

**Evaluation a priori de l'extension du dépistage néonatal au déficit immunitaire combiné sévère (DICS)**

La feuille de route vise à proposer au Collège une orientation méthodologique pour répondre à une demande d'évaluation inscrite au programme de travail de la HAS. Cette proposition est fondée sur une analyse préliminaire (sur la base d'une faisabilité lorsqu'elle a eu lieu : demandes issues des organismes professionnels ou des institutionnels) ; elle est donc établie avant toute recherche documentaire structurée. Cette orientation sera à confirmer lors du démarrage de l'évaluation (phase de cadrage le cas échéant)

**Validation en CEESP : 13 mars 2018**

**Validation en Collège d'orientation et d'information : 17 mai 2018**

**Demandeur : Direction Générale de la Santé**

## 1. Saisine

Il s'agit d'une demande de la Direction Générale de la Santé (sous-direction santé des populations et prévention des maladies chroniques, bureau maladies chroniques somatiques-MC3).

La DGS souhaite que la Haute Autorité de Santé (HAS) réalise une évaluation de la pertinence du dépistage néonatal du déficit immunitaire combiné sévère (DICS<sup>1</sup>) par quantification des TRECs (T-cell receptor excision circles) afin de savoir si le DICS doit être intégré au programme national de dépistage néonatal en France.

## 2. Contexte

### Maladie et classification

Le DICS, maladie rare mais extrêmement grave, recouvre un large spectre de maladies génétiques caractérisées par un déficit profond de l'immunité cellulaire et humorale (lymphopénie T, anomalies des lymphocytes B voire des lymphocytes NK, natural killer). Ces anomalies entraînent une prédisposition élevée aux infections graves (lors d'une exposition à un agent infectieux ou d'une injection de vaccin vivant). Les enfants atteints sont asymptomatiques à la naissance mais décèdent d'infections dans la première année de vie s'ils ne sont pas identifiés et traités de manière appropriée.

Les principales complications relevées en cas de DICS sont des infections graves (pneumonies, méningites, tuberculose, septicémies...), des diarrhées chroniques, un retard staturo-pondéral, des éruptions cutanées liées à des anomalies hépatiques, etc.

A ce jour, une vingtaine de gènes différents dont les mutations entraînent un DICS, a été identifiée<sup>2</sup>. Différentes formes de DICS sont ainsi classiquement répertoriées dans la classification des DICS selon la ou les anomalies génétiques spécifiques à l'origine du déficit immunitaire : la forme considérée encore récemment comme la plus fréquente (45-50% des DICS) est le DICS lié à l'X (déficience de la chaîne commune gamma des récepteurs des lymphocytes T due à une mutation du gène IL2RG du chromosome X), suivie, du déficit en adénosine désaminase (ADA) (15 %), de la déficience de la chaîne alpha du récepteur IL-7 (11%) et du déficit en Janus kinase 3 (10%).

Toutefois, selon une étude publiée en 2014 (sur 11 états des USA (Kwan 2014<sup>3</sup>)), le DICS lié à l'X ne représenterait que 19% des DICS, les DICS dus à la mutation du gène de la recombinaison RAG1 et ceux dus à la

<sup>1</sup> SCID en anglais

<sup>2</sup> A noter : il y aurait environ 200 mutations connues en rapport avec des déficits immunitaires primaires (toutes lymphopénies confondues)

<sup>3</sup> Kwan & al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in 11 Screening Programs in the United States, JAMA. 2014;312(7):729-738. doi:10.1001/jama.2014.9132

mutation du gène codant pour l'IL7 représentant 15% et 12% respectivement. La synthèse de Van der Spek<sup>4</sup> (2015) sur les études de cohorte en population générale (notamment sur 12 états aux USA), confirme cette moindre fréquence des DICS liés à l'X.

On notera que d'autres mutations génétiques (syndrome du lymphocyte nu, déficit en ZAP 70...) seraient à l'origine de déficits immunitaires combinés moins sévères (DIC).

Par ailleurs, le CLSI (Clinical laboratory Standards Institute) répertorie les « situations cliniques avec TRECs<sup>5</sup> indétectables » comme suit :

- les DICS typiques caractérisés par moins de 300 lymphocytes T autologues/microL qui nécessitent un traitement par greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), thérapie enzymatique ou thérapie génique ;
- les DICS atténués ou syndrome de OMENN qui sont dus à des mutations dites hypomorphiques dans des gènes connus pour les DICS, avec une lymphopénie entre 300 et 1500 lymphocytes T autologues/microL (sans lymphocytes T maternels). Ils sont très sévères cliniquement et nécessitent une greffe de cellules souches hématopoïétiques ou un traitement par thérapie enzymatique ou génique ;
- les DICS variants caractérisés par une lymphopénie entre 300 et 1500 lymphocytes T autologues/microL, sans mutation connue et ayant une fonction T plus ou moins altérée. Ils nécessitent ou non une greffe de cellules souches hématopoïétiques ;
- les syndromes avec lymphopénie T secondaire (< 1500 lymphocytes T autologues/microL) tels les syndromes de Di George, de CHARGE, le déficit en DOCK8 ou l'ataxie-télangiectasie. Ils nécessitent ou non une greffe de cellules souches hématopoïétiques ;
- les lymphopénies T secondaires (< 1500 lymphocytes T autologues/microL) à d'autres pathologies (atrésie gastro-intestinale, chirurgie cardiaque avec ou sans thymectomie, leucémie néonatale. . .) ;
- les lymphopénies T (< 1500 lymphocytes T autologues/microL) des grands prématurés.

### **Incidence (prévalence à la naissance)**

Alors qu'elle était estimée à environ 1/100 000 naissances dans les années 1970-1990, l'incidence du DICS (tous DICS confondus) actuellement retenue est plus élevée, de l'ordre de 1/60 000 naissances [1/66 250 naissances (Kwan 2013<sup>6</sup> ; dépistage en Californie), confirmée par deux synthèses plus récentes : 1/58 000 naissances (Kwan 2014<sup>3</sup> ; 11 états des USA) et 1/58 000 naissances pour les DICS typiques (Van der Spek 2015<sup>4</sup> ; 12 états des USA et quelques études européennes). Cette dernière revue estime l'incidence des lymphopénies non DICS typiques à environ 1/14000 naissances.

