

Avis

Évaluation de neuf analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois* *et système de mesure des procédures* *de biologie médicale*

Transmission au ministre : 23 décembre 2015

Publication officielle : 22 février 2016

Une production de l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux

Le présent avis est produit par l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) qui assume l'entière responsabilité de sa forme et de son contenu définitifs.

Chaque analyse a été évaluée avec une approche méthodologique qui prend en considération, notamment, les facteurs suivants :

- la pertinence clinique;
- la validité clinique;
- la validité analytique;
- les conséquences prévisibles sur les ressources du système de santé et de services sociaux de l'introduction de l'analyse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

Équipe de projet

Direction

Michel LeBrun, M.B.A., Ph. D.

Coordination

Éric Potvin, Ph. D.

Professionnels scientifiques

Simon Bélanger, M. Sc., M.B.A.

Frédéric Breton, B. Sc.

Andrée Fortin, Ph. D.

Anne Fortin, B. Pharm., M. Sc.

Catherine Gravel, M. Sc.

Phuong Hua, M. Sc.

Elena Morarescu, M. Sc.

Éva Tsakonas, M. Sc.

Recherche d'information scientifique

Caroline Dion, MBSI, *bibl. prof.*

Mathieu Plamondon, MSI

Soutien documentaire

Flavie Jouandon

Édition

Responsable

Renée Latulippe

Coordination

Véronique Baril

Révision linguistique

Révision Littera Plus

Mise en pages

Marie-Andrée Houde

Vérification bibliographique

Denis Santerre

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2016

Bibliothèque et Archives Canada, 2016

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)

ISBN 978-2-550-75187-8 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2016

La reproduction totale ou partielle de ce document est autorisée à condition que la source soit mentionnée.

Pour citer ce document : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Évaluation de neuf analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Québec, Qc : INESSS; 2015. 189 p.

L'Institut remercie les membres de son personnel qui ont contribué à l'élaboration du présent document.

Responsabilité

L'Institut assume l'entière responsabilité de la forme et du contenu définitifs du présent document. Les conclusions ne reflètent pas forcément les opinions des personnes consultées dans le cadre de ce dossier.

Déclaration de conflit d'intérêts

Tous les membres du comité scientifique ont rempli un formulaire de déclaration de conflit d'intérêts. Les conflits potentiels sont indiqués à la section 1 *Information générale* de chacun des avis (encadré).

COMITÉ SCIENTIFIQUE – ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Président

François Rousseau, M.D., FRCPC

- Médecin biochimiste, CHU de Québec

Vice-président

Lambert Busque, M.D., FRCPC

- Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Membres

Lorraine Caron

- Consultante en éthique

Guy Fink, Ph. D.

- Biochimiste clinique, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

Louis Gaboury, M.D., Ph. D.

- Anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM

Annie-Claude Labbé, M.D., FRCPC

- Microbiologiste infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

David Rosenblatt, M.D., FRCPC

- Pédiatre, généticien, Hôpital général de Montréal

Maude Saint-Jean, M.D.

- Pédiatre, microbiologiste médicale et infectiologue, maladies infectieuses, Hôpital Fleury

Membre citoyen

Suzanne K. Bédard

- Conseillère en évaluation des technologies, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

LISTE DES ANALYSES

DÉTECTION DES MUTATIONS DU GÈNE <i>MEFV</i> POUR LE DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE (RÉFÉRENCE – 2014.03.03)	1
DOSAGE DES ACYLGLYCINES URINAIRES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLÉE À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE EN TANDEM (RÉFÉRENCE – 2014.03.09).....	18
DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (ESSAI HPLC-HMSA) ET PAR ELISA (IMMUNOESSAI) (RÉFÉRENCES – 2015.01.01 ET 2015.04.01)	39
CANCER COLORECTAL HÉRÉDITAIRE - PANEL DE 7 GÈNES ANALYSÉS PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (RÉFÉRENCE – 2015.01.02).....	65
MESURE DE L'AVIDITÉ DES IMMUNOGLOBULINES G SPÉCIFIQUES AU CYTOMÉGALOVIRUS PAR DOSAGE IMMUNOLOGIQUE MICROPARTICULAIRE EN CHIMILUMINESCENCE (RÉFÉRENCE – 2015.02.001)	86
RECHERCHE DES MUTATIONS K27M ET G34V/R DANS LES HISTONES DES TUMEURS CÉRÉBRALES PÉDIATRIQUES COMME MARQUEURS DIAGNOSTIQUES DES ASTROCYTOMES DIFFUS DE HAUT GRADE (RÉFÉRENCES – 2014.02.004 ET 2015.02.002)	107
PANEL DE HUIT GÈNES - ANALYSE DE MUTATIONS SOMATIQUES PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION POUR LE TRAITEMENT PERSONNALISÉ DU CANCER (RÉFÉRENCE – 2015.02.03)	125
DOSAGE DU (1-3)- β -D-GLUCANE SÉRIQUE (RÉFÉRENCE – 2015.02.04)	149
ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE <i>CSF3R</i> (RÉCEPTEUR DU G-CSF).....	167

DÉTECTION DES MUTATIONS DU GÈNE *MEFV* POUR LE DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE (RÉFÉRENCE – 2014.03.03)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital général juif de Montréal

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 23 décembre 2015

1.3 Date de publication de l'avis : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le Dr David Rosenblatt n'a pas participé aux délibérations et il s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

L'analyse consiste en une réaction en chaîne de la polymérase (de l'anglais *polymerase chain reaction* ou PCR) multiplex suivie d'une extension d'amorce spécifique à l'allèle (de l'anglais *allele specific primer extension*, ASPE) utilisant la plateforme de Luminex® xTAG® pour la détection de mutations dans le gène *MEFV*.

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Ce test, adapté par le demandeur, est basé sur la technologie xTAG® de Luminex® et il comprend cinq étapes : 1) une PCR multiplex, 2) le traitement des produits PCR, 3) une ASPE multiplex, 4) l'hybridation avec les billes, et 5) la détection et l'analyse des résultats.

Brièvement, l'échantillon d'ADN génomique est soumis à une amplification simultanée des régions d'intérêt du gène *MEFV* (E148Q, M680I, M694V, M694I et V726A). Le produit de la réaction PCR est ensuite soumis à une ASPE multiplex. L'extrémité 5' des amorces de l'ASPE est attachée à une séquence de repérage universel xTAG et chaque produit de génotypage réagit selon son génotype (séquence mutée ou sauvage). La séquence en 5' du marqueur est ensuite hybridée à la séquence anti-tag complémentaire couplée à un jeu de microbilles. La réaction est finalement incubée avec le conjugué streptavidine-r-phycoerythrine, puis détectée par le système xMAP® de Luminex®, permettant ainsi l'analyse des résultats à l'aide d'un logiciel.

2.3 Modalités d'administration du test

Cette analyse sera réalisée sur des échantillons de sang de patients chez qui un diagnostic de fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est soupçonné. Le test sera effectué une fois tous les deux mois en fonction de la demande. Le temps de réponse est de 4 à 5 jours.

2.4 Société ou développeur

Le demandeur utilise la plateforme Luminex® xTAG® (Luminex Corporation) qu'il a adaptée à la détection de certaines mutations (E148Q, M680I, M694V, M694I et V726A) du gène *MEFV*.

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Ne s'applique pas.

2.6 Valeur pondérée : 189,06

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés sont principalement des enfants qui présentent des attaques sporadiques et imprévisibles de fièvre accompagnées d'inflammation séreuse et chez qui l'on soupçonne une FMF. La majorité des personnes atteintes de la FMF appartiennent à des groupes ethniques originaires de la Méditerranée, dont les juifs Séfarades, les Arméniens, les Turcs, les Nord-Africains, les Arabes, les Grecs et les Italiens [Papadopoulos *et al.*, 2008].

3.2 Description de la maladie visée

La FMF est une maladie héréditaire autosomique récessive caractérisée par de brèves crises fébriles (< 3 jours) à intervalles variables, généralement accompagnées d'inflammation séreuse et de douleur abdominale et, plus rarement, d'arthrite et de lésions cutanées érythémateuses. Certains éléments tels que des infections récurrentes, un stress physique ou émotionnel et le cycle menstruel peuvent déclencher des crises. L'amylose rénale, une complication sévère de la FMF, est la principale cause de mortalité associée à cette maladie [Berkun *et al.*, 2012].

Le gène *MEFV* code pour une protéine nommée pyrine (ou marénostrine) qui est principalement exprimée dans les lignées cellulaires myéloïdes. La pyrine joue un rôle dans la réponse inflammatoire ainsi que dans l'apoptose [Berkun et Eisenstein, 2014]. Plus de 300 variants de la séquence du gène *MEFV* ont été répertoriés, mais seulement 14 de ceux-ci sont fréquemment trouvés chez les patients atteints de FMF (E148Q, E167D, T267I, P369S, F479L, I591T, M680I, I692del, M694I, M694V, K695R, V726A, A744S, R761H) [Giancane *et al.*, 2015; Touitou, 2014]. Parmi ces variants, E148Q, M680I, M694V, M694I et V726A sont les mutations les plus fréquemment observées (~75 %) chez les individus porteurs originaires de la Méditerranée [Giancane *et al.*, 2015]. Par ailleurs, les mutations du gène *MEFV* ne semblent pas être la seule cause de la FMF, puisque d'autres gènes et certains facteurs environnementaux pourraient également jouer un rôle dans le développement de la maladie [Berkun et Eisenstein, 2014; Papadopoulos *et al.*, 2008].

Le traitement prophylactique standard des patients atteints de la FMF est la colchicine. Le traitement à la colchicine prévient les crises de la FMF chez les enfants et les adultes, améliorant ainsi la qualité de vie des personnes atteintes. La colchicine semble être le seul

traitement qui prévient l'amylose secondaire à la FMF. Par ailleurs, un antagoniste de l'interleukine-1 est recommandé chez les patients résistants à la colchicine [Hentgen *et al.*, 2013].

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

Le demandeur estime que la prévalence de la FMF au Québec serait inférieure à 1 %. Il prévoit réaliser près de 25 analyses par année au cours des 3 prochaines années¹.

3.4 Spécialités médicales concernées

Médecine de famille, médecine interne, urgence, chirurgie générale, rhumatologie, gastro-entérologie, hématologie, génétique, néphrologie, pédiatrie

3.5 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic de la FMF est basé sur l'investigation clinique des symptômes de la maladie, en plus d'être suggéré par l'origine ethnique et l'historique familial du patient [Berkun et Eisenstein, 2014]. Les critères diagnostiques de la FMF de Tel Hashomer sont présentés à l'annexe A [Sohar *et al.*, 1967].

L'analyse du gène *MEFV*, complémentaire à l'examen clinique et à l'historique familial du patient, est présentement effectuée à l'extérieur du Québec, soit à l'hôpital pour enfants et femmes de Colombie-Britannique (*British Columbia Children's & Women's Hospital*) ou par la compagnie GeneDx (Gaithersburg, Maryland, États-Unis).

3.6 Données médico-administratives

Selon les données du MSSS, 101 analyses du gène *MEFV* ont été effectuées à l'extérieur du Québec entre 2012-2014. Parmi ces analyses, 83 ont été envoyées en Colombie-Britannique à un coût se situant entre 195 \$ et 1 100 \$ par test tandis que 18 analyses supplémentaires ont été envoyées à la compagnie GeneDx (Gaithersburg, Maryland, États-Unis) à un coût se situant entre 1 451 \$ et 2 288 \$ par test. Le tableau 1 présente un résumé des coûts associés aux analyses du gène *MEFV* réalisées hors Québec entre 2012-2014.

Tableau 1 Analyses du gène *MEFV* réalisées hors Québec entre 2012-2014

ANNÉE	HÔPITAL POUR ENFANTS ET FEMMES DE COLOMBIE-BRITANNIQUE			GENE DX			MONTANT GLOBAL
	VOLUME ANNUEL	COÛT UNITAIRE	COÛT TOTAL	VOLUME ANNUEL	COÛT UNITAIRE	COÛT TOTAL	
2012-2013	39	195 \$-1 100 \$	21 176 \$	14	1 451 \$-2 288 \$	30 540 \$	51 716 \$
2013-2014	44	195 \$-500 \$	19 805 \$	4	2 200 \$	8 800 \$	28 605 \$

1. Information fournie par le demandeur.

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, un diagnostic précoce de la FMF permet une économie en ce qui concerne les frais de santé en plus de réduire la souffrance du patient. La colchicine est un médicament très efficace pour le traitement de la FMF, d'où l'importance d'un diagnostic sûr. La colchicine est capable d'inhiber ou d'espacer les crises dans 90 % des cas, mais aussi de prévenir ou de retarder l'apparition de complications rénales dans le deux tiers des cas².

3.8 Assurance qualité

La qualité interne du test proposé est assurée par l'utilisation des mêmes contrôles positifs et négatifs lors de chaque analyse, permettant ainsi d'observer la reproductibilité des résultats. Le demandeur mentionne également que la validation externe est effectuée, sans toutefois donner davantage de détails³.

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucune procédure inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Une méta-analyse de Papadopoulos et ses collègues [2008] a été réalisée à partir de 17 études, publiées entre 2001 et 2008, décrivant la fréquence des mutations observées du gène *MEFV* dans 14 populations d'origine méditerranéenne. Cette méta-analyse est basée sur l'évaluation de 16 726 chromosomes de patients atteints de la FMF (11 830 chromosomes) et de sujets sains (4 896 chromosomes). Au moins une mutation du gène *MEFV* a été observée sur 71,2 % (8 420/11 830) des chromosomes de patients atteints de la FMF tandis que 28,8 % des chromosomes présentaient une variation de signification inconnue ou ne subissaient aucune mutation. Les mutations les plus fréquemment observées chez les patients atteints de la FMF étaient M694V (39,6 %), V726A (13,9 %), M680I (11,4 %), E148Q (3,4 %) et M694I (2,9 %), toutes visées par la présente demande (tableau 2). Lorsque les patients atteints de la FMF et les sujets sains ont été testés selon leur statut de porteur d'une mutation du gène *MEFV* :

- le risque relatif global était de 3,372 (IC 95 % : 3,213-3,538),
- la valeur prédictive positive était de 0,900 (IC 95 % : 0,893-0,906), et
- le nombre requis de patients pour le diagnostic était de 1,508 (IC 95 % : 1,468-1,551) [Papadopoulos *et al.*, 2008].

Depuis la publication de la méta-analyse de Papadopoulos et ses collègues en 2008, plusieurs études de cohorte réalisées chez des patients ayant reçu un diagnostic de FMF ou chez qui un diagnostic de FMF était soupçonné ont rapporté des résultats similaires en ce qui concerne la fréquence des mutations du gène *MEFV* [Bonyadi *et al.*, 2015; Ece *et al.*, 2014; Kishida *et al.*, 2014; Oztuzcu *et al.*, 2014; Dundar *et al.*, 2012; Yesilada *et al.*, 2012; Dundar *et al.*, 2011; Ozdemir *et al.*, 2011; Akin *et al.*, 2010; Albayrak *et al.*, 2010; Bidari *et al.*, 2010; El Gezery *et al.*, 2010; Ibrahim *et al.*, 2010; Jarjour, 2010; Bonyadi *et al.*, 2009;

2. Information fournie par le demandeur.

3. Information fournie dans le protocole de la procédure Multiplex Assay Using Luminex x TAG Platform, Hôpital général juif, Département de pathologie, 2014.

