800, 1400,<br>2000                 | Hémolysat de sang  |
|                       | Cyclosporine ADVIA /<br>ADVIA Centaur XP                            | Environ 50, 100,<br>200, 500, 1000,<br>2000  | Sérum humain   |

## ANNEXE IV

### Performances analytiques des dosages de ciclosporine dans les valeurs basses

| FABRICANT          | NOM DU DISPOSITIF                           | Plage de mesure (ng/ml) | Sensibilité analytique (ng/ml) | Sensibilité fonctionnelle (ng/ml) | Répétabilité (conc faible) CV(%) | Reproductibilité (conc faible) CV(%) |
|--------------------|---|-------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| IMMUNOTECH         | Cyclosporine direct RIA                     | 5-2000                  | 5                              |                                   | 5,8%<br>à 137 ng/ml              | 4,9%<br>à 195 ng/ml                  |
| DIASORIN           | CYCLO-Trac SP Whole Blood RIA               |                         | 8,7                            |                                   | 10,7%<br>à 46 ng/ml              | 16,5%<br>à 91 ng/ml                  |
| MICROGENICS        | Test CEDIA cyclosporine Plus                | 25-2000                 | 25                             | 40                                | 8%<br>à 46 ng/ml                 | 16%<br>à 46 ng/ml                    |
| ROCHE DIAGNOSTICS  | Cyclosporine II Cobas Integra               | 15-500                  | 15                             |                                   | 4,4%<br>à 73,7 ng/ml             | 6,8 %<br>à 73.7 ng/ml                |
| ABBOTT GmbH        | Architect Cyclosporine                      | 30-1500                 | ≤ 25                           | ≤ 30                              | 12,1%<br>à 88,6 ng/ml            | 12,8%<br>à 88,6ng/ml                 |
|                    | AXSYM ciclosporine                          | < 800                   | 9,8                            | 23,2                              | 7,6%<br>à 70,8 ng/ml             | 8,5%<br>à 70,8 ng/ml                 |
| SIEMENS HEALTHCARE | DIMENSION CSA                               | 25-500                  | 25                             | 30                                | 5,2%<br>à 65 ng/ml               | 8,2%<br>à 65 ng/ml                   |
|                    | DIMENSION VISTA CSA                         | 25-500                  | 25                             |                                   | 8,1%<br>à 63 ng/ml               | 8,3<br>à 63 ng/ml                    |
|                    | EMIT 2000 Cyclosporin calibration EMIT 2000 | 40-500                  | 40                             |                                   | < 11,8%<br>à 72 ng/ml            | < 13,8%<br>à 72 ng/ml                |
|                    | calibration CSAE                            | 350-2000                |                                | <350                              | 4%<br>à 402,8 ng/ml              | 7,3%<br>à 402,8 ng/ml                |
|                    | Cyclosporine ADVIA /ADVIA Centaur XP        | 8-2000                  | 8                              | 36                                | 7,1%<br>à 84 ng/ml               | 7,5%<br>à 84 ng/ml                   |