Il faut souligner la forte variation de cette incidence des DICS entre les états aux USA.

L'incidence des DICS est très élevée (1/2000-3000 naissances) dans certaines populations amérindiennes (Navajo..) à forte consanguinité.

Ces chiffres d'incidence nécessiteraient une analyse approfondie. En effet, d'une part, il est considéré que l'incidence globale pourrait être sous-estimée, d'autant que des nourrissons décèdent certainement avant l'âge de un an sans que le diagnostic ne soit posé. D'autre part, les données publiées sur l'incidence selon le type de DICS mettent en évidence, dans les études les plus récentes, une répartition des cas selon le type de DICS différente de celle qui était habituellement retenue.

### **Prise en charge thérapeutique**

Le traitement du DICS repose essentiellement sur la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui permet de remplacer le système immunitaire défaillant et de guérir les enfants. Un traitement de substitution enzymatique est aussi proposé pour certains DICS (déficit en ADA notamment). Enfin, la thérapie génique est en cours de développement.

<sup>4</sup> Van der Spek J, Groenwold RHH, van der Burg M et al. TREC based newborn screening for severe combined immunodeficiency disease: a systematic review. J Clin Immunol 2015;35:416-430

<sup>5</sup> Cf. définition dans la section "Test de dépistage neonatal".

<sup>6</sup> Kwan A, Church JA, Cowan MJ et al. Newborn screening for SCID and T cell lymphopenia in California: Results of the first two years. J Allergy Clin Immunol 2013;132:140-150

Il est admis que plus la prise en charge thérapeutique par greffe de CSH a lieu rapidement après la naissance plus son efficacité est importante ; la reconstitution immunologique précoce permettant de protéger le nouveau-né atteint de DICS exposé à de nombreux agents infectieux sources de complications potentiellement mortelles chez ces enfants. Certaines études montrent une survie globale de 96% en cas de greffe de CSH avant 3,5 mois et de seulement 66% si la greffe a lieu après 3,5 mois. Pour rappel, depuis les années 1970, la survie globale des patients transplantés quelle que soit la cause de l'immunodéficience est d'environ 70% ; le taux de survie à 3 ans variant selon le niveau de compatibilité HLA entre 54% et 77% (dans les années 1968-1999) et entre 66% et 90% (dans les années 2000-2005). Ainsi l'âge du nouveau-né lors de la greffe est un facteur pronostique de survie globale et la greffe de CSH apparaît comme une urgence.

Dans l'attente de la greffe (et en phase post-greffe), une prise en charge prophylactique est nécessaire : isolement en enceinte stérile, prescription d'antifongiques, substitution par immunoglobulines, contre-indication des vaccins vivants (BCG, ROR, rotavirus), les autres étant inutiles du fait de l'absence de réponse immunitaire.

### **Test de dépistage néonatal**

Il est proposé pour le dépistage néonatal des DICS d'utiliser la technique de quantification des T-cell receptor excision circles (TRECs). Les TRECs sont les séquences d'ADN excisées lors des réarrangements du récepteur des lymphocytes T (chaines alpha et bêta du TCR : T cell receptor). Ces réarrangements se produisent lors de la maturation des lymphocytes T dans le thymus (thymopoïèse) et les TRECs qui sont ainsi produits sont détectables dans les lymphocytes T du sang périphérique. La quantification des TRECS permet de mesurer la sortie des lymphocytes T matures du thymus (« naives ») et est ainsi un bon marqueur de la qualité de la thymopoïèse. A noter que les TRECS ne sont pas retrouvés dans les lymphocytes T « mémoire » ni dans les lymphocytes B. Ils sont indétectables ou en quantité très faible chez les patients atteints de DICS et chez ceux atteints d'une autre lymphopénie T profonde ; un niveau bas de TRECS étant le reflet d'une lymphopénie T.

La quantification des TRECS utilise une méthode d'amplification génique, la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR). Elle peut être réalisée à partir de 2-3 gouttes de sang prélevées sur un papier buvard, à 72 heures de vie soit au même moment que le prélèvement sanguin systématique actuellement réalisé sur papier buvard (« test de GUTHRIE »).

Ce test de dépistage doit être suivi par un test de diagnostic réalisé auprès des enfants dépistés en cas de quantification TRECS à un niveau très bas, afin de confirmer le diagnostic de DICS (ou de lymphopénie très sévère). Cette étape à visée diagnostique consiste en une exploration des sous-populations de lymphocytes par cytométrie de flux (établissant un nombre de lymphocytes T/microL) suivie, si le diagnostic de lymphopénie T très sévère est confirmé, d'une étude génétique pour identifier la/les mutation(s) à l'origine de la lymphopénie.

Il est important de souligner que la quantification des TRECS par PCR dépiste aussi d'autres lymphopénies très sévères que les DICS.

En pratique, par rapport au programme actuel de dépistage néonatal en France, le dépistage néonatal des DICS nécessitera le prélèvement de 2-3 gouttes de plus de sang pour le test sur papier buvard « GUTHRIE » pour chacun des nouveau-nés (750 à 800 000/an) et un prélèvement de 200 microL de sang pour les nouveau-nés dépistés positifs à la quantification des TRECS (TRECS bas ou absents) pour l'analyse lymphocytaire en cytométrie de flux (et l'étude génétique si nécessaire).

### 3. Étude de faisabilité

#### Etat des lieux sur les programmes de dépistage :

##### ➤ Au niveau international et en Europe :

Aux Etats-Unis, depuis l'étude<sup>7</sup> publiée en 2005 par Chan et Puck sur la technique de quantification des TRECs pour le dépistage des DICS, plusieurs autres équipes aux USA ont confirmé la performance de ce test et sa faisabilité sur papier buvard. Depuis 2010, ce dépistage est recommandé par le Comité fédéral consultatif américain pour les maladies héréditaires (Secretary's Advisory Committee on Heritable Disorders in Newborns and Children - SACHDNC), à charge pour chaque état de le mettre en place. Plusieurs études ont été publiées sur le dépistage des DICS dans les états de Californie, du Wisconsin et du Massachusetts [<sup>3, 4, 6, 8, 9</sup>]. En 2013, le SACHDNC faisait état de 2,85 millions d'enfants testés dans une vingtaine d'états, soit 45 % des naissances de l'ensemble des états. Selon la synthèse de Kwan de 2014<sup>4</sup>, 25 états dont Washington DC et l'état Navajo avaient mis en place le dépistage néonatal systématique des DICS qui concernait ainsi environ 2/3 des nouveau-nés aux USA (dont les 3 millions testés dans les 11 états de la synthèse de Kwan). A ce jour, 95% des nouveau-nés des USA sont dépistés.