Yilmaz *et al.*, 2009; Esmaili *et al.*, 2008; Solak *et al.*, 2008]. Le tableau 2 présente une brève description de ces études, y compris, notamment, la fréquence des cinq mutations du gène *MEFV* ciblées par le demandeur (E148Q, M680I, M694V, M694I et V726A).

Le tableau 2 présente également les résultats de deux études qui ont évalué la fréquence des mutations du gène *MEFV* chez des patients atteints de FMF en comparaison avec des sujets sains [Ozalkaya *et al.*, 2011; Etem *et al.*, 2010]. Olzakaya et ses collègues [2011] ont examiné la prévalence des mutations du gène *MEFV* chez 164 sujets sains et 308 patients turcs classés en trois sous-groupes (FMF confirmée, probable ou possible). L'analyse génétique a permis de détecter des mutations du gène *MEFV* chez 64,6 % des patients et 22 % des sujets sains. Les mutations les plus fréquemment observées chez les patients étaient : M694V [homozygotes (25 %) et hétérozygotes (13 %)], E148Q [hétérozygotes (9,5 %)] et M694V/M680I (7 %). Dans le sous-groupe de patients avec une FMF confirmée, 49 % des mutations du gène *MEFV* étaient homozygotes M694V comparativement à 9 % des patients avec une FMF probable et 9 % de ceux avec une FMF possible. Les mutations homozygotes M694V/M694V et hétérozygotes composées M694V/M680I n'ont pas été observées chez les sujets sains. Ces derniers étaient plutôt porteurs des mutations hétérozygotes M694V, M680I ou E148Q [Ozalkaya *et al.*, 2011]. Etem et ses collègues [2010] ont quant à eux examiné la prévalence des mutations du gène *MEFV* chez 103 sujets sains et 415 patients turcs ayant reçu un diagnostic clinique de FMF. L'analyse génétique de 12 mutations du gène *MEFV* a démontré que 69,3 % des allèles des patients avaient muté. Les mutations fréquemment observées chez ces patients étaient M694V (21,6 %), E148Q (19,1 %), V726A (9,7 %) et M680I (9,5 %). L'analyse génétique de 8 mutations du gène *MEFV* a démontré que 23,3 % des sujets sains étaient porteurs d'au moins un allèle muté. Les mutations fréquemment observées chez les sujets sains étaient E148Q (12,6 %), M694V (5,8 %), M694I (1,9 %), V726A (1,9 %) et P369S (0,9 %). La fréquence des mutations trouvées chez les sujets sains différait considérablement de celle des mutations observées chez les patients ayant reçu un diagnostic clinique de FMF [Etem *et al.*, 2010].

Tableau 2 Statut mutationnel du gène *MEFV* de diverses populations de patients ayant reçu un diagnostic de FMF ou chez qui un diagnostic de FMF était possible

ÉTUDE (PAYS)	MÉTHODE (MUTATIONS DÉTECTÉES)	POPULATION (ÂGE MOYEN)	STATUT MUTATIONNEL DU GÈNE <i>MEFV</i>		
			≥ 1 MUTATION	TYPE DE MUTATION	FRÉQUENCE DES MUTATIONS
MÉTA-ANALYSE (2001-2008)					
Papadopoulos, 2008	Diverses méthodes utilisées dans 17 études	5 915 patients	4 210/5 915 (71,2 %)	s.o.	M694V (39,6 %), V726A (13,9 %), M680I (11,4 %), E148Q (3,4 %), M694I (2,9 %) Autre ou aucune : 28,8 %
		2 448 sujets sains	457/2 448 (18,7 %)	s.o.	s.o.
ÉTUDES PRIMAIRES (2008-2015)					
Études de sujets sains et patients ayant reçu un diagnostic clinique de FMF					
Ozalkaya, 2011 (Turquie)	Séquençage direct complet	164 sujets sains	36/164 (22 %)	Hétérozygotes : 58,3 % Incertain : 41,7 %	E148Q (41,7 %), M680I (11,1 %), M694V (5,5 %) Autres : 41,7 %
		308 patients	199/308 (64,6 %)	Homozygotes : 29,1 % Hétérozygotes : 41,2 % Hétérozygotes composés : 29,7 %	M694V (46 %), M680I (15,6 %), E148Q (12,8 %) et V726A (1 %) Autres : 24,6 %
Etem, 2010 (Turquie)	ARMS-PCR, PCR-RFLP (8)	103 sujets sains	24/103 (23,3 %)	s.o.	E148Q (12,6 %), M694V (5,8 %), M694I (1,9 %), V726A (1,9 %) et P369S (0,9 %)
	Essai d’hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	415 patients	575/830 des allèles (69,3 %)	s.o.	M694V (21,6 %), E148Q (19,1 %), V726A (9,7 %) et M680I (9,5 %) Autres : 39,6 %
Études de patients ayant reçu ou qui pourraient recevoir un diagnostic clinique de FMF					
Akin, 2010 (Turquie)	Essai d’hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	1201 (1-70 ans)	547/1201 (45,5 %)	Homozygotes : 18,46 % Hétérozygotes : 54,11 % Hétérozygotes composés : 26,5 % Allèles complexes : 0,91 %	M694V (47,6 %), E148Q (16,75 %), V726A (12,95 %), M680I G/C (11,94 %) Autres : 10,76 %
Albayrak, 2010 (Turquie)	Essai d’hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	105	189/210 allèles (90 %)	Homozygotes : 31 % Hétérozygotes : 20 % Hétérozygotes composés : 49 %	M694V (53 %), M680I (12 %), V726A (9 %), E148Q (6 %) Autres : 10 % Aucune : 10 %

ÉTUDE (PAYS)	MÉTHODE (MUTATIONS DÉTECTÉES)	POPULATION (ÂGE MOYEN)	STATUT MUTATIONNEL DU GÈNE <i>MEFV</i>		
			≥ 1 MUTATION	TYPE DE MUTATION	FRÉQUENCE DES MUTATIONS
Al-Haggar, 2014 (Égypte)	ARMS-PCR (4)	426 (19 ans)	521/852 allèles (64,67 %)	s.o.	M694V (35,4 %), M694I (10,7 %), V726A (7,9 %), M680I (7,2 %)
Bidari, 2010 (Iran, Turquie Azeri)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	36 (28 ans, 2-65)	35/36 (97,2 %)	Homozygotes : 28,6 % Hétérozygotes : 14,3 % Hétérozygotes composés : 57,1 %	Génotype : M680I/M680I (16,7 %) Mutations les plus fréquentes : M680I, M694V et V726A
Bonyadi, 2009 (Iran)	ARMS-PCR, PCR-RFLP (15)	524 (18 ans, 2-66)	353/524 (67,4 %)	Homozygotes : 25,5 % Hétérozygotes : 31,7 % Hétérozygotes composés : 42,7 %	M694V (42,4 %), V726A (17 %), E148Q (16,2 %), M680I (15,2 %) Autres : 9,2 %
Bonyadi, 2015 (Iran)	ARMS-PCR, PCR-RFLP (10)	1330 (hommes : 37 ans, femmes : 29 ans)	1330/1330*	Homozygotes : 18,27 % Hétérozygotes : 53,91 % Hétérozygotes composés : 27,82 %	M694V (42,46 %), E148Q (20,94 %), V726A (18,99 %), M680I (14,1 %), M694I (2,05 %) Autres : 1,42 %
Dundar, 2011 (Turquie)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	2067 (0-80 ans)	1044/2067 (50,5 %)	Homozygotes : 16,85 % Hétérozygotes : 52,25 % Hétérozygotes composés : 30,1 % Autre (0,76 %)	Mutations les plus fréquentes : M694V, M680I, E148Q et V726A
Dundar, 2012 (Turquie)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	446 (1-70)	221/446 (49,6 %)	Homozygotes : 19,9 % Hétérozygotes : 46,6 % Hétérozygotes composés : 33,5 %	Mutations les plus fréquentes : M694V, M680I G/C, E148Q, V726A
Ece, 2014 (Turquie)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (6)	147 (9 ans, 2-16)	147/147*	Homozygotes : 19,1 % Hétérozygotes : 70,7 % Hétérozygotes composés : 10,2 %	E148Q (30,7 %), M694V (26,0 %), R761H (13,5 %), V726A (13,0 %), P369S (10,5 %), M680I (6,3 %)
El-Gezery, 2010 (Égypte)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	316 (19 ans, 1-59)	182/316 (57,6 %)	Homozygotes : 11 % Hétérozygotes : 45 % Hétérozygotes composés : 44 %	M694I (34 %), E148Q (22,7 %), V726A (15,6 %), M680I (12,1 %) et M694V (7,8 %) Autres : 7,8 %
Esmaeili, 2008 (Iran, Turquie Azeri)	ARMS-PCR, PCR-RFLP (5)	190 (18 ans, 2-66)	120/190 (63 %)	Homozygotes : 34,2 % Hétérozygotes : 35 % Hétérozygotes composés : 30,8 %	Mutations les plus fréquentes : M694V (28 %), V726A (9 %), E148Q (7 %), M680I (7 %) et M694I (1 %)

ÉTUDE (PAYS)	MÉTHODE (MUTATIONS DÉTECTÉES)	POPULATION (ÂGE MOYEN)	STATUT MUTATIONNEL DU GÈNE <i>MEFV</i>		
			≥ 1 MUTATION	TYPE DE MUTATION	FRÉQUENCE DES MUTATIONS
Jarjour, 2010 (Syrie)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	153	97/153 (63,4 %)	Homozygotes : 20 % Hétérozygotes : 45 % Hétérozygotes composés : 35 %	M694V (36,5 %), V726A (15,2 %), E148Q (14,5 %), M680I (G/C) (13,2 %), M694I (10,2 %) Autres: 10,4 %
Ibrahim, 2010 (Égypte)	ARMS-PCR, PCR-RFLP (5)	38 (27 ans, 6-50)	23/38 (60,5 %)	Homozygotes : 21,7 % Hétérozygotes : 39,1 % Hétérozygotes composés : 26,1 % Allèles complexes : 13,1 %	M694I (42,5 %), V726A (22,5 %), M680I (17,5 %), E148Q (17,5 %)
Kishida, 2014 (Japon)	Séquençage direct complet	216	116/216 (53,7 %)	Homozygotes : 1,7 % Hétérozygotes : 40,5 % Hétérozygotes composés : 57,8 %	E148Q (40,2 %), M694I (21,0 %), L110P (19,9 %), P369S (5,4 %), R408Q (5,4 %) Autres : 9,5 %
Ozdemir, 2011 (Turquie)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	3340 (23 ans, 5-71)	1 792/3 340 (53,6 %)	Homozygotes : 10,27 % Hétérozygotes : 67,68 % Hétérozygotes composés : 22,04 % Allèles complexes : 0,31 %	M694V (43,12 %), E148Q (20,18 %), M680I G/C (15,00 %), V726A (11,32 %) Autres : 10,38 %
Oztuzcu, 2014 (Turquie)	Séquençage direct complet	3341 (1-80)	1 290/3 341 (38,6 %)	Homozygotes : 21,8 % Hétérozygotes : 62,5 % Hétérozygotes composés : 14,6 % Allèles complexes : 1,3 %	M694V (41,77 %), E148Q (26,88 %), M680I G/C (8,98 %), V726A (8,31 %) Autres : 9,76 %
Solak, 2008 (Turquie)	PCR-ELISA, PRONTO FMF Kit (5)	202 (18 ans, 1-76)	202/202*	Homozygotes : 22,2 % Hétérozygotes : 51 % Hétérozygotes composés : 25,8 % Allèles complexes : 1 %	Mutations les plus fréquentes : M694V, E148Q, M680I, V726A, M694I
Yesilada, 2012 (Turquie)	PCR, pyroséquençage (26)	891	420/891 (47,13 %)	s.o.	E148Q (34,1 %), M694V (28,1 %), M680I G/C (15,6 %), P369S (6,4 %), V726A (5,4 %) Autres (10,3 %)
Yilmaz, 2009 (Turquie)	Essai d'hybridation inverse, FMF Strip Assay-ViennaLab (12)	78 (12 ans, 2-18)	75/78 (96 %)	Homozygotes : 32 % Hétérozygotes : 28 % Hétérozygotes composés : 36 %	M694V (55 %), M680I (16 %), E148Q (10 %), P369S (4 %)

Sigles : ARMS : de l'anglais *amplification refractory mutation system*; PCR : réaction en chaîne de la polymérase (de l'anglais *polymerase chain reaction* ou PCR); RLFP : polymorphisme de longueur des fragments de restriction (de l'anglais *restriction fragment length polymorphism* ou RFLP).

*Les patients étaient tous porteurs de mutations du gène *MEFV*.

4.2 Valeur pronostique

La corrélation génotype-phénotype entre les mutations du gène *MEFV* et les manifestations cliniques de la FMF ont été évaluées chez diverses populations ethniques. Plusieurs études ont démontré que la mutation M694V est associée à un début précoce de la maladie [Ebrahimi-Fakhari *et al.*, 2013; Etem *et al.*, 2010; Ureten *et al.*, 2010], à une sévérité plus élevée de la maladie [Ece *et al.*, 2014; Ebrahimi-Fakhari *et al.*, 2013; Ureten *et al.*, 2010; Cazeneuve *et al.*, 1999] et à une mauvaise réponse au traitement à la colchicine [Soylemezoglu *et al.*, 2010]. Par ailleurs, le rôle pathogénique de la mutation E148Q demeure incertain [Giancane *et al.*, 2015].

4.2.1 Début précoce de la FMF

Etem et ses collègues [2010] ont démontré chez 415 patients turcs ayant reçu un diagnostic clinique de FMF que les patients porteurs de la mutation M694V du gène *MEFV* ont présenté un début précoce de la maladie (moyenne de 9,3 ans) comparativement aux individus porteurs d'autres mutations (moyenne de 13,2 ans) [Etem *et al.*, 2010]. Ebrahimi-Fakhari et ses collègues [2013] ont obtenu des résultats similaires chez 64 patients turcs ou arméniens atteints de FMF. Le génotype homozygote M694V du gène *MEFV* était associé à un début précoce de la maladie [moyenne de 5,5 ans (3,9-16,6)] comparativement aux génotypes qui ne présentaient pas la mutation M694V [moyenne de 31,0 ans (17,8-38,8)] ($p = 0,0001$) [Ebrahimi-Fakhari *et al.*, 2013]. Ureten et ses collègues [2010] ont également démontré une association entre la mutation M694V du gène *MEFV* et un début précoce de la maladie chez 260 patients turcs atteints de la FMF. Le génotype homozygote M694V était associé à un début précoce de la maladie (moyenne de 11,3 ans) en comparaison avec d'autres génotypes observés dans cette étude (moyenne de 17,69 ans pour les hétérozygotes M694V et de 19,12 ans pour les autres génotypes; $p < 0,001$) [Ureten *et al.*, 2010].