Le dépistage généralisé des DICS est également effectif en Ontario, au Canada (en dehors de l'état du Québec), en Israël, à Taiwan et à Hong-Kong. Des études pilotes sont en cours en Nouvelle-Zélande, au Brésil et au Japon.

A ce jour, aucun état-membre de l'Union européenne (UE) n'a mis en place le dépistage généralisé du DICS et aucune recommandation n'a été émise en ce sens au sein de l'UE. Mais des études pilotes ont été réalisées dans certains pays et des réunions entre les équipes de ces pays (notamment Allemagne, Suède, Royaume-Uni, Italie, France) ont lieu dans le cadre du réseau de la Jeffrey Model Foundation, qui soutient les centres de référence sur les déficits immunitaires. Plusieurs pays européens (notamment Pays-Bas, Norvège, Suède, Royaume-Uni, Allemagne, Italie, Espagne) seraient sur le point de mettre en place ce dépistage généralisé. Toutefois, le Royaume-Uni vient de décider de lancer une étude pilote préalable avant de recommander la mise en place du dépistage néonatal systématique des DICS (Gov.uk<sup>10</sup>).

Les associations de patients et de parents d'enfants atteints de déficit immunitaire primitif (IRIS et IPOPI) soutiennent fortement les projets de dépistage néonatal des DICS.

A noter pour information, en Suède, une équipe a travaillé sur le dépistage couplé par amplification génique (PCR) des lymphopénies T et B sévères (technique des KRECs associée à celle des TRECs). Cette stratégie combinée qui permettrait de dépister non seulement les DICS, mais aussi les agamma-globulinémies et hypogammaglobulinémies profondes pourrait être recommandée à l'avenir dans certains pays (y compris aux USA).

##### ➤ Situation en France :

Le projet DEPISTREC est en cours de réalisation. Il a pour but d'étudier la faisabilité du dépistage néonatal généralisé du DICS en France par quantification des TRECs sur papier buvard, son utilité clinique et médico-économique. Il devrait permettre également d'évaluer l'incidence de la maladie sur un large échantillon de prélèvements.

Le projet est développé en collaboration avec le CEREDIH (Centre de référence (des maladies rares) des déficits immunitaires héréditaires) et l'AFDPHE (Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant), avec le soutien de différentes associations nationales et internationales, et avec le financement de la DGOS [PRME refusé en décembre 2012 puis accepté en décembre 2013]. Le promoteur du projet est le CHU de Nantes.

<sup>7</sup> Chan K, Puck JM. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. J pediatr 2005;391-8

<sup>8</sup> Verbsky J, Thakar M, Routes J. The Wisconsin approach to newborn screening for severe combined immunodeficiency. J Allergy Clin Immunol 2012;129:622-7.

<sup>9</sup> Comeau A, Hale J, Pay S, et al. Guidelines for implementation of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. J Inherit Metab Dis 2010;33:273-81.

<sup>10</sup> <https://www.gov.uk/government/news/screening-committee-recommends-trial-of-testing-babies-for-scid>. Dec 2017

Ce projet DEPISTREC fait suite à une étude préliminaire de faisabilité effectuée par le CHU de Nantes en 2012 sur 5028 échantillons frais de sang de nouveau-nés totalement anonymisés et 8 échantillons d'enfants porteurs de DICS (dont le diagnostic avait déjà été porté). Cette étude avait souligné la bonne performance du test de quantification des TRECs sur cartes de Guthrie pour dépister les DICS et les autres lymphopénies T (notamment ses spécificité, sensibilité et reproductibilité élevées) (Audrain 2013<sup>11</sup>). Elle comportait aussi un volet économique.

### **Méthodologie du projet DEPISTREC<sup>12</sup> :**

Il s'agit d'une étude multicentrique, prospective, « comparative », ouverte et non randomisée.

Il était prévu l'inclusion sur une période de 2 ans de 200 000 nouveau-nés sur l'ensemble du territoire français dans 48 maternités, soit un nouveau-né sur 8. La période d'inclusion (qui a débuté en décembre 2014) s'est achevée le 4 février 2017. Tous les nouveau-nés ont bénéficié du test de quantification des TRECs sur papier buvard (kit Enlite néonatal TREC<sup>13</sup> marqué CE développé par la société Perkin-Elmer). Ce projet est adossé au programme national de dépistage néonatal existant ; 2 gouttes de sang supplémentaires sont suffisantes (sur un second papier buvard). Les échantillons sont analysés dans deux laboratoires (Nantes et Lyon).

Deux groupes sont étudiés et comparés : un «groupe dépistage » constitué d'enfants dont le diagnostic de DICS a été porté grâce au dépistage (cas de DICS identifiés parmi les 200 000 nouveau-nés testés) et un groupe témoin d'enfants dont le diagnostic de DICS a été porté suite à des symptômes en l'absence de dépistage (tous les enfants ayant eu un DICS identifié hors dépistage pendant la période d'inclusion, par les pédiatres participants ou par appartenance au registre européen des DIP, soit a priori 30 à 40 enfants).

La durée de suivi des enfants des 2 groupes est de 18 mois.

Les critères de jugement principaux sont :

- l'espérance de vie (avec une modélisation à 10 ans) ;
- le délai de prise en charge, notamment le gain en termes de nombre d'enfants amenés à un traitement curateur dans les 4 premiers mois.

Les critères de jugement secondaires sont notamment : le nombre de jours d'hospitalisation pendant les 18 premiers mois, le coût total de la prise en charge des enfants atteints de DICS entre 0 et 18 mois et le coût total de la prise en charge des enfants atteints de DICS modélisé à 10 ans ainsi que certains autres critères d'analyse économique. La faisabilité du dépistage et de la prise en charge précoce seront considérés lors d'une analyse de sensibilité.