4.2.2 Sévérité de la FMF

L'étude prospective d'Ece et ses collègues [2014] a évalué la corrélation génotype-phénotype entre les mutations du gène *MEFV* et les manifestations cliniques de la FMF chez 147 patients pédiatriques turcs. Les patients ont été classés en trois sous-groupes selon leur génotype *MEFV* : porteur d'au moins une mutation E148Q (E148Q), porteur d'au moins une mutation M694V (M694V) ou porteur d'autres mutations (Autres). La présence d'au moins une mutation M694V a été associée à une prévalence plus élevée d'érythème (M694V : 31,4 %, E148Q : 7,3 %, Autres : 17,5 %; $p = 0,012$), à un score plus élevé de la sévérité de la maladie (M694V : $7,15 \pm 1,73$, E148Q : $6,06 \pm 1,45$, Autres : $6,50 \pm 1,37$; $p < 0,05$) et à une durée prolongée des crises ($p < 0,05$), et ce, par comparaison avec deux autres sous-groupes génotypiques de l'étude [Ece *et al.*, 2014]. Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que les patients homozygotes M694V sont à risque de développer une FMF plus sévère [Ebrahimi-Fakhari *et al.*, 2013; Ureten *et al.*, 2010; Cazeneuve *et al.*, 1999]. Ureten et ses collègues [2010] ont observé, chez 260 patients turcs atteints de FMF, que le génotype homozygote M694V du gène *MEFV* était associé à un risque plus élevé d'arthrite (M694V/M694V : 68,3 %, M694V/Autre : 48,4 %, Autre/Autre : 28,4 %; $p < 0,001$) et d'érythème (M694V/M694V : 56,1 %, M694V/Autre : 31,5 %, Autre/Autre : 12,8 %; $p < 0,001$) ainsi qu'à un score plus élevé de la sévérité de la maladie (M694V/M694V : $8,10 \pm 2,29$, M694V/Autre : $6,49 \pm 2,31$, Autre/Autre : $5,42 \pm 1,89$; $p < 0,001$), et ce, en comparaison avec d'autres génotypes observés dans cette étude. En 2013, Ebrahimi-Fakhari et ses collègues ont quant à eux démontré, chez 64 patients turcs ou arméniens atteints de

FMF, que le génotype homozygote M694V était associé à une prévalence plus élevée de péritonite (M694V/M694V : 100 %, Autre/Autre : 69 %; $p = 0,007$) et de pleurésie (M694V/M694V : 81 %, Autre/Autre : 15 %; $p = 0,0007$) comparativement aux génotypes qui ne présentaient pas la mutation M694V. Cazeneuve et ses collègues [1999] ont rapporté des résultats similaires chez 90 Arméniens atteints de FMF. Le génotype homozygote M694V était associé à une prévalence plus élevée d'amylose rénale (M694V/M694V : 10/10, Autres : 6/23; $p = 0,002$) et d'arthrite (M694V/M694V : 18/21, Autres : 36/69; $p = 0,006$) en comparaison avec les autres génotypes observés dans cette étude.

4.2.3 Réponse au traitement

Soylemezoglu et ses collègues [2010] ont décrit la fréquence des mutations du gène *MEFV* et la réponse au traitement à la colchicine chez 222 patients pédiatriques turcs atteints de la FMF. Dans l'ensemble, une réponse complète a été observée chez 54,5 % des patients et une réponse incomplète chez 36 % de ceux-ci, tandis qu'aucune réponse à la colchicine n'a été observée chez 9,5 % des patients atteints de FMF. Les patients de cette étude ont été classés en trois sous-groupes selon la présence de la mutation M694V : homozygote (M694V/M694V), hétérozygote (M694V/Autre) ou non porteur d'une mutation M694V. Les patients homozygotes M694V ont présenté une réponse complète plus faible (36,1 %) ainsi qu'un taux de non-réponse plus élevé à la colchicine (18,0 %) en comparaison avec les patients hétérozygotes M694V/Autre (54,4 %; $p = 0,031$, 3,9 %; $p < 0,001$, respectivement) ainsi qu'avec les patients non porteurs (70,0 %; $p = 0,005$, 6,3 %; $p = 0,029$, respectivement) [Soylemezoglu *et al.*, 2010].

4.3 Validité analytique

La recherche de littérature n'a pas permis de repérer d'études concernant la validité analytique de la méthode proposée par le demandeur.

4.4 Données fournies par le demandeur

Les données de validation locale fournies par le demandeur sont présentées à l'annexe B. Il s'agit essentiellement de résultats d'une analyse réalisée à partir d'échantillons positifs pour les mutations M694I/V726A, E148Q/M694V et M680I/V726A du gène *MEFV*.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

N'ont pas été analysés.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Selon les données du MSSS, 101 analyses du gène *MEFV* ont été effectuées à l'extérieur du Québec pendant la période 2012-2014. Plus de 95 % de ces demandes provenaient de centres hospitaliers établis dans la région de Montréal. Des impacts sur le plan de l'organisation des services sont donc à prévoir précisément pour cette région advenant l'introduction de l'analyse au *Répertoire*.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

En 2012, l'European Molecular Genetics Quality Network a publié des lignes directrices pour le diagnostic génétique des fièvres récurrentes héréditaires, y compris pour la FMF. Les tests génétiques sont recommandés pour confirmer le diagnostic chez des patients

symptomatiques et, après conseil génétique, chez les membres de la famille d'un patient qui présente un génotype grave ou des antécédents familiaux d'amylose [Shinar *et al.*, 2012].

L'initiative européenne Single Hub and Access point for pediatric Rheumatology in Europe (SHARE) a publié huit recommandations pour faciliter l'interprétation des tests génotypiques du gène *MEFV* comme outil diagnostique de la FMF. Parmi celles-ci, SHARE préconise ce qui suit (force de la recommandation : A, B, C ou D) [Giancane *et al.*, 2015] :

- Le diagnostic de la FMF est un diagnostic clinique qui peut être appuyé, mais pas nécessairement exclu, par un test génétique (B).
- Les patients homozygotes M694V doivent être considérés comme étant à risque de développer, avec une probabilité très élevée, un phénotype sévère (B).
- Les patients porteurs de deux allèles mutés (homozygotes ou hétérozygotes composés) qui sont fréquents, particulièrement M694V ou des mutations aux positions 680 à 694 de l'exon 10, doivent être considérés comme étant à risque de développer une forme plus sévère de la maladie (B).
- La variante E148Q est fréquente, de rôle pathogénique incertain, et, en tant que seule variante du gène *MEFV*, elle n'appuie pas le diagnostic de FMF (B) [Giancane *et al.*, 2015].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Le diagnostic de la FMF est principalement basé sur les manifestations cliniques de la maladie. Toutefois, l'apparence progressive de ces manifestations cliniques dans l'enfance, la présence de signes atypiques et l'absence d'historique familial peuvent compliquer le diagnostic. Ce dernier pourrait donc être appuyé par l'analyse génétique du gène *MEFV*.

Il a été démontré que 71,2 % des chromosomes de patients d'origine méditerranéenne atteints de la FMF présentaient des mutations du gène *MEFV*. Les mutations les plus fréquemment observées sont M694V (39,6 %), V726A (13,9 %), M680I (11,4 %), E148Q (3,4 %) et M694I (2,9 %). Il a également été démontré que la probabilité d'être atteint de FMF est trois fois plus élevée chez les porteurs de mutations du gène *MEFV*. De plus, 90 % des personnes atteintes de FMF sont porteuses d'au moins une mutation de ce même gène.

Plusieurs études ont démontré une association entre la mutation M694V et le début précoce de la maladie, une sévérité plus élevée et une mauvaise réponse au traitement à la colchicine.

L'European Molecular Genetics Quality Network recommande l'utilisation de tests génétiques pour confirmer le diagnostic des patients présentant des symptômes de la FMF et, après conseil génétique, des membres de la famille d'un patient qui présente un génotype grave ou des antécédents familiaux d'amylose [Shinar *et al.*, 2012]. L'initiative européenne Single Hub and Access point for pediatric Rheumatology in Europe (SHARE) a quant à elle publiée huit recommandations pour faciliter l'interprétation des tests génotypiques du gène *MEFV* comme outil diagnostique de la FMF.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection des mutations du gène *MEFV* pour le diagnostic de la fièvre méditerranéenne familiale

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ La pertinence clinique du test est démontrée.
- ✓ Dans le but d'assurer la qualité du test, le comité recommande que le centre demandeur introduise des contrôles positifs pour chacune des mutations dans le protocole de validation. La mise en place d'un système externe de contrôle de la qualité est également nécessaire.

ANNEXE A

Critères cliniques diagnostiques de Tel Hashomer de la FMF

Critères majeurs :

1. Épisodes fébriles récurrents accompagnés de péritonite et/ou de douleurs pleurales (pleurodynie) et/ou d'arthrite;
2. Amylose rénale AA sans maladie prédisposante;
3. Réponse favorable au traitement continu à la colchicine.

Critères mineurs :

1. Épisodes fébriles récurrents;
2. Érythème semblable à l'érysipèle;
3. Membre de la famille (1^{er} degré) du patient ayant reçu un diagnostic de FMF.

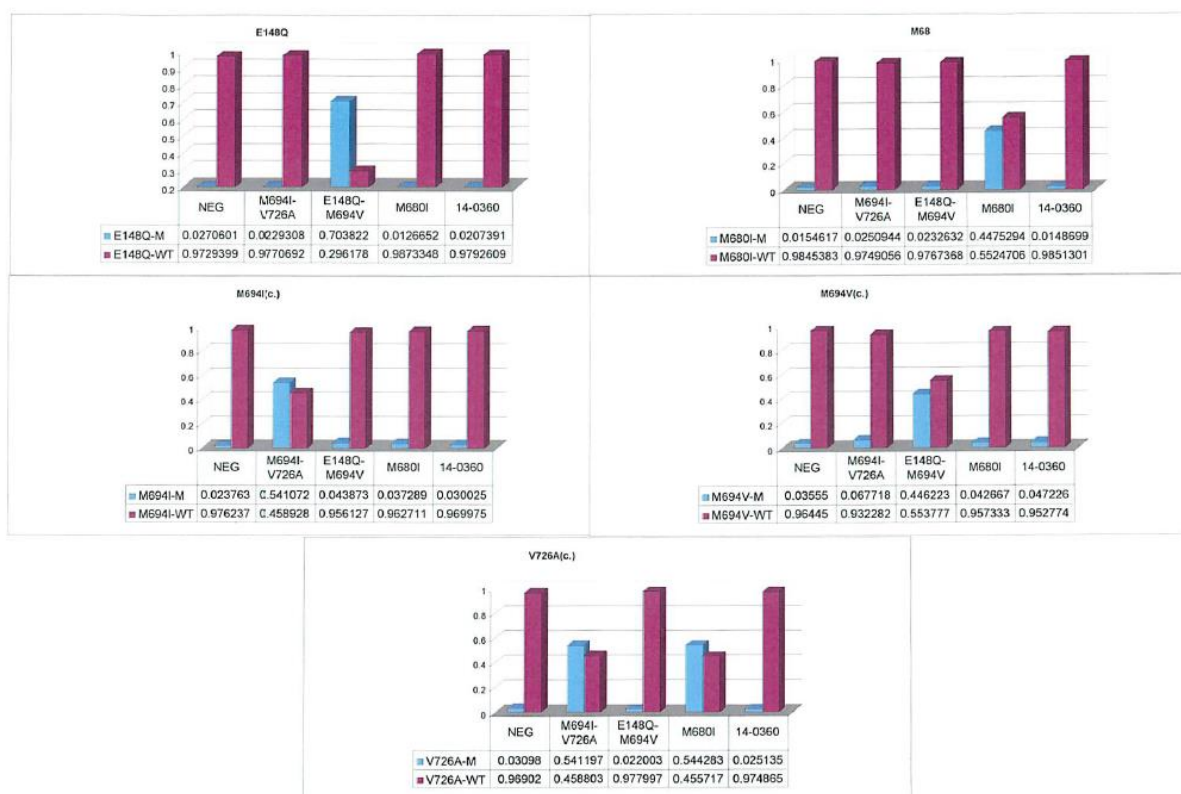
Diagnostic définitif de la FMF : deux critères majeurs ou un critère majeur et deux critères mineurs

Diagnostic probable de la FMF : un critère majeur et un critère mineur [Giancane *et al.*, 2015].

ANNEXE B

Résultats de validation de la méthode du demandeur concernant des échantillons positifs pour les mutations M694I/V726A, E148Q/M694V et M680I/V726A du gène *MEFV*

5FMF-RESULT-01



RÉFÉRENCES

- Akin H, Onay H, Turker E, Cogulu O, Ozkinay F. MEFV mutations in patients with Familial Mediterranean Fever from the Aegean region of Turkey. *Mol Biol Rep* 2010;37(1):93-8.
- Albayrak F, Selcuk NY, Odabas AR, Cetinkaya R, Pirim I. Genotype-phenotype correlation in patients with familial Mediterranean fever in East Anatolia (Turkey). *Genet Test Mol Biomarkers* 2010;14(3):325-8.
- Al-Haggar MS, Yahia S, Abdel-Hady D, Al-Saied A, Al-Kenawy R, Abo-El-Kasem R. Phenotype-genotype updates from familial Mediterranean fever database registry of Mansoura University Children' Hospital, Mansoura, Egypt. *Indian J Hum Genet* 2014;20(1):43-50.
- Berkun Y et Eisenstein EM. Diagnostic criteria of familial Mediterranean fever. *Autoimmun Rev* 2014;13(4-5):388-90.
- Berkun Y, Eisenstein E, Ben-Chetrit E. FMF - clinical features, new treatments and the role of genetic modifiers: a critical digest of the 2010-2012 literature. *Clin Exp Rheumatol* 2012;30(3 Suppl 72):S90-5.
- Bidari A, Ghavidel-Parsa B, Najmabadi H, Talachian E, Haghighat-Shoar M, Broumand B, Ghalehbaghi B. Common MEFV mutation analysis in 36 Iranian patients with familial Mediterranean fever: Clinical and demographic significance. *Mod Rheumatol* 2010;20(6):566-72.
- Bonyadi M, Esmaeili M, Jalali H, Somi MH, Ghaffari A, Rafeey M, et al. MEFV mutations in Iranian Azeri Turkish patients with familial Mediterranean fever. *Clin Genet* 2009;76(5):477-80.
- Bonyadi MJ, Gerami SM, Somi MH, Dastgiri S. MEFV mutations in Northwest of Iran: A cross sectional study. *Iran J Basic Med Sci* 2015;18(1):53-7.
- Cazeneuve C, Sarkisian T, Pecheux C, Dervichian M, Nedelec B, Reinert P, et al. MEFV-Gene analysis in armenian patients with Familial Mediterranean fever: Diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype-genetic and therapeutic implications. *Am J Hum Genet* 1999;65(1):88-97.
- Dundar M, Kiraz A, Emirogullari EF, Saatci CE, Taheri S, Baskol M, et al. A molecular analysis of familial Mediterranean fever disease in a cohort of Turkish patients. *Ann Saudi Med* 2012;32(4):343-8.
- Dundar M, Emirogullari EF, Kiraz A, Taheri S, Baskol M. Common Familial Mediterranean Fever gene mutations in a Turkish cohort. *Mol Biol Rep* 2011;38(8):5065-9.
- Ebrahimi-Fakhari D, Schonland SO, Hegenbart U, Lohse P, Beimler J, Wahlster L, et al. Familial Mediterranean fever in Germany: Clinical presentation and amyloidosis risk. *Scand J Rheumatol* 2013;42(1):52-8.