L'analyse en micro-costing doit permettre de préciser le coût moyen par test<sup>14</sup>. Un ratio coût-efficacité de la stratégie de dépistage du DICS sera calculé.

Les résultats seront disponibles au troisième trimestre 2018.

### **Résultats attendus :**

Les résultats descriptifs de l'analyse transversale à l'**inclusion** permettront d'estimer ou préciser à partir des cas observés dans le groupe « dépistage » :

- l'incidence des DICS et celle des lymphopénies «non DICS » (et de les comparer aux données de la littérature) ;
- les paramètres de performance suivants : nombre de faux positifs et sensibilité de la méthode (pour les DICS et les lymphopénies non DICS), pourcentage d'échantillons à retester en duplicat, pourcentage d'enfants à rappeler après le 2<sup>e</sup> test [pour un nouveau buvard et pour une consultation], pourcentage d'enfants à rappeler après 2<sup>e</sup> buvard, pourcentage total d'enfants à rappeler pour une visite ; délai de rendu des résultats biologiques, délai médian de prélèvement du second buvard, délai médian de la

<sup>11</sup> Audrain M, Thomas C, Mirallie S, et al. Evaluation of the T-cell receptor excision circle assay performances for severe combined immunodeficiency neonatal screening on Guthrie card in a French single center study. Clin Immunol 2013;150:137–9.

<sup>12</sup> Thomas C, Audrain M & al. Projet de mise en place du dépistage néonatal systématique des DICS : présentation de l'étude DEPISTREC. Archives de pédiatrie. 2015 ; 22 :646-652.

<sup>13</sup> Ce coffret a été testé aux Pays-Bas et au Royaume-Uni sur des échantillons et est commercialisé en Californie, à Taiwan et en Israël

<sup>14</sup> Test inscrit au RIHN (8,37 euros par test)

prise en charge médicale (consultation en pédiatrie), pourcentage d'enfants pour lesquels la procédure de dépistage est allée à son terme (résultat rendu, rappel effectué, 2nd résultat rendu, consultation et explorations complémentaires effectuées), nombre de perdus de vue et taux de suivi des enfants ;

- le coût du test et du diagnostic.

Les résultats à l'inclusion dans le groupe témoin porteront sur l'analyse des TREC<sub>s</sub> réalisée au moment du diagnostic de DICS et sur celle réalisée à la naissance. Ils permettront de confirmer la sensibilité de la méthode (et le nombre de faux négatifs).

Les résultats descriptifs de **l'analyse du suivi sur 18 mois** seront présentés pour les enfants suivis du groupe dépistage puis comparés à ceux du groupe témoins (analyse comparative) sur les critères suivants :

- le délai de prise en charge thérapeutique, le pourcentage d'enfants amenés à un traitement curateur dans les 4 premiers mois, le type de prise en charge thérapeutique (greffe de CSH (âge lors de la greffe, type de greffe), immunoglobulines...) ;
- l'évolution clinique et biologique des enfants, la fréquence des décès et la durée de survie moyenne des enfants, la fréquence des hospitalisations, l'évolution de la qualité de vie des enfants ;
- l'espérance de vie (avec une modélisation à 10 ans) ;
- les critères médico-économiques (notamment la consommation médicale pendant le suivi...) pour évaluer le coût de la stratégie de traitement/prise en charge (estimé par la méthode de micro-costing) dans chacun des deux groupes.

On remarquera que le protocole prévoit que pour les enfants du groupe dépistage dont le résultat est négatif (TREC<sub>s</sub> normaux) directement ou après confirmation par un second buvard, le statut vital à 18 mois ne pourra être connu que pour les 50 000 premiers inclus mais ne sera pas recherché pour les autres enfants. Toutefois, dans l'hypothèse où aucun d'entre eux n'aura été adressé en centre hospitalier, il devrait être acceptable de considérer qu'il n'y a pas de faux négatif. Pour les enfants du groupe dépistage considérés comme normaux suite à l'exploration lymphocytaire le statut vital à 18 mois devrait être plus facile à rechercher.

Le niveau d'adhésion des centres investigateurs à cette étude sera relevé. Des variations inter-laboratoires sur les techniques seront analysées.

Les résultats de cette étude pilote permettront de préciser le nombre de centres et de laboratoires d'analyse à retenir pour le dépistage national des DICS (selon des considérations à la fois techniques et économiques) et d'établir l'algorithme décisionnel final qui sera utilisé.

Par ailleurs, ils fourniront des éléments de réflexion sur la prise en charge des cas de lymphopénie T non DICS ainsi que sur la prise en charge des prématurés.

Enfin, les résultats de DEPISTREC pourront être comparés à ceux d'autres études européennes.

### **Principales études réalisées à l'international identifiées par la revue de la littérature préliminaire sur le dépistage des DICS (par quantification des TREC<sub>s</sub> sur papier buvard)**

Il ressort de l'analyse de la littérature préliminaire, parmi les nombreuses publications sur ce thème, les trois publications d'intérêt suivantes. Elles présentent des résultats en termes de performance du test de dépistage.

- **L'étude de référence publiée par Kwan en 2013<sup>6</sup>** qui porte sur deux ans de dépistage en Californie, montre que sur 993 724 enfants testés par quantification des TREC<sub>s</sub> sur papier buvard, 0,016 % (n=161) avaient eu une exploration des sous-populations lymphocytaires par cytométrie de flux. Parmi eux, 50 (31%) avaient effectivement des lymphocytes T < 1500/microL ou une absence de lymphocytes T, dont 15 enfants (11 DICS typiques, 3 DICS atténués, 1 syndrome complet de Di George) ont nécessité une thérapeutique restaurant l'immunité par greffe de cellules souches (n = 13), de thymus ou de thérapie génique. Les 35 autres enfants avaient une lymphopénie T, dont 6 étaient atteints d'un DICS variant. Ainsi, ce dépistage a permis de détecter une lymphopénie T (< 1500/microL) avec une incidence de 1/19 000 nouveau-nés (n=50) et une lymphopénie T grave nécessitant un traitement restaurant l'immunité avec une incidence de 1/66 250 nouveau-nés (n=15).

Ce programme a donc permis de dépister non seulement des DICS mais aussi d'autres lymphopénies T nécessitant une prise en charge (limitation du risque infectieux, contre-indication des vaccins vivants).

La performance du test était considérée comme excellente.

Le taux de survie des 15 enfants greffés était de 93 %, comparable à celui observé chez les enfants dépistés en raison d'antécédents familiaux.

- **La synthèse des résultats observés du dépistage des DICS sur onze états des USA (publiée en 2014 par Kwan 2014<sup>3</sup>)** rapporte un dépistage de 52 cas de DICS et 411 cas de lymphopénie T non DICS, soit pour les trois millions de nouveau-nés testés, une incidence pour les DICS de 1/58 000 naissances et une incidence plus élevée pour les cas de lymphopénies non DICS de l'ordre de 1/14000 naissances (selon les états 1/32000 à 1/2100 naissances). Cette synthèse apporte des éléments d'information sur les pourcentages d'enfants re-testés (nouvelle tentative de test sur le papier buvard initial), les pourcentages d'enfants pour lesquels une cytométrie de flux a été réalisée pour confirmation diagnostique, les pourcentages de faux positifs, les pourcentages d'enfants nés « seulement prématurés » ainsi que sur la survie. Ces éléments (si disponibles) sont présentés globalement et par état, pour les DICS et les lymphopénies T non DICS.
- **La synthèse de Van der Spek (publiée en 2015<sup>4</sup>)** met en parallèle des études européennes et américaines sur le dépistage des DICS par la technique de quantification des TRECs. On notera que les études américaines de cette publication comprennent celles de la publication de Kwan 2014<sup>3</sup> (sur les 11 états USA) ; il y a un recoupement entre ces deux synthèses qui fournissent des informations complémentaires. Il est important de préciser que dans cette synthèse, les cas diagnostiqués sont présentés selon deux catégories : DICS typiques et autres lymphopénies (« non DICS typiques »), ce qui n'est pas le cas de la majorité des autres publications (notamment de la synthèse de Kwan 2014<sup>3</sup> où la présentation se fait selon les DICS et les « lymphopénies non DICS »).

Les résultats sont présentés selon les 3 types d'études répertoriées :

- les études de cas (DICS ou lymphopénies T, déjà connus en dehors d'un dépistage) pour lesquelles 89 cas de DICS (dont 58 DICS typiques) et 101 cas de « lymphopénies non DICS typiques » ont été confirmés [Suède, Japon, Italie, Royaume uni, Israël, Californie].
- les études de cohorte en population générale de nouveau-nés [Taiwan, Winsconsin, 11 états des USA<sup>3</sup>] pour lesquelles ont été dépistés (et diagnostiqués) sur les 3,15 millions de nouveau-nés testés, 53 cas de DICS typiques et 494 cas de « lymphopénies T non DICS typiques ». L'incidence du DICS typique était de l'ordre de 1/58 000 naissances soit environ 1,7/100 000 naissances [1-26/100 000 selon les études]. Celle des « lymphopénies non DICS typiques » variait de 5 à 48/100 000.
- les études de cohorte pilotes [France, Royaume uni, Suède] pour lesquelles quelques données étaient présentées mais sans évaluation possible du nombre de cas (ni donc de l'incidence), ni de la valeur prédictive positive (VPP).

Cette revue tente de répertorier (sur la base des informations disponibles) pour chacune des études le matériel utilisé et les paramètres de l'algorithme choisi [le seuil de TRECs/microL, le niveau du contrôle de l'amplification par PCR (nombre de copies/microL), le seuil de cellules T /microL (CD3 notamment) à la cytométrie de flux]. Les résultats sur la performance du test, pour les DICS et les « lymphopénies T non DICS » sont présentés. Ils concernent, outre les (4) variables précédemment citées dans la synthèse de Kwan 2014<sup>3</sup>, la sensibilité, la VPP si calculable, le pourcentage de nouveaux prélèvements (nouveau papier buvard) notamment. Les incidences respectives des DICS et des « lymphopénies non DICS » diagnostiqués calculées sont présentées.

### **Éléments d'information sur la performance du test de dépistage des DICS apportés par ces trois publications:**

Les résultats présentés, tirés des données disponibles issues majoritairement d'études américaines, permettent d'apprécier la performance du test de dépistage des DICS (par la technique de quantification des TRECs sur papier buvard). Ils ne sont pas détaillés dans cette feuille de route.

Les auteurs des deux synthèses (Kwan 2014<sup>3</sup>, Van der Spek 2015<sup>4</sup>) insistent sur le manque d'uniformité relevé sur de nombreux paramètres méthodologiques entre les études (réalisées dans 11 états des USA) à savoir les techniques/règles/seuils choisis pour la quantification des TRECs par PCR [seuil de TRECs/microL, niveau du contrôle de l'amplification par PCR (nombre de copies/microL)] et les algorithmes choisis (étapes des tests de dépistage et de diagnostic, notamment le seuil retenu de cellules T /microL (CD3) à la cytométrie de flux). Il est souligné que cette variabilité méthodologique entre les études existe en dépit de l'adhésion globale (de chaque état) aux guidelines du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

## 4. Problématiques émergeant de l'étude préliminaire

Pour s'assurer de la pertinence de la mise en place du dépistage néonatal systématique des DICS en France, il conviendra de tenir compte plus particulièrement des problématiques suivantes qui ont émergé de l'étude préliminaire :

➤ Devant l'hétérogénéité des situations cliniques et biologiques possiblement concernées par le dépistage des DICS, il convient de s'assurer que certains points soient pris en considération. D'une part, il existe plusieurs types de DICS (au moins une vingtaine d'anomalies génétiques connues à ce jour) et d'autre part, le CLSI (Clinical laboratory Standards Institute) répertorie des « situations cliniques avec TRECs indétectables » dont seulement certaines sont des DICS (DICS typiques, DICS atténués ou syndrome de Omenn, DICS variants) ; les autres étant aussi des lymphopénies T graves mais « non DICS » (Syndromes de Di George, de Charge, autres lymphopénies T secondaires). Les publications ne sont pas toutes homogènes en termes de classification de certaines pathologies/syndromes ou de présentation des résultats (regroupement particulier de classes....).