- Ece A, Cakmak E, Uluca U, Kelekci S, Yolbas I, Gunes A, et al. The MEFV mutations and their clinical correlations in children with familial Mediterranean fever in southeast Turkey. *Rheumatol Int* 2014;34(2):207-12.
- El Gezery DA, Abou-Zeid AA, Hashad DI, El-Sayegh HK. MEFV gene mutations in Egyptian patients with familial Mediterranean fever. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010;14(2):263-8.
- Esmaeili M, Bonyadi M, Rafeey M, Sakha K, Somi MH. Common MEFV mutation analysis in Iranian Azeri Turkish patients with familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum* 2008;37(5):334-8.
- Etem EO, Deveci SD, Erol D, Yuce H, Elyas H. Familial Mediterranean Fever: A retrospective clinical and molecular study in the east of Anatolia region of Turkey. *Open Rheumatol J* 2010;4:1-6.
- Giancane G, Ter Haar NM, Wulffraat N, Vastert SJ, Barron K, Hentgen V, et al. Evidence-based recommendations for genetic diagnosis of familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 2015;74(4):635-41.
- Hentgen V, Grateau G, Kone-Paut I, Livneh A, Padeh S, Rozenbaum M, et al. Evidence-based recommendations for the practical management of Familial Mediterranean Fever. *Semin Arthritis Rheum* 2013;43(3):387-91.
- Ibrahim GH, Khalil FA, Mostafa F, Fawzy MS, Said M, Omar AE, El-Abaseri TB. Analysis of common MEFV mutations in Egyptian patients with familial Mediterranean fever: Molecular characterisation of the disease. *Br J Biomed Sci* 2010;67(4):202-7.
- Jarjour RA. Familial Mediterranean fever in Syrian patients: MEFV gene mutations and genotype-phenotype correlation. *Mol Biol Rep* 2010;37(1):1-5.
- Kishida D, Nakamura A, Yazaki M, Tsuchiya-Suzuki A, Matsuda M, Ikeda S. Genotype-phenotype correlation in Japanese patients with familial Mediterranean fever: Differences in genotype and clinical features between Japanese and Mediterranean populations. *Arthritis Res Ther* 2014;16(5):439.
- Ozalkaya E, Mir S, Sozeri B, Berdeli A, Mutlubas F, Cura A. Familial Mediterranean fever gene mutation frequencies and genotype-phenotype correlations in the Aegean region of Turkey. *Rheumatol Int* 2011;31(6):779-84.
- Ozdemir O, Sezgin I, Kurtulgan HK, Candan F, Koksall B, Sumer H, et al. Prevalence of known mutations in the MEFV gene in a population screening with high rate of carriers. *Mol Biol Rep* 2011;38(5):3195-200.
- Oztuzcu S, Ulasli M, Ergun S, Igci YZ, Igci M, Bayraktar R, et al. Screening of common and novel familial mediterranean fever mutations in south-east part of Turkey. *Mol Biol Rep* 2014;41(4):2601-7.
- Papadopoulos VP, Giaglis S, Mitroulis I, Ritis K. The population genetics of familial Mediterranean fever: A meta-analysis study. *Ann Hum Genet* 2008;72(Pt 6):752-61.

- Shinar Y, Obici L, Aksentijevich I, Bennetts B, Austrup F, Ceccherini I, et al. Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers. *Ann Rheum Dis* 2012;71(10):1599-605.
- Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H. Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med* 1967;43(2):227-53.
- Solak M, Yildiz H, Koken R, Erdogan M, Eser B, Sen T, et al. Analysis of familial Mediterranean fever gene mutations in 202 patients with familial Mediterranean fever. *Genet Test* 2008;12(3):341-4.
- Soylemezoglu O, Arga M, Fidan K, Gonen S, Emeksiz HC, Hasanoglu E, Buyan N. Unresponsiveness to colchicine therapy in patients with familial Mediterranean fever homozygous for the M694V mutation. *J Rheumatol* 2010;37(1):182-9.
- Touitou I. MEFV (NM_00243.2) sequence variants [site Web de la base de données Infevers]. 2014. Disponible à : <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php?n=1>.
- Ureten K, Gonulalan G, Akbal E, Gunes F, Akyurek O, Ozbek M, Ozturk MA. Demographic, clinical and mutational characteristics of Turkish familial Mediterranean fever patients: Results of a single center in Central Anatolia. *Rheumatol Int* 2010;30(7):911-5.
- Yesilada E, Taskapan H, Gulbay G. Prevalence of known mutations and a novel missense mutation (M694K) in the MEFV gene in a population from the Eastern Anatolia Region of Turkey. *Gene* 2012;511(2):371-4.
- Yilmaz R, Ozer S, Ozyurt H, Erkorkmaz U, Sahin S. Familial Mediterranean fever gene mutations in the inner northern region of Turkey and genotype-phenotype correlation in children. *J Paediatr Child Health* 2009;45(11):641-5.

DOSAGE DES ACYLGLYCINES URINAIRES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLÉE À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE EN TANDEM (RÉFÉRENCE – 2014.03.09)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke (CHUS)
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 23 décembre 2015
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) utilisant la méthode de dilution à l'isotope stable.

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

La technique comporte trois étapes : 1) la préparation de l'échantillon, 2) la chromatographie en phase liquide (LC) et 3) l'analyse par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).

La préparation de l'échantillon est faite par une méthode de dilution à l'isotope stable suivie d'une dérivation chimique. Elle consiste à diluer l'échantillon avec une solution contenant des isotopes d'acylglycines. La quantité d'analytes dans l'échantillon est déterminée selon le ratio obtenu avec les isotopes. Cette méthode est utilisée pour l'analyse des petites molécules et des marqueurs protéiniques [Ciccimaro et Blair, 2010].

La LC permet de séparer les molécules d'un mélange complexe (urine, plasma ou autre fluide) selon leurs propriétés physicochimiques (poids moléculaire, hydrophobicité ou autre). Le principe de la LC fait intervenir une phase liquide mobile et une phase solide stationnaire. La composition des phases liquide et solide varie en fonction du type de molécule à purifier.

La spectrométrie de masse vise à déterminer la masse des molécules présentes dans un échantillon donné. La mesure de la masse repose sur la déviation des molécules préalablement ionisées par un champ électrique ou magnétique, pour lesquelles les trajectoires sont proportionnelles à leur masse et à leur charge.

Le spectromètre de masse est composé :

1. d'une source d'ionisation pour modifier la charge des molécules et les faire passer en phase gazeuse (ionisation par électronébuliseur);
2. d'un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction du rapport de la masse sur la charge (m/z).

Les analyseurs peuvent être couplés de façon séquentielle. Il s'agit de la spectrométrie de masse à plusieurs dimensions (dans le cas présent, en tandem, donc MS/MS). Un premier analyseur sélectionne les ions selon un rapport m/z (purification). L'ion purifié est ensuite fragmenté dans une chambre de collision. Un deuxième analyseur mesure le rapport m/z des fragments [Grebe et Singh, 2011].

En résumé, le dosage des acylglycines urinaires est effectué par la dilution isotopique de l'urine suivie d'une dérivation butylique. Les extraits sont ensuite injectés dans un système LC-MS/MS d'Agilent (Agilent Technologies). La chromatographie est effectuée sur une colonne de type C18. Le traitement des résultats d'analyse est effectué avec le logiciel MassHunter (Agilent Technologies).

2.3 Modalités d'administration du test

Si le demandeur est désigné pour la présente analyse, les modalités seraient les suivantes : une miction urinaire congelée d'au moins 1 ml serait expédiée directement au laboratoire de génétique biochimique du Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke (CHUS) par le laboratoire du centre demandeur (au Québec ou hors Québec). Dès la réception de l'échantillon au laboratoire du CHUS, le processus de traitement serait entamé : réception, inscription au système, analyse, quantification, interprétation, validation et transmission du résultat au médecin demandeur. Le temps de réponse serait de 5 jours ouvrables. L'analyse sera réalisée une fois par semaine. Si le contexte clinique l'exige, il sera possible de réaliser l'analyse dans un plus court délai, soit 24 heures après la réception de l'échantillon.

2.4 Société ou développeur

Il s'agit d'une analyse maison avec un profil de 21 acylglycines (voir l'annexe B pour la liste des acylglycines).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Ne s'applique pas.

2.6 Valeur pondérée : 115,0

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés sont les nouveau-nés chez qui l'on suspecte une erreur innée du métabolisme (EIM) ou les patients ayant des symptômes de maladies métaboliques héréditaires.

3.2 Description de la maladie visée

Plusieurs EIM sont visées par la présente analyse, y compris, notamment, le déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne moyenne (*medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency*, MCADD), le déficit en bêta-cétothiolase, l'acidémie glutarique de

type II, le déficit multiple en carboxylases, l'encéphalopathie éthylmalonique et l'acidémie isovalérique.

Le MCADD est une maladie autosomique récessive de l'oxydation mitochondriale des acides gras, qui se manifeste généralement par une hypoglycémie hypocétosique, une léthargie ou des vomissements provoqués par un stress catabolique. Pendant les épisodes aigus, le MCADD peut également entraîner des crises d'épilepsie, une hépatomégalie et, dans certains cas, un coma ou le décès. Une fois le diagnostic établi, le pronostic est excellent dans la mesure où les périodes de jeûne sont évitées [Matern et Rinaldo, 2015; ACMG, 2012a].

Le déficit en bêta-cétothiolase est un défaut de l'acétoacétyl-CoA thiolase mitochondriale qui se manifeste par une perte progressive des aptitudes cognitives et motrices entraînant parfois une léthargie et un coma lors des épisodes acidocétosiques sévères. Les conséquences cliniques peuvent être évitées par un diagnostic précoce, la prise en charge de l'acidocétose et un régime restreint en protéines. Le pronostic de cette maladie est généralement bon [Fukao, 2004].

L'acidémie glutarique de type II (*multiple acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency*, MADD) sévère se manifeste par un coma acidotique sans cétose combiné à une hypoglycémie, une hyperammoniémie, une hypotonie et une myocardiopathie qui sont parfois associés à des malformations congénitales [Saudubray, 2004].

Le déficit multiple en carboxylases inclut les anomalies héréditaires du métabolisme de la biotine, qui se manifestent par une grande variété de symptômes [Wolf, 2011].

L'encéphalopathie éthylmalonique se manifeste par une acrocyanose orthostatique et une diarrhée chronique associées à un retard de développement, une régression psychomotrice, une hypotonie et des anomalies visibles à l'imagerie par résonance magnétique. Le pronostic est généralement mauvais [Gregersen, 2007].

L'acidémie isovalérique est une maladie autosomique récessive qui se manifeste par des vomissements, une déshydratation, un coma et des mouvements anormaux [Orphanet, 2005].

Au Canada, la prévalence du MCADD uniquement est estimée à 6 cas sur 100 000 naissances [AETMIS, 2007]. Les autres EIM ciblées par la présente analyse sont en général plus rares. En fait, l'incidence combinée de ces maladies est estimée à 1 nouveau-né sur 1 500 [Raghuveer *et al.*, 2006] et à 1 cas sur 4 000 [INESSS, 2013].

Les acylglycines sont des molécules formées par la conjugaison d'un acide aminé, la glycine, et d'un acyl-CoA particulier. Les acyl-CoA sont des intermédiaires normaux dans les voies métaboliques des acides organiques et des acides gras. Si le métabolisme d'un acyl-CoA est bloqué en raison d'un déficit enzymatique, la conjugaison avec la glycine facilite l'excrétion du métabolite en excès⁴. Ainsi, l'accumulation des acylglycines dans l'urine (et dans le plasma) permet leur quantification comme biomarqueurs pour la détection ou la confirmation biochimique de plusieurs EIM (annexe A) [Ombrone *et al.*, 2011].

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

Le volume provincial attendu sera lié au nombre de patients nouveau-nés au Québec orientés vers cette analyse après un dépistage sanguin et urinaire. En 2013, 27 cas de

4. Information tirée du protocole du CHUS, PRG-8200-ACGUR-01-A.

MCADD dépistés ont été dirigés vers le demandeur⁵. Le nombre de maladies décelées par le dépistage sanguin et urinaire chez les nouveau-nés québécois devrait s'accroître au cours des prochaines années. Il inclura des acidémies organiques et des maladies de bêta-oxydation des acides gras [INESSS, 2013].

Le demandeur estime donc le volume provincial à 100 analyses pour 2015, avec une augmentation graduelle durant les années suivantes. Ce test pourrait également être offert aux autres provinces canadiennes, puisqu'il ne serait pas encore disponible en clinique ailleurs au Canada⁶.

3.4 Spécialités médicales concernées

Pédiatrie, génétique, neurologie, biochimie médicale

3.5 Données médico-administratives

Au cours des deux dernières années, 22 analyses d'acylglycines urinaires ont été transmises au Mayo Medical Laboratories (tableau 1).

Tableau 1 Analyses d'acylglycines urinaires réalisées hors Québec entre 2012 et 2014

ANNÉE	VOLUME ANNUEL	COÛT	MONTANT GLOBAL
2012-2013	11	Entre 460,20 \$ et 474,50 \$	5 134 \$
2013-2014	11	Entre 460,20 \$ et 474,50 \$	5 134 \$

3.6 Brève description de la situation actuelle

L'analyse des acylglycines urinaires est actuellement réalisée hors Québec. Les prélèvements sont transmis au Mayo Medical Laboratories aux États-Unis, qui utilisent la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Toutefois, cette méthode comporte certaines limites sur le plan analytique, dont la sensibilité [Ombrone *et al.*, 2011], en plus d'être laborieuse et de prendre du temps [Fong *et al.*, 2012; Stanislaus *et al.*, 2012].

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Le demandeur mentionne que l'analyse des acylglycines urinaires est considérée comme complémentaire aux analyses des acides organiques urinaires et des acylcarnitines sériques. Bien que certains acylglycines puissent être décelés dans le contexte de l'analyse des acides organiques urinaires (code de l'analyse : 50415) par la GC-MS, de telles méthodes ont des limites significatives sur le plan analytique. Des méthodes récemment publiées, utilisant la LC-MS/MS, ont surmonté ces difficultés et ont aussi permis d'identifier et de doser d'autres acylglycines qui étaient auparavant non détectables. La méthode proposée tient compte de ces nouvelles approches et elle inclut certains acylglycines récemment reconnus (p. ex. la crotonylglycine), et ce, dans le but d'accroître la sensibilité et la spécificité diagnostique du profil⁷.

Par ailleurs, du fait que la LC-MS/MS permette l'identification et le dosage de certains acylglycines qui étaient auparavant indétectables, cela rend possible, notamment, la

5. Information fournie par le demandeur.

6. Information fournie par le demandeur.

7. Information fournie par le demandeur.

différenciation d'isomères d'acylglycines [Fong *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011; Lewis-Stanislaus et Li, 2010]. L'analyse permet de détecter plusieurs métabolites en un seul test [Lehotay *et al.*, 2011]. De plus, cette méthode est sensible, spécifique et elle ne requiert qu'un entretien minimal de l'équipement [Ombrone *et al.*, 2011].

3.8 Assurance qualité

Les contrôles internes maison seront préparés à partir d'échantillons urinaires de donneurs sains dans lesquels seront ajoutés des acylglycines à des concentrations normales et anormales et des échantillons urinaires de cas confirmés pour les maladies ciblées.