La question se pose donc du périmètre des situations cliniques qui pourraient être concernées par le dépistage néonatal et notamment de l'intégration des autres lymphopénies profondes que les DICS. Si tel était le cas, les lymphopénies T « non- DICS » étant plus fréquentes que les cas de DICS, leur dépistage aura des conséquences plus importantes en termes de prise en charge thérapeutique ainsi qu'en termes économiques.

➤ L'étude préliminaire de la littérature a montré une grande variabilité entre les études (notamment dans 11 états des USA) pour de nombreux paramètres méthodologiques choisis (en termes de techniques de laboratoire pour quantifier les TRECs par PCR, règles, algorithmes, seuils de TRECs/microL, seuils de cellules T /microL, etc.) et ce, en dépit de l'adhésion globale de chaque état aux guidelines du CLSI (Clinical laboratory Standards Institute). Le choix de chacun de ces paramètres est très important car il peut avoir un impact sur les performances du dépistage et les conséquences (notamment médicales, éthiques, économiques) qu'il est susceptible d'engendrer. Plusieurs questions importantes devront être ainsi abordées :

➔ Choix du seuil de TRECs :

Les seuils de TRECs retenus ne sont pas identiques selon les études. Si le seuil retenu reste majoritairement égal 25 TRECs/microL (<25 TRECs/microL), des valeurs extrêmes sont retenues dans certaines études allant de <7 à < 252 TRECs/microL (notamment pour les 5 grandes cohortes américaines de 25 à 250 TRECs/microL).

Il est relevé (Van der Spek 2015) que parmi les 74 cas de DICS typiques pour qui le niveau de TRECs était connu (sur les 58+53 cas de DICS typiques diagnostiqués sur les études de cas et les cohortes en population générale), seuls 2,7% (2 cas) n'ont pas été détectés avec un seuil de 20 TRECs/microL. Ce pourcentage était de 4,1% avec un seuil de 10 TRECs/microL.

Il faut rappeler que si la diminution du niveau du seuil de TRECs réduira le nombre de re-tests et le nombre d'échantillons référés en cytométrie de flux, elle ne devrait pas diminuer la sensibilité du dépistage des DICS (leur identification étant encore effective (à des seuils très bas)). Par contre, il n'en est pas de même pour les « autres lymphopénies » qui seront moins détectées. En effet, il semble qu'en utilisant un seuil de 25 TRECS/microL quasiment tous les cas de DICS devraient être détectés (leur niveau individuel de TRECS étant quasiment toujours < à 25 TRECS/microL) mais seule la moitié des «autres lymphopénies» le sera.

En conséquence, le niveau de seuil de TRECS choisi doit tenir compte aussi de la définition du périmètre du dépistage et notamment du type de « lymphopénie non DICS » que l'on veut diagnostiquer.

➔ Choix du seuil de lymphocytes T/microL à la cytométrie de flux :

Quel que soit le seuil retenu dans les études (très variable, 1500 à 2500 voire 3500 lymphocytes T/microL), un DICS typique, un DICS atténué et un syndrome de OMMEN sont toujours diagnostiqués (leur taux de cellules T/microL étant sinon <= 300 lymphocytes T/microL au moins compris entre 300 et 1500 lymphocytes T/microL). Par contre, les DICS variants et les « lymphopénies non DICS » risquent de ne pas être diagnostiqués si le seuil retenu est trop bas. Ainsi, le choix du seuil de lymphocytes T /microL doit prendre en considération le nombre de cas de « lymphopénies non DICS » que l'on veut diagnostiquer.

- Il est très souvent souligné dans la littérature que la sensibilité et la spécificité de la quantification des TRECs pour le dépistage des lymphopénies T sévères sont très élevées (100%-99%). Par contre, il est observé une variabilité du taux de faux positifs entre les études qui, selon les auteurs, résulterait de celle des seuils de TRECs et de lymphocytes T/ microL choisis. Les éléments d'information sur les paramètres de performance du test de dépistage des DICS par quantification des TRECs sont toutefois plutôt éparses. Une recherche plus approfondie semble nécessaire pour avoir une estimation plus précise du taux de faux positifs, de la VPP, de la sensibilité, de la spécificité et de la reproductibilité et ainsi mieux apprécier la performance de ce test de dépistage.
- L'intérêt du dépistage des DICS par test de quantification des TRECs en cas de prématurité et/ou en cas de prise en charge du nouveau-né en réanimation devra être évalué.

## 5. Périmètre de l'évaluation et méthode proposée de réalisation

La saisine portant sur la pertinence du dépistage néonatal des DICS par quantification des TRECs. Il ne sera pas réalisé d'évaluation de l'intérêt d'associer la détection des KRECs, technique de dépistage des lymphopénies B, à celle des TRECs.

Les travaux proposés auront pour objectif d'évaluer si le dépistage néonatal des DICS remplit les critères de l'OMS (critères de Wilson et Jungner, OMS 1970), révisés par l'ANAES en 2004, nécessaires à la mise en place d'un « programme de dépistage systématique ».

Il conviendra d'apporter à la fois, une réponse aux questions qui sont habituellement posées en vue d'une évaluation d'un programme de dépistage (conformément au guide de l'ANAES de 2004) et une réponse aux problématiques particulières au dépistage des DICS soulevées par l'analyse préliminaire (présentées au paragraphe précédent). Ainsi, l'évaluation portera sur les questions suivantes :

### Sur la(les) maladie(s) considérée(s) :

Il faudra s'assurer qu'elle(s) peut(peuvent) entrer dans le cadre d'un dépistage systématique, à savoir qu'elle(s) respecte(nt) certains critères (asymptomatique à la naissance, fatale en l'absence de traitement...) et que, bien que ces maladies soient rares, on peut considérer que le DICS et les lymphopénies T constituent un problème de santé publique (du fait de leur gravité et de leur prise en charge coûteuse, par greffe de CSH....).