La reproductibilité et la précision de l'analyse seront évaluées pour chaque série d'analyses en comparant les valeurs obtenues pour ces contrôles avec leurs valeurs cibles et les écarts acceptables prédéterminés.

À la connaissance du demandeur, il n'existe pas de programme externe de contrôle de la qualité applicable à cette analyse. Le dosage des acylglycines urinaires est une analyse surspécialisée, et très peu de laboratoires dans le monde sont en mesure de la réaliser. Cependant, pour combler cette lacune, le demandeur envisage d'effectuer périodiquement des échanges de contrôles avec des laboratoires afin de valider les résultats obtenus.

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucune analyse inscrite au *Répertoire*. Elle serait complémentaire aux analyses des acides organiques urinaires (code 50415) et des acylcarnitines sériques (code 50417).

4 DONNÉES PROBANTES

Trois études ont rapporté la valeur diagnostique et la validité analytique d'analyses des acylglycines urinaires par la LC-MS/MS ou ses variantes [Fong *et al.*, 2012; Stanislaus *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011]. Les caractéristiques de ces études sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 Caractéristiques des études retenues portant sur l'analyse des acylglycines urinaires par la LC-MS/MS ou ses variantes et comparaison avec le centre demandeur

ÉTUDE (PAYS)	MÉTHODE						ANALYSE			
	CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE		SPECTROMÉTRIE DE MASSE				CONTRÔLE INTERNE	ACYLGLYCINES DÉTECTÉS*	SUJETS SAINS (ÂGE)	CAS CLINIQUES
	SYSTÈME	COLONNE	SYSTÈME	SOURCE IONISATION	MODE MRM	LOGICIEL				
Ombrone <i>et al.</i> , 2011 (Italie)	HPLC 1100 series (Agilent Technologies)	XTerra RP18 (Waters)	Triple-Quadrupole Mass Spectrometer (API 4000, Applied Biosystems, MDS Sciex)	Turbolon- Spray ionisation	Ion négatif	Analyst software version 1.4.1 (Applied Biosystems, Sciex)	Acylglycines deutérés	19	120 (< 10 ans)	13
Fong <i>et al.</i> , 2012 (Chine)	HPLC 1200 series (Agilent Technologies)	Atlantis dC18 (Waters)	Quadrupole mass Spectrometer (3200 QTRAP®, Applied Biosystems)	Turbolon- Spray ionisation	Ion positif	Analyst software version 1.4 (Applied Biosystems)	Acylglycines deutérés	9	204 (< 18 ans)	2
Stanislaus <i>et al.</i> , 2012 (Canada)	1290 Series LC (Agilent Technologies)	Kinetex® C ₁₈ (Phenomenex)	Hybrid Triple- Quadrupole Linear Ion trap Mass Spectrometer (4000 QTRAP® Applied Biosystems, MDS Sciex)	Ionisation par électronébu- liseur	Ion positif	Analyst software version 1.5 (Applied Biosystems)	Contrôles internes étiquetés d'isotopes stables	18	20 (3 échantillons par sujet) (25-35 ans)	0
CHUS – centre demandeur (Canada)	HPLC 1200 series (Agilent Technologies)	Acquity UPLC CSH C18 (Waters)	Triple Quadrupole LC- MS avec iFunnel Technology (Agilent 6490, Agilent Technologies)	Ionisation par électronébu- liseur	Ion positif	MassHunter (Agilent Technologies)	Acylglycines deutérés	21	-	-

Sigles et acronymes : CHUS : Centre hospitalier de Sherbrooke (demandeur); HPLC-MS/MS : chromatographie liquide à haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; MRM : de l'anglais - *multiple reaction monitoring*; UPLC-MS : chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse

* Voir l'annexe B pour la liste des acylglycines détectés dans les trois études retenues ainsi que par le CHUS (demandeur).

4.1 Valeur diagnostique

Détection d'isomères des acylglycines

La LC-MS/MS a permis de détecter et de différencier certains isomères d'acylglycines qui pourraient être importants pour le diagnostic de cas cliniques d'EIM [Fong *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011]. Ainsi, Ombrone et ses collègues [2011] ont différencié le butyrylglycine et l'isobutyrylglycine, en plus de distinguer le 2-methylbutyrylglycine, l'isovaleryl-glycine et le valeryl-glycine en se basant sur le temps de rétention distinct de ces acylglycines lors de la séparation chromatographique.

Détection d'acylglycines urinaires provenant d'échantillons de cas cliniques

Fong et ses collègues [2012] ont analysé des échantillons provenant de deux cas cliniques d'acidurie organique préalablement diagnostiqués. Le premier cas était un patient souffrant d'un déficit de l'holocarboxylase synthétase (une forme de déficit multiple en carboxylases). L'analyse d'un échantillon urinaire collecté pendant la phase aiguë a montré des niveaux très élevés de propionylglycine et de tiglylglycine ainsi que des niveaux élevés d'isobutyrylglycine, de butyrylglycine, d'isovaleryl-glycine et de 2-methylbutyrylglycine. L'analyse des acides organiques urinaires de deux échantillons prélevés respectivement une semaine et deux semaines après le début d'une thérapie à la biotine a montré un profil normal, alors que les concentrations de deux acylglycines (propionylglycine et tiglylglycine) sont demeurées légèrement élevées. Le deuxième cas était un patient atteint du déficit du bêta-cétothiolase. L'analyse des acylglycines d'un échantillon collecté durant la supplémentation à la carnitine a permis de révéler l'augmentation d'un acylglycine (tiglylglycine).

Ombrone et ses collègues [2011] ont analysé des échantillons provenant de 13 cas cliniques d'acidurie organique ou de désordres de la bêta oxydation des acides gras préalablement diagnostiqués :

- trois patients atteints d'acidémie propionique ont montré des concentrations de propionylglycine et de tiglylglycine excédant largement les intervalles de référence;
- un patient atteint d'acidémie isovalérique a montré une concentration élevée d'isovaleryl-glycine;
- deux patients atteints du déficit de bêta-cétothiolase ont montré une concentration élevée de tiglylglycine;
- un patient atteint de déficit en acides aminés à courte chaîne (*short branched chain amino acid deficiency*, SBCAD) a montré un niveau faible de 2-methylbutyrylglycine qui a augmenté durant une décompensation métabolique;
- quatre patients atteints de MCADD ont montré une concentration élevée d'hexanoylglycine, de phenylpropionylglycine et de suberyl-glycine;
- un patient atteint d'un déficit en acyl-CoA déshydrogénase multiple (MADD) a montré une concentration élevée d'isobutyrylglycine, de 2-methylbutyrylglycine, d'isovaleryl-glycine, d'hexanoylglycine et de suberyl-glycine; et
- un nouveau-né asymptomatique avec un C4-carnitine élevé au dépistage néonatal a montré une concentration élevée d'isobutyrylglycine, confirmant ainsi le diagnostic de déficit en isobutyryl-CoA déshydrogénase.

4.2 Validité analytique

Linéarité et recouvrement

Les méthodes utilisées dans les trois études retenues ont indiqué des coefficients de corrélation des courbes de calibration supérieurs à 0,99 [Fong *et al.*, 2012; Stanislaus *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011]. Le recouvrement variait entre 90 % et 124 % selon les différents acylglycines analysés [Fong *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011] (tableau 3). Aucune interférence n'a été observée dans l'étude de Stanislaus et ses collègues [2012].

Sensibilité analytique

La limite de détection et la limite inférieure de quantification varient selon le type d'acylglycines détectés par la LC-MS/MS. Les valeurs de limite de détection sont situées entre 0,001 et 0,125 μM et celles de limite inférieure de quantification entre 0,001 et 0,700 μM (tableau 3) [Fong *et al.*, 2012; Stanislaus *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011].

Précision

Le tableau 4 présente brièvement les différentes analyses effectuées pour évaluer la précision de détection des acylglycines urinaires par la LC-MS/MS et ses variantes. Les coefficients de variabilité sont inférieurs à 10 % dans deux études [Fong *et al.*, 2012; Ombrone *et al.*, 2011] et inférieurs à 15 % dans une troisième [Stanislaus *et al.*, 2012].

Reproductibilité

Stanislaus et ses collègues [2012] ont évalué la reproductibilité de la méthode de dérivation. Les valeurs de coefficient de variabilité étaient inférieures à 10 %, à l'exception de celles de l'heptanoylglycine et de l'octonoylglycine pour lesquelles les concentrations étaient égales ou inférieures aux limites inférieures de quantification. Ces valeurs demeuraient néanmoins inférieures à 15 % [Stanislaus *et al.*, 2012].

Exactitude

Dans l'étude de Fong et ses collègues, le niveau d'exactitude, évalué à des concentrations normales et élevées, était à l'intérieur du seuil de $\pm 10\%$ des valeurs attendues [Fong *et al.*, 2012]. Dans l'étude de Stanislaus et ses collègues, le niveau d'exactitude a été évalué à des concentrations de 10 nM, 150 nM et 400 nM. Les valeurs des erreurs relatives et des coefficients de variation étaient inférieures à 15 % (tableau 5) [Stanislaus *et al.*, 2012].

Stabilité

Diverses conditions ont été appliquées pour évaluer la stabilité des acylglycines urinaires. Ces derniers sont stables dans les échantillons urinaires suivant ces conditions : 5 heures à température ambiante, 24 heures à 4 °C et 8 semaines à - 20 °C ainsi que pour 3 cycles de gel-dégel [Stanislaus *et al.*, 2012]. Par ailleurs, Fong et ses collègues ont rapporté que les acylglycines demeuraient stables dans les échantillons urinaires pour une période allant jusqu'à 3 mois à une température de - 20 °C [Fong *et al.*, 2012].

Tableau 3 La linéarité, le recouvrement et la sensibilité des analyses d'acylglycines urinaires par la LC-MS/MS et ses variantes

ÉTUDE (MÉTHODE)	LINÉARITÉ		RECOUVREMENT (% CV)	LOD (μ M)	LLOQ (μ M)
	CONCENTRATION D'ACYLGLYCINES (μ M)	COEFFICIENT DE CORRÉLATION (R^2)			
Ombrone <i>et al.</i> , 2011 (LC-MS/MS)	0,05 – 5	0,9967 – 0,9987	92 – 124	0,008 – 0,125	0,062 – 0,700
Fong <i>et al.</i> , 2012 (HPLC-MS/MS)	1 – 100	0,9913 – 0,9994	90,2 – 109,3 (1,98 – 13,58)	0,0003 – 0,0045	0,001 – 0,015
Stanislaus <i>et al.</i> , 2012 (UPLC-MS)	0,001 – 1	0,9983 – 0,9997	-	0,001 – 0,002	0,002 – 0,005

Sigles et acronymes : CV : coefficient de variation; HPLC-MS/MS : chromatographie liquide à haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LLOQ : limite inférieure de la quantification; LOD : limite de la détection; μ M : micromolaire; UPLC-MS : chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse.

Tableau 4 La précision des analyses d'acylglycines urinaires par la LC-MS/MS et ses variantes

ÉTUDE (MÉTHODE)	DESCRIPTION DES ANALYSES DE PRÉCISION	PRÉCISION	
		INTRAESSAI CV (%)	INTERESSAI CV (%)
Ombrone <i>et al.</i> , 2011 (LC-MS/MS)	Intraessai : 1 spécimen, 5 analyses durant le même jour Interessai : 1 spécimen, 5 préparations sur 5 jours	0,94 – 9,90	3,38 – 9,88
Fong <i>et al.</i> , 2012 (HPLC-MS/MS)	Intraessai : 20 fois dans une analyse Interessai : 1 fois par jour durant 20 jours	2,30 – 9,59	3,25 – 9,63
Stanislaus <i>et al.</i> , 2012 (UPLC-MS)	Intrajour : 1 spécimen, 10 analyses durant le même jour Interjour : 1 spécimen, 3 préparations sur 3 jours	2,5 – 11,4 (intrajour)	3,11 – 11,7 (interjour)

Sigles et acronymes : CV : coefficient de variation; HPLC-MS/MS : chromatographie liquide à haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; UPLC-MS : chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse.

Tableau 5 L'exactitude des analyses d'acylglycines urinaires par la LC-MS/MS et ses variantes

ÉTUDE (MÉTHODE)	CONCENTRATION	EXACTITUDE (%)
Fong <i>et al.</i> , 2012 (HPLC-MS/MS)	normale	90,4 – 109,0*
	élevée	90,8 – 108,4*
Stanislaus <i>et al.</i> , 2012 (UPLC-MS)	10 nM	CV : 2,03 – 12,67 ER : - 5,10 – 8,52
	150 nM	CV : 0,35 – 13,55 ER : - 9,08 – 3,58
	400 nM	CV : 1,92 – 12,96 ER : - 14,87 – 1,78

Sigles et acronymes : CV : coefficient de variation; ER : erreur relative; HPLC-MS/MS : chromatographie liquide à haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem; LLOQ : limite inférieure de la quantification; LOD : limite de la détection; nM : nanomolaire; UPLC-MS : chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse.

* L'exactitude de la méthode est exprimée de la façon suivante : [(moyenne de la concentration observée moins le contrôle négatif)/(concentration du pic)] x 100.

4.3 Données fournies par le demandeur

Les données locales de validation du dosage des 21 acylglycines urinaires (15 de façon quantitative et 6 de façon semi-quantitative) par la LC-MS/MS du CHUS sont présentées dans le tableau 6 (pour plus de détails, voir l'annexe C).

Tableau 6 Données locales de validation de l'analyse des 21 acylglycines urinaires par la LC-MS/MS au CHUS

VALIDATION DE L'ANALYSE DES ACYLGLYCINES URINAIRES AU CHUS		DONNÉES LOCALES* Dosage quantitatif - 15 acylglycines (Dosage semi-quantitatif - 6 acylglycines)
Linéarité	Coefficient de corrélation (R^2)	0,99837 – 0,99975 (0,99591 – 0,99931)
	Concentrations	0,01 – 100 µM (0,01 – 100 µM)
Précision	Intrajour (CV)	4,1 % – 10,0 % (5,2 % – 43,6 %)
	Interjour (CV)	5,3 % – 14,0 % (7,1 % – 27,2 %)
Exactitude	Intrajour (CV)	99,3 % – 111,3 % (65,5 % – 213,6 %)
	Interjour (CV)	101,1 % – 107,2 % (79,4 % – 220,7 %)
Stabilité - Recouvrement	Extrait – 10 jours à 23 °C	84,9 % – 131,0 % (72,6 % – 106,0 %)
	Contrôle matrice – 4 h à 23 °C	93,2 % – 101,2 % (57,4 % – 104,5 %)
	Contrôle matrice – 72 h à 4 °C	88,5 % – 110,7 % (79,7 % – 106,8 %)

Sigles : CV : Coefficient de variation; µM : micromolaire.

* Information fournie par le demandeur. Données pour l'ensemble des 21 acylglycines analysés (15 acylglycines dosés de façon quantitative et les 6 acylglycines dosés de façon semi-quantitative). Tirées du document : Résultats de la validation, « Dosage des acylglycines urinaires par LC-MS/MS ».

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

Les conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois n'ont pas été analysées.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les demandes d'analyses d'acylglycines urinaires sont actuellement envoyées hors Québec à Mayo Medical Laboratories aux États-Unis. En plus d'obtenir un résultat rapide (24 heures si la situation clinique l'exige), le test du demandeur utilise une méthodologie plus sensible, détecte un plus grand nombre d'acylglycines et cible plus de maladies métaboliques que le test offert par le Mayo Medical Laboratories aux États-Unis.