Les « DICS » constituant des situations cliniques hétérogènes, il importera de définir avec précision, selon les différentes classifications (celle des différentes formes de DICS et celle des différentes « situations cliniques avec TRECs indétectables »), les maladies que l'on souhaite dépister. Et ainsi répondre aux deux questions suivantes : faut-il limiter le dépistage aux DICS typiques ou l'étendre aux DICS atténués et/ou aux DICS variants voire aux DIC (anomalies génétiques spécifiques) ? Faut-il détecter non seulement les DICS ou aussi les autres formes de lymphopénies T (en spécifiant lesquelles) qui nécessitent une prise en charge thérapeutique (parfois par greffe de CSH) ?

Et, selon les maladies qui seront retenues, il conviendra de définir avec précision les seuils qui seront retenus pour la quantification des TRECs et pour l'exploration lymphocytaire en cytométrie de flux.

### Sur l'intervention thérapeutique :

On s'assurera de l'existence d'un traitement du DICS/des lymphopénies profondes dont l'efficacité est démontrée. Certains points seront particulièrement à développer pour répondre à certaines questions qui persistent.

Ainsi, le traitement du DICS repose essentiellement sur la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et pour certains DICS (déficit en ADA) sur un traitement de substitution enzymatique. La thérapie génique est en cours de développement.

S'il est admis que la prise en charge médicale du DICS doit être la plus rapide possible, des études ayant montré que plus la greffe de CSH a lieu rapidement après la naissance (avant trois mois) plus son efficacité est élevée, des informations complémentaires sur la durée de survie des nouveau-nés/enfants (à court et long

termes) de même que sur la qualité de la survie (cliniques et autres....) seront toutefois à rechercher pour préciser le niveau de preuve de la démonstration de l'efficacité de la greffe de CSH chez le nouveau-né. Ces données chiffrées seront obtenues par une analyse de la littérature approfondie, l'étude pilote DEPISTREC et complétées par les avis d'experts.

#### Sur le diagnostic de la/des maladie(s) recherchée(s) :

La séquence des procédures pour les nouveau-nés qui ont un résultat positif au test de dépistage (prélèvement de sang pour analyse cytologique des sous-populations lymphocytaires par cytométrie de flux, éventuellement suivie d'une étude génétique) est-elle validée par une politique consensuelle ? En effet, si la séquence semble a priori validée, le choix du seuil de lymphocytes T de confirmation du diagnostic de lymphopénie T (suivie par une analyse génétique éventuelle) devra être discuté notamment au regard du type de « lymphopénie T non DICS » que l'on veut diagnostiquer. Ce seuil devra être établi de façon consensuelle et en tenant compte du fait que la fréquence des lymphopénies non DICS étant nettement plus élevée que celle des DICS, leur dépistage risque d'augmenter considérablement le nombre de cas de lymphopénies T à prendre en charge et donc la pression sur le système de santé.

#### Sur le test de dépistage :

La recherche des TRECs par la technique de quantification des TRECs par PCR est la plus reconnue et recommandée à ce jour. Une analyse plus approfondie sera nécessaire pour confirmer les performances du test de dépistage par quantification des TRECs en déterminant les paramètres suivants : la sensibilité, la spécificité, la VPP, la VPN, la fréquence des faux positifs et faux négatifs, la reproductibilité du test. Les effets ou conséquences indésirables du test devront aussi être précisés.

Il importera également de répondre aux questions suivantes :

Y-t-il bien un accord sur ce qu'est un résultat normal/anormal/limite pour la quantification des TRECs ?

Le choix du seuil des TRECs devra être argumenté précisément (conséquences positives et négatives de ce choix sur toutes les étapes).

Par ailleurs, l'acceptabilité du test de dépistage par la population est-elle satisfaisante ? Les éléments de réponse déjà évoqués seront repris ici. Il s'agit d'un prélèvement de deux gouttes (à 3) de sang supplémentaires sur carton buvard de Guthrie ; l'utilisation de ces cartons est déjà acceptée actuellement en France pour la recherche des cinq autres pathologies chez tous les nouveaux nés. Pour l'étape diagnostique qui concernera moins d'enfants (enfants avec TRECs bas), il s'agit d'un prélèvement de 200 microL de sang qui devrait être bien accepté.

Enfin, quel test de quantification des TRECs sur papier buvard sera utilisé pour le dépistage systématique ? Est-il possible de choisir le Kit utilisé pour le projet DEPISTREC [Kit Enlite néonatal TREC développé par la société Perkin-Elmer (marquage CE en aout 2013) ? Existe-t-il d'autres tests disponibles ?

Par ailleurs, la place potentielle que pourrait avoir à l'avenir un test génétique de dépistage/diagnostic des DICS (voire de certains syndromes lymphopéniques) [par recherche directe de(s) mutation(s) génique(s) responsable(s)] devra être pris en considération lors de cette réflexion ; notamment dans le cadre d'un éventuel développement du séquençage de l'ADN humain (de certains exomes spécifiques ou de la totalité du génome humain) avec tous les enjeux éthiques que cela comporte.

#### Sur le programme de dépistage:

Est-il prouvé que ce programme a une balance bénéfico-risque satisfaisante ?

Quel est le risque relatif pour la population examinée comparée à une population de contrôle ? Et quelle est la réduction de risque absolu en termes de mortalité des nouveau-nés ?

Les effets négatifs potentiels du programme de dépistage seront présentés (notamment les conséquences des faux positifs et faux négatifs..) ; ces effets étant aussi bien physiques que psychologiques.

Il faudrait aussi pouvoir situer le bénéfice obtenu par ce programme par rapport à celui obtenu par d'autres programmes de dépistage néonatal.

Il semble important d'estimer l'efficacité de ce dépistage de manière quantitative (au vu des données de la littérature et des résultats de l'étude pilote), notamment en estimant :

- Pour 100 000 enfants dépistés : le nombre de cas non identifiés, le nombre de cas traités, le nombre d'enfants qui en tireront un bénéfice en réalité, le nombre d'enfants classés en cas limites et les conséquences pour eux ;
- Le nombre d'enfants à dépister, notamment pour identifier un cas traitable de DICS ou pour apporter un bénéfice à un enfant (ie avoir un DICS traité efficacement).

L'intérêt du dépistage des DICS par test de quantification des TRECs en cas de prématurité et/ou en cas de prise en charge du nouveau-né en réanimation devra être discuté.