Du point de vue organisationnel, le laboratoire de génétique biochimique du CHUS est désigné par le ministère de la Santé et des Services sociaux comme laboratoire de confirmation biochimique des maladies dépistées par la MS/MS en raison de son expérience et de son expertise dans les domaines des maladies métaboliques héréditaires et de la spectrométrie de masse. Son rôle est de confirmer ou de réfuter un diagnostic provisoire

issu du dépistage sanguin et urinaire chez les nouveau-nés. L'analyse inclut actuellement le dépistage du MCADD.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

L'American College of Medical Genetics a notamment publié trois algorithmes de confirmation diagnostique de certaines EIM [ACMG, 2009a; 2009b; 2009c]. Ces algorithmes incluent l'analyse des acylcarnitines sériques, des acides organiques urinaires et des acylglycines urinaires pour confirmer le diagnostic du MCADD, de l'acidémie glutarique de type II, de l'encéphalopathie éthylmalonique, du déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne courte et du déficit en isobutyryl CoA déshydrogénase (annexes D à F) [ACMG, 2012a; 2012b; 2012c].

Lors de l'usage de la présente analyse dans le suivi d'un dépistage néonatal, des algorithmes seront établis pour chaque maladie ajoutée à la liste d'EIM dépistées, après consultation du comité provincial pour le dépistage néonatal⁸.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La LC-MS/MS permet l'identification et le dosage de certains acylglycines qui étaient auparavant indétectables, y compris, notamment, la différenciation d'isomères d'acylglycines. Elle permet de détecter plusieurs métabolites en un seul test avec un rendement élevé en plus d'être une méthode sensible, spécifique et de ne requérir qu'un entretien minimal de l'équipement.

Deux études ont décrit l'analyse d'acylglycines urinaires d'échantillons provenant de cas cliniques, illustrant ainsi le rôle complémentaire de cette analyse par rapport à celles des acides organiques urinaires et des acylcarnitines sériques dans le diagnostic des EIM.

Trois études retenues ont montré que la LC-MS/MS offre une grande sensibilité de détection, en plus d'être précise (CV < 12 %), reproductible (CV < 15 %) et exacte (CV < 15 %). De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 90 % et aucune interférence n'a été observée.

L'analyse des acylglycines urinaires par la LC-MS/MS proposée par le demandeur permet de détecter 21 acylglycines. Les données analytiques fournies démontrent que cette méthode est précise (CV < 14 %), exacte (98,7 % - 111,3 %) et que le taux de recouvrement est généralement supérieur à 90 %.

Trois algorithmes publiés par l'American College of Medical Genetics incluent notamment l'analyse des acylcarnitines sériques, des acides organiques urinaires et des acylglycines urinaires pour confirmer le diagnostic du déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne moyenne, de l'acidémie glutarique de type II, de l'encéphalopathie éthylmalonique, du déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne courte et du déficit en isobutyryl CoA déshydrogénase.

8. Information fournie par le demandeur.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage des acylglycines urinaires par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Le laboratoire de génétique biochimique du CHUS est désigné par le ministère de la Santé et des Services sociaux comme laboratoire de confirmation biochimique des maladies dépistées par la spectrométrie de masse en tandem.

ANNEXE A

Caractéristiques du profil des acylglycines urinaires dans les désordres métaboliques

Profil des acylglycines urinaires associés aux désordres métaboliques

DÉSORDRE	ACYLGLYCINE URINAIRE
<i>Aciduries organiques</i>	
Acidémie isovalérique	Isovalérylglycine
Déficit multiple en carboxylases	3-Méthylcrotonylglycine
Déficit en bêta-cétothiolase	Tiglylglycine
<i>Désordres de la bêta-oxydation des acides gras</i>	
Acidémie glutarique de type II	Isovalérylglycine Isobutyrylglycine 2-Méthylbutyrylglycine
Déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne moyenne	Hexanoylglycine 3-Phénylpropionylglycine Suberylglycine
Encéphalopathie éthylmalonique	Isobutyrylglycine Isovalérylglycine 2-Méthylbutyrylglycine Hexanoylglycine

Source : La Marca et Rizzo, 2011; Gregersen, 2007.

ANNEXE B

Liste des acylglycines détectés par la méthodologie du Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke et des autres études retenues

Liste des acylglycines urinaires détectés par les méthodes de LC-MS/MS et leurs variantes

ACYLGLYCINE (ABRÉVIATION)	CHUS (N = 21)	FONG <i>ET AL.</i> , 2012 (N = 9)	STANISLAUS <i>ET AL.</i> , 2012 (N = 18)	OMBRONE <i>ET AL.</i> , 2011 (N = 19)
Acetylglycine (AG)	x		x	
[4,4,4-D ₃]Butyrylglycine				x
Butyrylglycine (BG)	x	x	x	x
Crotonylglycine (CG)	x			
Decanoylglycine (DeG)	x*			
Dodecanoylglycine (DoG)	x*			
Furoylglycine (FG)			x	
Glutarylglucose (GG)			x	
4-Hydroxyphenylacetylglucose (HPAG)			x	
Heptanoylglycine (HpG)	x		x	
[6,6,6-D ₃]Hexanoylglycine				x
Hexanoylglycine (HG)	x	x	x	x
[D ₇]Isobutyrylglycine				x
Isobutyrylglycine (IBG)	x	x	x	x
[D ₉]Isovalerylglucose				x
Isovalerylglucose (IVG)	x	x	x	x
(D,L)-[D ₉]2-Methylbutyrylglycine				x
2-Methylbutyrylglycine (2MBG)	x	x	x	x
3-Methylcrotonylglucose (3MCG)	x		x	x
3-Methylcrotonyl-[¹³ C ₂]glucose				x
Myristoylglycine (MyG)	x*			
Octanoylglycine (OG)	x		x	
Oleoylglycine (OIG)	x*			
Palmitoylglycine (PaG)	x*		x	
[D ₅]Phenylpropionylglucose				x
Phenylpropionylglucose (PPG)	x	x	x	x
Pivaloylglycine (PvG)	x*			

ACYLGLYCINE (ABRÉVIATION)	CHUS (N = 21)	FONG <i>ET</i> <i>AL.</i>, 2012 (N = 9)	STANISLAUS <i>ET AL.</i>, 2012 (N = 18)	OMBRONE <i>ET</i> <i>AL.</i>, 2011 (N = 19)
[3,3,3-D ₃]Propionylglycine				x
Propionylglycine (PG)	x	x	x	x
Suberylglycine (SG)	x	x	x	x
Tiglylglycine (TG)	x	x	x	x
Valerylglycine (VG)	x		x	x

Acronyme : CHUS : Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke.

ANNEXE C

Validation de l'analyse des acylglycines urinaires par la LC-MS/MS au CHUS

Résultats de la validation de l'analyse « Dosage des acylglycines urinaires par la LC-MS/MS » au CHUS (données fournies par le demandeur)

Acylglycine	Stabilité - Recouvrement (%)								
	Linéarité		Précision (% CV)		Exactitude (%)		Extrait 10 jours à 23 °C	Contrôle matrice	
	Plage	R ²	Intrajour	Interjour	Intrajour	Interjour		4 h à 23 °C	72 h à 4 °C
Créatinine	0,05 - 30 mM	0,99935	3,4	3,4	98,7	98,9	101,3	97,3	95,8
Acetylglycine	0,01 - 100 µM	0,99874	6,2	10,8	99,3	102,5	90,9	95,8	95,4
Propionylglycine	0,01 - 100 µM	0,99837	10,0	14,0	104,6	101,1	84,9	93,2	88,5
Crotonylglycine	0,01 - 100 µM	0,99932	5,2	5,8	106,2	103,2	103,3	99,5	101,1
Isobutyrylglycine	0,01 - 100 µM	0,99957	5,1	7,2	102,8	105,2	102,9	95,9	93,4
Butyrylglycine	0,01 - 100 µM	0,99946	4,2	10,6	111,3	107,2	113,2	96,4	94,1
Tiglylglycine	0,01 - 100 µM	0,99951	5,1	5,7	101,7	102,0	103,6	98,7	96,3
3-Methyl crotonylglycine	0,01 - 100 µM	0,99933	4,6	7,5	108,5	104,3	102,5	98,5	100,9
2-Methylbutyrylglycine	0,01 - 100 µM	0,99975	5,4	7,3	103,8	104,3	110,6	96,5	91,3
Pivaloylglycine*	0,01 - 100 µM	0,99674	9,5	20,2	213,6	220,7	106,0	104,5	106,8
Isovalerylglycine	0,01 - 100 µM	0,99958	4,1	5,3	102,7	101,6	107,7	97,8	110,7
Valerylglycine	0,01 - 100 µM	0,99944	4,7	8,0	109,6	105,7	108,8	101,2	100,7
Hexanoylglycine	0,01 - 100 µM	0,99893	5,4	6,2	105,6	102,0	104,2	100,1	100,3
Phenylpropionylglycine	0,01 - 100 µM	0,99936	7,2	7,7	104,1	104,2	104,8	98,9	96,1

Heptanoylglycine	0,01 - 100 µM	0,99940	6,5	5,8	108,9	106,3	96,1	98,3	100,4
Octanoylglycine	0,01 - 100 µM	0,99918	5,7	5,3	104,2	104,7	100,3	99,5	100,8
Suberylglycine	0,01 - 100 µM	0,99932	4,6	8,0	108,6	105,0	131,0	96,4	95,4
Decanoylglycine*	0,01 - 100 µM	0,99931	5,2	7,1	99,8	100,3	101,5	97,1	97,1
Dodecanoylglycine*	0,01 - 100 µM	0,99593	10,0	12,9	78,6	88,5	91,8	90,7	88,0
Myristoylglycine*	0,01 - 100 µM	0,99813	16,5	21,5	65,5	80,4	72,6	82,3	79,7
Palmitoylglycine*	0,01 - 100 µM	0,99840	43,6	27,2	121,1	118,3	93,7	57,4	90,8
Oleoylglycine*	0,01 - 100 µM	0,99591	6,7	13,6	69,5	79,4	87,2	72,5	86,8

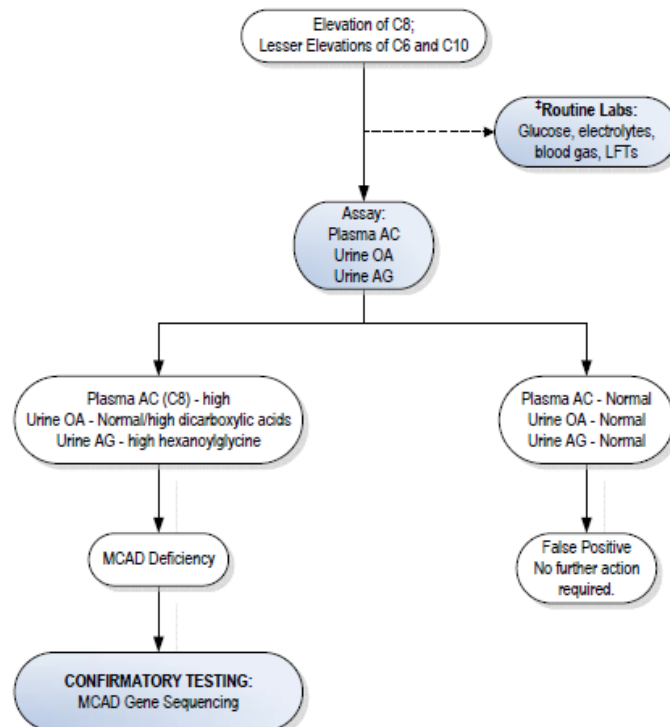
*Analyse semi-quantitative : les résultats des acylglycines PvG, DeG, DoG, MyG, PaG et OIG sont considérés comme semi-quantitatifs, car aucun standard interne n'est disponible pour PvG, DeG, DoG, MyG, et OIG. Bien qu'il y ait un standard interne pour PaG, ce dernier est considéré comme semi-quantitatif en raison d'une très grande variabilité inexpliquée. Plusieurs tests seraient nécessaires pour déterminer l'origine de cette variation. Étant donné la faible importance, il a été décidé qu'une valeur semi-quantitative serait suffisante. Une déviation plus petite de $\pm 20\%$ est acceptable pour les valeurs quantitatives. Si deux contrôles et plus ne respectent pas les critères d'acceptabilité, la séquence doit être reprise (information tirée du protocole du CHUS, PRG-8200-ACGUR-01-A).

ANNEXE D

Algorithme utilisé par l'American College of Medical Genetics pour le dépistage du déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne moyenne



C8 Elevated + Lesser Elevations of C6 and C10



Abbreviations/Key

AC = acylcarnitine
AG = acylglycine
LFTs = liver function tests
MCAD = Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase
OA = organic acid

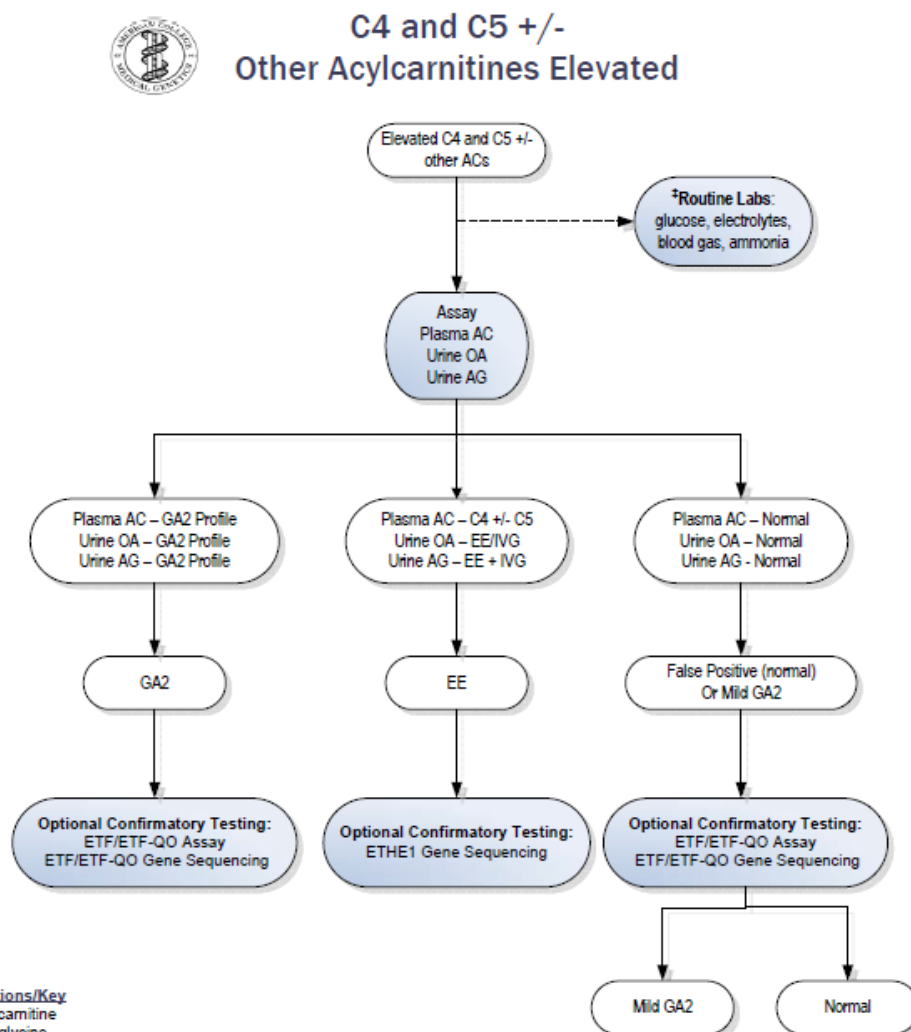
‡ = When the positive predictive value of screening is sufficiently high and the risk to the newborn is high, some initiate diagnostic studies that are locally available at the same time as confirmation of the screening result is done.

Actions are shown in shaded boxes; results are in the unshaded boxes.

Source : ACMG, 2009a.

ANNEXE E

Algorithme utilisé par l'American College of Medical Genetics pour le dépistage de l'acidémie glutarique de type II et de l'encéphalopathie éthylmalonique



† = When the positive predictive value of screening is sufficiently high, some initiate diagnostic studies that are locally available at the same time as confirmation of the screening result is done.

Actions are shown in shaded boxes; results are in the unshaded boxes.

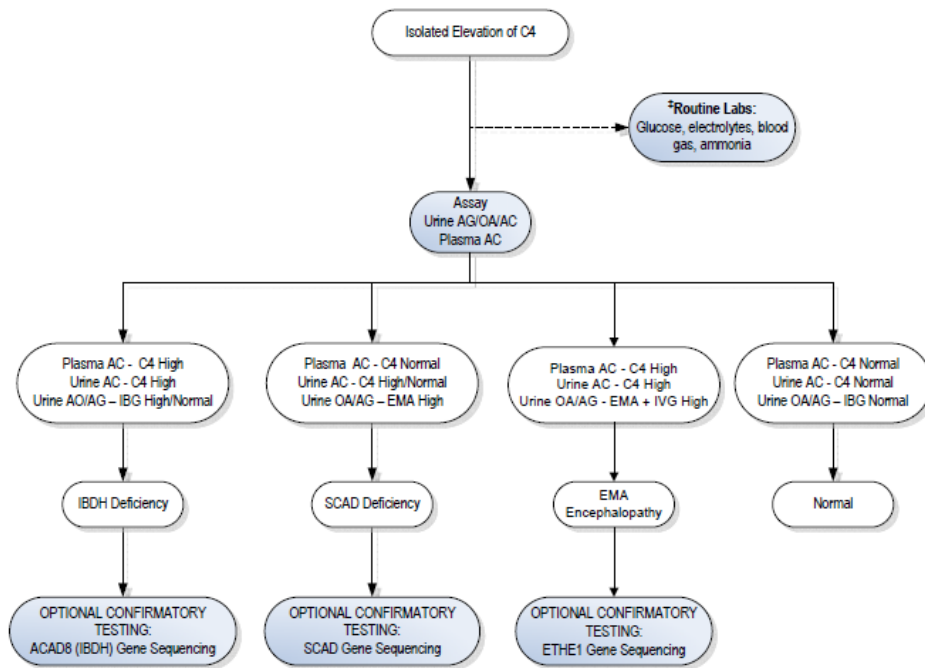
Source : ACMG, 2009c.

ANNEXE F

Algorithme utilisé par l'American College of Medical Genetics pour le dépistage de l'encéphalopathie éthylmalonique, du déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne courte et du déficit en isobutyryl CoA déshydrogénase



C4 Elevated (Isolated)



Abbreviations/ Key:

AC = acylcarnitine
 ACAD8 = Acyl-CoA dehydrogenase family, member 8
 AG = acylglycine
 C4 = C4 acylcarnitine
 EMA = ethylmalonic acid
 IBDH = isobutyryl-CoA dehydrogenase
 IBG = isobutyrylglycine
 IVG = isovalerylglycine
 OA = organic acid
 SCAD = short chain acyl-CoA dehydrogenase

† = When the positive predictive value of screening is high and the risk to the infant is high, some initiate diagnostic studies that are locally available at the same time as confirmation of the screening result is done.

Actions are shown in shaded boxes; results are in the unshaded boxes.

Source : ACMG, 2009b.

RÉFÉRENCES

- Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). La spectrométrie de masse en tandem et le dépistage néonatal sanguin au Québec : rapport sommaire. Rapport sommaire préparé par Héla Makni, Carole St-Hilaire, Laura Robb, Kathy Larouche et Ingeborg Blancquaert. ETMIS 2007;3(3):1-79.
- American College of Medical Genetics (ACMG). Newborn screening ACT sheet [Elevated C8 with lesser elevations of C6 and C10 acylcarnitine]. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency. Bethesda, MD : ACMG; 2012a. Disponible à : <http://www.ok.gov/health2/documents/Medium-chain%20Acyl-CoA%20Dehydrogenase%20Deficiency%20ACT%20Sheet%20&%20Algorithm.pdf>.
- American College of Medical Genetics (ACMG). Newborn screening ACT sheet [Elevated C4 acylcarnitine]. Short-chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD) deficiency. Bethesda, MD : ACMG; 2012b. Disponible à : <https://www.acmg.net/StaticContent/ACT/C4.pdf>.
- American College of Medical Genetics (ACMG). Newborn screening ACT sheet [Elevated C4 and C5 +/- other acylcarnitines]. Glutaric aciduria type 2 (GA2). Bethesda, MD : ACMG; 2012c. Disponible à : https://www.acmg.net/StaticContent/ACT/C4_C5.pdf.
- American College of Medical Genetics (ACMG). C8 Elevated + Lesser Elevations of C6 and C10 [algorithmique clinique]. Bethesda, MD : ACMG; 2009a. Disponible à : https://www.acmg.net/StaticContent/ACT/Algorithms/Visio-C8.vsd;_C6-C10.pdf.
- American College of Medical Genetics (ACMG). C4 Elevated (Isolated) [algorithmique clinique]. Bethesda, MD : ACMG; 2009b. Disponible à : <https://www.acmg.net/StaticContent/ACT/Algorithms/Visio-C4.pdf>.
- American College of Medical Genetics (ACMG). C4 and C5 +/- Other Acylcarnitines Elevated [algorithmique clinique]. Bethesda, MD : ACMG; 2009c. Disponible à : https://www.acmg.net/StaticContent/ACT/Algorithms/Visio-C4_C5_+--_other_AC.pdf.
- Ciccimaro E et Blair IA. Stable-isotope dilution LC-MS for quantitative biomarker analysis. Bioanalysis 2010;2(2):311-41.
- Fong BM, Tam S, Leung KS. Quantification of acylglycines in human urine by HPLC electrospray ionization-tandem mass spectrometry and the establishment of pediatric reference interval in local Chinese. Talanta 2012;88:193-200.
- Fukao T. Déficit en bêta-cétothiolase. Paris, France : Orphanet; 2015. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=134.
- Grebe SK et Singh RJ. LC-MS/MS in the clinical laboratory—Where to from here? Clin Biochem Rev 2011;32(1):5-31.

- Gregersen N. Encéphalopathie éthylmalonique [site Web]. Paris, France : Orphanet; 2007. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=51188.
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Pertinence d'élargir le programme de dépistage néonatal sanguin au Québec. Rapport rédigé par Brigitte Côté et Cathy Gosselin. ETMIS 2013;9(7):1-51. Disponible à : http://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Rapports/Genetique/INESSS_Depistage_neonatal_sanguin.pdf.
- La Marca G et Rizzo C. Analysis of organic acids and acylglycines for the diagnosis of related inborn errors of metabolism by GC- and HPLC-MS. *Methods Mol Biol* 2011;708:73-98.
- Lehotay DC, Hall P, Lepage J, Eichhorst JC, Etter ML, Greenberg CR. LC-MS/MS progress in newborn screening. *Clin Biochem* 2011;44(1):21-31.
- Lewis-Stanislaus AE et Li L. A method for comprehensive analysis of urinary acylglycines by using ultra-performance liquid chromatography quadrupole linear ion trap mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* 2010;21(12):2105-16.
- Matern D et Rinaldo P. Medium-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency [site Web]. Dans : Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., réd. *GeneReviews*®. Seattle, WA : University of Washington; 2015. Disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301597>.
- Ombrore D, Salvatore F, Ruoppolo M. Quantitative liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry analysis of urinary acylglycines: Application to the diagnosis of inborn errors of metabolism. *Anal Biochem* 2011;417(1):122-8.
- Orphanet. Acidémie isovalérique [site Web]. Paris, France : Orphanet; 2005. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=33.
- Raghuveer TS, Garg U, Graf WD. Inborn errors of metabolism in infancy and early childhood: An update. *Am Fam Physician* 2006;73(11):1981-90.
- Saudubray J-M. Déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénases [site Web]. Paris, France : Orphanet; 2004. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=26791.
- Stanislaus A, Guo K, Li L. Development of an isotope labeling ultra-high performance liquid chromatography mass spectrometric method for quantification of acylglycines in human urine. *Anal Chim Acta* 2012;750:161-72.
- Wolf B. Déficit multiple en carboxylases [site Web]. Paris, France : Orphanet; 2011. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=148.

DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (ESSAI HPLC-HMSA) ET PAR ELISA (IMMUNOESSAI) (RÉFÉRENCES – 2015.01.01 ET 2015.04.01)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeurs** : CHUM – Pavillon Notre-Dame et HMR – Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 23 décembre 2015
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r Lambert Busque et la D^{re} Annie-Claude Labbé n'ont pas participé aux délibérations et ils se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, l'expert consulté est le D^r Waqqas Affif, gastroentérologue au Centre universitaire de santé McGill (Hôpital Royal Victoria)

2 ANALYSES ET TECHNIQUES ÉVALUÉES

2.1 Nom des analyses

Deux demandes distinctes ont été analysées par l'INESSS. Les demandeurs ont proposé des approches techniques différentes.

Mesure quantitative par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) par essai *homogenous mobility shift assay* (HMSA) pour la détection de l'adalimumab (ADA) et des anticorps anti-ADA.

Essai immuno-enzymatique de type ELISA avec résultat quantitatif pour l'adalimumab (ADA), et résultat semi-quantitatif pour la détection des anticorps anti-ADA.

2.2 Description brève des analyses et précisions techniques et cliniques

L'adalimumab (Humira^{MC}) est un anticorps monoclonal humain dirigé contre le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), une molécule pro-inflammatoire.

Lorsqu'il est conjugué à l'ADA, le TNF- α ne peut plus exercer son activité pro-inflammatoire. Toutefois, il est possible qu'une personne traitée avec ce genre de médicament biologique développe une réponse immunitaire contre l'adalimumab en cours de traitement, et ce, par la production d'anticorps anti-ADA.

HPLC-HMSA

Cette technique d'analyse mesure la concentration sérique d'ADA libre juste avant l'administration d'une nouvelle dose, ici nommée « concentration seuil », ainsi que la présence d'anticorps anti-ADA. Le dosage des deux analytes est fait séparément, mais il repose sur une approche similaire. Pour le dosage de l'ADA libre présent dans le sérum, on utilise le TNF- α couplé à l'alexa fluor 488 (TNF-488) comme substrat. Pour le dosage des anticorps anti-ADA potentiellement présents dans le sérum, on utilise l'adalimumab couplé à l'alexa fluor 488 (ADA-488) comme substrat. La formation ainsi que la quantification de complexes TNF-488/ADA ou ADA-488/anti-ADA sont mesurées par HPLC. Les complexes formés apparaissent sous l'apparence de pics tardifs qui sont comparés au pic du substrat seul. Le calcul des proportions d'ADA ou de TNF- α libres par rapport à la portion séquestrée sous forme de complexes assure la quantification d'ADA ou des anticorps anti-ADA.

ELISA

La mesure quantitative du niveau sérique d'ADA présent dans l'échantillon est réalisée avec la trousse Promonitor[®]-ADL. Il s'agit d'un essai ELISA de type sandwich qui consiste à permettre l'hybridation de l'ADA libre présent dans le sérum à un anticorps anti-ADA humain préalablement fixé sur un support solide (micropuits). La quantification est effectuée après l'hybridation d'un deuxième anticorps monoclonal, couplé à l'enzyme HRP et dirigé contre la portion ADA des complexes ADA/anti-ADA fixés sur le support. Une réaction enzymatique utilisant un substrat chromogénique permet la quantification de l'ADA par spectrophotométrie et à l'aide d'une courbe de calibration. Le signal obtenu est proportionnel à la quantité d'ADA dans l'échantillon analysé.

La mesure semi-quantitative des anticorps anti-ADA est réalisée avec la trousse ELISA Promonitor[®]- anti-ADL. La procédure qui permet de quantifier les taux sériques d'anti-ADA est similaire à la précédente.

Ces mesures serviront à évaluer l'efficacité du traitement avec l'ADA et à prédire les réactions indésirables possibles. Selon le cas, les doses administrées peuvent être optimisées ou une autre avenue thérapeutique pourrait être envisagée. L'ADA est un médicament d'exception au Québec. Les indications reconnues par Santé Canada ainsi que les indications de paiement au Québec sont présentées à l'annexe A.

2.3 Modalités d'administration du test

HPLC-HMSA

Les prélèvements seront effectués à l'hôpital à l'aide d'une ponction veineuse. La trajectoire prévue pour l'échantillon n'a pas été explicitement détaillée.

ELISA

Les échantillons seront prélevés aux centres de prélèvement de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont. Ils seront ensuite centrifugés, décantés et congelés avant d'être acheminés sur glace sèche au laboratoire de biochimie de l'hôpital, par les différents systèmes de courrier et transporteurs déjà en place. Une fois reçus au laboratoire, les échantillons seront enregistrés et le processus d'analyse sera immédiatement amorcé.

2.4 Société ou développeur

HPLC-HMSA

La méthode HPLC-HMSA utilisée par le demandeur a été décrite par Wang et ses collègues [2013].

ELISA

La mesure quantitative des niveaux sériques d'ADA et d'anti-ADA présents dans l'échantillon sera réalisée avec les trousse Promonitor[®]-ADL et Promonitor[®]-anti-ADL (Proteomika S.L., filiale de Progenika- Biopharma S.A., Espagne).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA) : La méthode ELISA repose sur l'utilisation des trousse Promonitor-ADL et Promonitor-anti-ADL. Ces deux trousse sont homologuées par Santé Canada (n^{os} d'homologation 94465 et 94466).

2.6 Valeur pondérée : HPLC-HMSA : 77,14 et ELISA : 106.

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par la présente analyse sont ceux atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin (MII) traitée avec l'adalimumab, qui ne répondent pas au traitement ou qui ont cessé d'y répondre. L'indication principale de cette analyse est l'évaluation de l'absence ou de la perte de réponse thérapeutique chez les patients.

3.2 Description de la maladie visée

Les maladies intestinales inflammatoires (MII) comprennent notamment la maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU). Il s'agit de maladies récidivantes caractérisées par une inflammation chronique du tube digestif et dont les manifestations cliniques comprennent, entre autres, des diarrhées et des douleurs abdominales [Porter, 2014].