Sur le coût et l'efficience du programme de dépistage et les conséquences médico-économiques de sa mise en place.

Quel est le coût d'un test de dépistage des TRECs et celui des autres prélèvements de confirmation diagnostique chez les enfants testés positivement (TRECs bas) ?

Par ailleurs, on confirmera que le coût de la prise en charge thérapeutique (notamment la greffe de cellules souches) est moindre en cas de greffe précoce. L'efficience du programme de dépistage des DICS sera alors évaluée.

L'étude pilote DEPISTREC ayant un volet d'analyse médico-économique (avec notamment une estimation du ratio coût-efficacité de la stratégie de dépistage du DICS) permettra d'apporter des réponses à ces questions.

Sur la dotation en personnel et en équipement nécessaire à ce dépistage :

Les compétences à exiger pour mettre en place un dépistage d'une telle ampleur sont-elles identifiées avec précision ? Quels équipements seront nécessaires et dans quelles structures ? Par rapport à l'existant, des recrutements et formations seront-ils nécessaires ?

Une centralisation de l'analyse des échantillons dans un nombre restreint de laboratoires équipés pour la quantification des TRECs doit-elle être envisagée (pour s'assurer du bon niveau de l'expertise et/ou pour des raisons économiques) ?

En cas de restriction du nombre de laboratoires sollicités pour l'analyse, il faut prévoir en conséquence une adaptation/modification du circuit d'acheminement des échantillons une fois prélevés.

L'impact sur les structures de prise en charge en aval et notamment sur la capacité de prise en charge des nouveaux cas diagnostiqués devra être considéré.

Sur la gestion de la qualité :

Il conviendra aussi de s'assurer de la bonne gestion de la qualité (comment est gérée et contrôlée l'assurance qualité et quels standards d'assurance qualité reconnus par la communauté médicale seront recommandés ?)

Ceci est d'autant plus important que le test de dépistage des DICS repose sur un test de biologie moléculaire quantitative (analyse des TRECs) qui nécessite préalablement une gestion particulière du cheminement des échantillons prélevés sur buvard de Guthrie, notamment un flux propre des tubes de prélèvement qui doit être distinct du système d'extraction classique sur plateforme (par robot) effectif à ce jour pour le dépistage néonatal (5 pathologies) en France. Il importe donc de s'assurer de la qualité de cette phase pré-analytique en l'encadrant au maximum (utilisation d'un appareil (poinçon puncheur) dédié à ces prélèvements, formation des techniciens, contrôle strict des laboratoires ....).

Sur les considérations éthiques :

Il importera d'évaluer les conséquences pour l'enfant et sa famille de l'existence de faux-négatifs et/ou de faux positifs lors du test de dépistage par quantification des TRECs ainsi que de la détection des formes de lymphopénies T non DICS (selon le périmètre qui sera retenu). On s'assurera du respect des règles déontologiques en définissant les modalités pratiques du dépistage notamment en termes de consentement des parents de conservation des échantillons, de maintenance de la base de données, de respect de l'anonymat, du rendu des résultats et en s'assurant de leur bonne application.

## 6. Actions envisagées en pratique pour la conduite de l'évaluation

→ Une étude pilote « DEPISTREC » est en cours de réalisation. Les résultats de cette étude devraient permettre d'évaluer la faisabilité de la mise en place de ce dépistage et de préciser les modalités les plus appropriées pour l'éventuelle mise en place du dépistage néonatal des DICS en France.

→ La production envisagée répondra au format d'une recommandation en santé publique. L'évaluation sera conduite et coordonnée au sein du Service évaluation économique et de santé publique (SEESP) par un chef de projet. Une documentaliste ainsi qu'une assistante documentaliste seront associées à ce travail.

Une revue de littérature sera réalisée pour compléter l'analyse préliminaire réalisée et répondre aux différentes questions posées. La rédaction de la recommandation impliquera la participation d'un groupe pluridisciplinaire d'experts (groupe de travail-GT). Il sera constitué de manière à réunir les professionnels de santé de compétences et de modes d'exercice pertinents par rapport à la thématique abordée. La constitution suivante est proposée : biologistes, pédiatres et néonatalogistes, hématologues et immunologistes, gynécologues-obstétriciens, médecins généralistes, généticiens, sages-femmes, épidémiologistes / médecins de santé publique, économistes, spécialistes des questions éthiques et juridiques, spécialistes en sciences sociales, représentants d'associations de patients/parents, représentants d'institutions publiques impliquées (Santé Publique France, Agence nationale de sécurité sanitaire des médicaments et des produits de santé, Agence de la Biomédecine).

Les responsables du Projet DEPISTREC seront auditionnés par le groupe d'experts (GT).

Une analyse des bases de données administratives pourrait être envisagée (si besoin). La recommandation finale sera examinée par la CEESP, puis soumise au Collège pour validation finale.

Ce travail s'inscrit dans le cadre global des travaux de la HAS sur l'extension du DNN à plusieurs pathologies au sein de la nouvelle organisation nationale du DNN (saisines distinctes de la DGS). Une réflexion a été lancée en parallèle sur les critères d'évaluation du DNN et sur l'identification des enjeux éthiques associés au DNN.

Le groupe de travail constitué pour les travaux sur l'extension du DNN au DICS comportera donc un sous-groupe d'experts commun au GT constitué pour les travaux sur l'extension du DNN aux erreurs innées du métabolisme. L'élaboration concomitante de ces deux recommandations figurant au programme de travail de la HAS pour 2018 se fera ainsi de façon synergique.

## 7. Calendrier prévisionnel

Le calendrier prévisionnel suivant peut être proposé :

- **Cadrement du sujet, recherche documentaire et analyse non exhaustive de la littérature** (T1-T2 2018)
- **Constitution du groupe de travail (GT)** (T2 2018)
- **Résultats de l'étude pilote en cours « Projet DEPISTREC »** (T3 2018)
- **Réunions du GT:** (T3 2018 à T2 2019)
- **Rédaction de la recommandation** (T2 2019)
- **Validation par les différentes instances de la HAS du rapport final** (T3 2019)



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables  
sur [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)