L'inflammation résulte d'une réponse immunitaire inappropriée et elle implique la libération de plusieurs médiateurs inflammatoires, dont le TNF- α [Porter, 2014]. Les MII touchent des patients d'âge variable, mais elles débutent habituellement avant 30 ans, avec un pic d'incidence entre 14 et 24 ans. Elles peuvent avoir un second pic, moins important en incidence, entre 50 et 70 ans [Porter, 2014]. Selon les données cumulées entre 1998 et 2000 au Canada, l'incidence moyenne pour la MC et la CU était respectivement de 13,4 cas et

11,8 cas par 100 000 personnes-années [Fedorak *et al.*, 2010]. Le Québec figure parmi les provinces où le taux d'incidence de la MC est parmi les plus élevés au pays, soit 20,2 cas/100 000 personnes-années [Fedorak *et al.*, 2010; Lowe *et al.*, 2009].

Les données du recensement 2007-2008 indiquent que la prévalence de la MC et de la CU au Canada était respectivement de 374 et 456 cas par 100 000 de population. Au Québec, entre 1993 et 2002, la prévalence de la MC est passée de 83 cas à 270 cas par 100 000 personnes [Lowe *et al.*, 2009].

Concernant la mortalité principalement attribuable à la MC et à la CU, des moyennes annuelles de 97 et de 39 décès ont été enregistrées au Canada entre 2007 et 2011, soit environ 0,06 % de tous les décès pendant la même période⁹.

3.3 Volumétries attendues

CHUM : 280 échantillons/année et HMR : 240 échantillons/année.

3.4 Spécialité médicale concernée

Gastroentérologie

3.5 Données médico-administratives

Selon les données fournies par le MSSS concernant les envois hors Québec pour 2014-2015 :

- Prometheus Lab (HPLC-HMSA) : 9 envois à 2 575 \$ l'unité pour un total de 23 175 \$;
- Université de Leuven (ELISA) : 21 envois à 87 \$ l'unité¹⁰ pour un total de 1 827\$;
- Gamma Dynacare Medical Laboratories (ELISA) : 7 envois à 295 \$ l'unité pour un total de 2 065 \$.

3.6 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, le dosage de l'ADA et des anticorps anti-ADA est réalisé hors réseau. Le MSSS a récemment inscrit dans son répertoire une analyse semblable pour la détection de l'infliximab (IFX) et des anticorps anti-IFX par ELISA (code : 30098). Toutefois, les données concernant la volumétrie relative à cette analyse ne sont pas encore disponibles.

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Les effets secondaires liés à la médication, l'absence de réponse primaire ou la pharmacorésistance secondaire sont des problèmes fréquemment rencontrés avec les agents anti-TNF. Ces agents possèdent une fenêtre thérapeutique étroite et ils sont dotés d'une grande variabilité interindividuelle. Par exemple, lorsque la concentration d'ADA dans l'organisme se situe sous un seuil minimal, une réponse thérapeutique adéquate ne peut être obtenue et des anticorps anti-ADA peuvent se développer. L'analyse proposée constitue un outil de pharmacovigilance favorisant l'optimisation du traitement.

9. Statistique Canada, CANSIM – Tableau 102-0531 – Décès, selon la cause, chapitre XI : Maladies de l'appareil digestif (K00 to K93), le groupe d'âge et le sexe, Canada, annuel (2007-2011). Disponible à : <http://www5.statcan.gc.ca/cansim/home-accueil?lang=fra&p2=50&HPA> (consulté le 30 juin 2015).

10. KU Leuven. adalimumab/golimumab/etanercept (English) [site Web]. Disponible à : <https://pharm.kuleuven.be/biotech/TherandDiagAnt/infliximab-adalimumab-hoofdfolder/adalimumab-engels> (consulté le 17 juillet 2015).

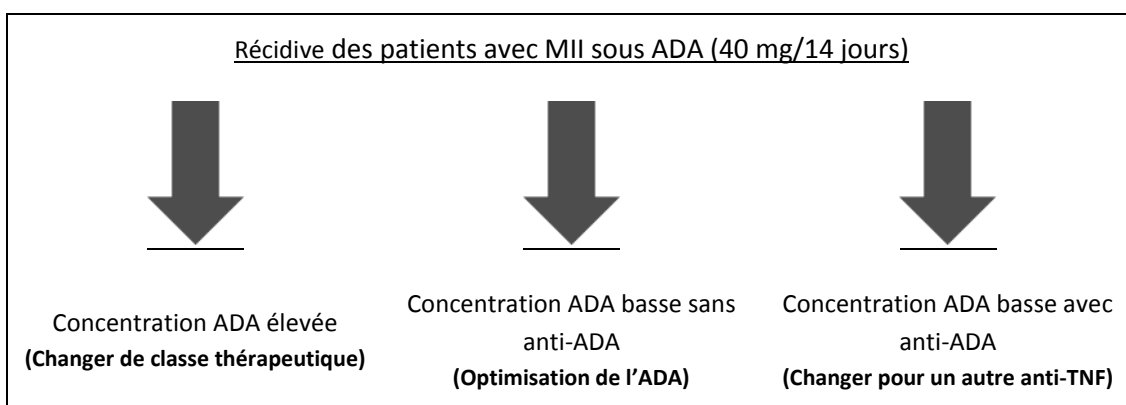
En cas d'absence ou de perte de réponse à l'ADA, l'analyse proposée permettrait d'optimiser le traitement au moyen d'une des actions cliniques suivantes (voir figure 1) :

- une intensification du régime posologique;
- un changement d'anti-TNF;
- un changement de classe thérapeutique.

Cela contribuerait à une meilleure gestion clinique des maladies en favorisant l'usage d'algorithmes de traitement tout en diminuant le recours à d'autres services de santé (visites à l'urgence, hospitalisations, visites chez le médecin, etc.).

Contrairement à la méthode ELISA, l'analyse par HPLC-HMSA inclut une étape de dissociation acide entre l'ADA et les anticorps anti-ADA potentiellement présents dans le sérum des patients. Cela permet d'effectuer l'analyse sans tenir compte du moment de la dernière prise du médicament. En effet, l'ADA est administré aux 2 semaines et sa demi-vie varie entre 10 et 20 jours¹¹. Ainsi, lorsque l'on mesure la présence d'anticorps anti-ADA avant une injection, il est possible qu'il reste jusqu'à 25 % de l'ADA en circulation¹².

Figure 1 Algorithme thérapeutique en fonction des concentrations seuils d'ADA et d'anticorps anti-ADA chez les patients en récurrence de MII sous ADA



Source : Roblin *et al.*, 2014b.

3.8 Assurance qualité

HMSA

Aucun contrôle externe de la qualité n'est disponible pour le moment, mais une stratégie de contrôle par échange d'échantillons avec un laboratoire privé est envisagée.

ELISA

Selon le demandeur, un programme d'assurance qualité sera mis sur pied afin d'assurer la fiabilité et l'intégrité des résultats, et ce, sous la responsabilité professionnelle d'un biochimiste clinique. À ce jour, il n'y a aucun programme commercial externe de contrôle de la qualité pour l'analyse de l'ADA et des anticorps anti-ADA. Un tel programme sera mis sur pied avec le laboratoire GD Diagnostics, dans lequel des échantillons anonymes seront

11. Corporation AbbVie. Monographie d'Humira^{MC}, disponible à : http://www.abbvie.ca/content/dam/abbviecorp/ca/fr/docs/HUMIRA_PM_FR.pdf.

12. Communications personnelles avec le D^r Waqqas Afif, gastroentérologue, Hôpital Royal Victoria, Centre universitaire de santé McGill (20 avril 2015).

échangés tous les trois mois entre les deux sites. Ce type de programme de contrôle de la qualité est déjà en place pour l'analyse de l'IFX et des anticorps anti-IFX.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic.

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie.

4.3 Valeur thérapeutique

Une étude prospective observationnelle a évalué l'association entre la pharmacocinétique de l'ADA, la rémission clinique et la guérison de la muqueuse intestinale chez 40 patients atteints de MII (22 MC et 18 CU) [Roblin *et al.*, 2014a]. Les patients répondant à un traitement d'induction à l'ADA ont reçu une thérapie de maintien. L'obtention d'une rémission clinique et d'une guérison des muqueuses a été évaluée à l'aide de critères cliniques et endoscopiques établis. Les échantillons sanguins ont été prélevés de manière à déterminer la concentration seuil d'ADA et la présence d'anticorps anti-ADA, et ce, à l'aide d'une méthode ELISA. À la suite d'un traitement d'une durée moyenne de 10,7 mois, le taux de rémission clinique était de 33 % et le taux de guérison de la muqueuse intestinale était de 40 %. La médiane de la concentration d'ADA mesurée au seuil était de 4,9 µg/ml (soit entre 1,6 µg/ml et 6 µg/ml). Des anticorps anti-ADA ont été détectés chez 9 patients (22,5 %).

La médiane de la concentration d'ADA mesurée au seuil était significativement plus élevée chez les patients en rémission clinique que chez les patients avec une maladie active (6,02 µg/ml c. 3,2 µg/ml; $p = 0,012$). Ces valeurs étaient également plus élevées chez les patients avec guérison de la muqueuse que chez les patients sans guérison de la muqueuse (6,5 µg/ml c. 4,2 µg/ml; $p < 0,005$). Concernant les titres d'anticorps anti-ADA, aucune différence significative n'a été constatée.

L'analyse d'une courbe ROC a permis d'identifier la concentration seuil optimale d'ADA relativement à la prédiction d'une guérison des muqueuses (aire sous la courbe = 0,77; $p = 0,005$). L'absence de guérison des muqueuses a été associée à des valeurs seuils d'ADA inférieures à 4,9 µg/ml (rapport de vraisemblance : 4,3; sensibilité : 66 %; spécificité : 85 %). Une analyse multivariée a démontré que les concentrations seuils et la durée du traitement à l'ADA étaient les deux seuls facteurs indépendamment associés à la guérison des muqueuses (risque relatif - RR = 0,62; intervalle de confiance à 95 % - IC95 % : 0,40-0,94; $p = 0,026$) et (RR = 0,82; IC95 % : 0,68-0,97; $p = 0,026$), respectivement [Roblin *et al.*, 2014a].

En conclusion, une concentration seuil supérieure à 4,9 µg/ml d'ADA prédit une rémission clinique et la guérison des muqueuses intestinales.

Roblin et ses collègues [2014b] ont également réalisé une étude prospective unicentrique dont l'objectif principal était de déterminer si le suivi de l'ADA pouvait prédire un échec thérapeutique suivant une intensification de la dose [Roblin *et al.*, 2014b]. Au total, 82 patients ont été inclus au traitement de maintien à l'ADA en raison d'un échec thérapeutique documenté. Les paramètres de l'évaluation étaient la proportion des patients

en rémission à 6 mois et à 1 an après une intensification de la dose ou une substitution par l'infliximab (chez 52 patients).

La concentration seuil d'ADA et la présence d'anti-ADA ont été évaluées par ELISA à partir d'un échantillon sanguin prélevé juste avant l'administration d'une nouvelle dose (ADA ou IFX). À la suite des mesures sériques effectuées, la valeur prédictive d'une rémission clinique a été calculée dans trois groupes de patients (tableaux 1 et 2) :

- concentration seuil d'ADA > 4,9 µg/ml (n = 41) et anticorps anti-ADA détectables (10 d'entre eux);
- concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/ml et anticorps anti-ADA non détectables (n = 24);
- concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/ml et anticorps anti-ADA détectables (n = 17).

Tableau 1 Réponse clinique à l'intensification de la dose d'adalimumab en fonction des paramètres du suivi thérapeutique chez des patients atteints d'une MII récidivante

	GROUPE 1 N = 41*	GROUPE 2 N = 24	GROUPE 3 N = 17
INTENSIFICATION DE LA DOSE D'ADALIMUMAB N (%)			
Patients en rémission à 6 mois	12 (29,2)	16 (67)	2 (12)
Patients en rémission à 1 an	0 (0)	13 (52)	0 (0)
Patients sans rémission	15 (37)	2 (8)	10 (58)
Survie moyenne sans récurrence [†]	5 mois (± 2)	15 mois (± 5)	4 mois (± 3)

Source : Roblin *et al.*, 2014b.

*10 patients avec anticorps anti-ADA détectables (aucune influence sur le taux de rémission).

[†]Temps entre l'optimisation de la dose et l'échec thérapeutique.

Tableau 2 Réponse clinique à la substitution de l'adalimumab par l'infliximab en fonction des paramètres du suivi thérapeutique chez des patients atteints d'une MII récidivante

	GROUPE 1 N = 29*	GROUPE 2 N = 8	GROUPE 3 N = 15
ÉCHEC DE L'INTENSIFICATION DE L'ADALIMUMAB : SUBSTITUTION PAR L'INFLIXIMAB N (%)			
Patients en rémission à 6 mois	2 (6,9)	2 (25)	12 (80)
Patients en rémission à 1 an	0 (0)	0 (0)	8 (55)
Patients sans rémission	20 (68)	4 (50)	2 (13)
Survie moyenne sans récurrence [†]	3 mois (± 2)	5 mois (± 3)	14 mois (± 7)

Source : Roblin *et al.*, 2014b.

* 6 patients avec anticorps anti-ADA détectables.

[†] Temps entre la substitution de l'ADA par l'IFX et l'échec thérapeutique.

Ces résultats démontrent ce qui suit :

- une concentration seuil d'ADA > 4,9 µg/mL (groupe 1) est associée à un échec de traitement aux deux anti-TNF (ADA et IFX) dans la majorité des cas de perte de réponse

à l'ADA; un changement de classe thérapeutique devrait être considéré [Roblin *et al.*, 2014b];

- une concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/mL sans présence d'anticorps anti-ADA (groupe 2) prédit une rémission clinique dans 67 % des cas à 6 mois et dans 52 % des cas à 1 an, et ce, après intensification de la dose d'ADA;
- une concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/mL avec présence d'anticorps anti-ADA (groupe 3) prédit un échec dans 88 % des cas à 6 mois et dans 100 % des cas à 1 an, et ce, malgré une intensification de la dose d'ADA. Une substitution d'anti-TNF devrait alors être envisagée.

L'étude de cohorte rétrospective multicentrique de Yanai et ses collègues [2015] a été réalisée auprès de 247 patients atteints d'une MII et traités avec un anti-TNF. Elle avait pour but d'évaluer la corrélation entre la concentration seuil d'anti-TNF, l'apparition d'anticorps contre ces médicaments et l'issue des interventions réalisées en cas de perte de réponse. Les mesures ont été effectuées par ELISA. Au total, 330 épisodes de perte de réponse ont été évalués, dont 142 uniquement pour l'ADA. La réapparition des symptômes de MII devait être accompagnée d'une activité inflammatoire documentée (protéine C, calprotectine fécale, endoscopie ou imagerie) [Yanai *et al.*, 2015].

- Concernant la valeur prédictive d'une récurrence de l'activité inflammatoire, une analyse de type ROC a permis d'établir la concentration seuil optimale d'ADA à 3 µg/ml (aire sous la courbe = 0,79; sensibilité : 73 %; spécificité : 79 %; $p < 0,01$).
- Une intensification de la dose a été effectuée dans 52 des 142 épisodes de perte de réponse à l'adalimumab (37 %). Une différence significative entre les concentrations seuils moyennes mesurées chez les patients avec réponse à l'intensification et ceux sans réponse a été calculée (0,3 µg/ml c. 3,2 µg/ml, respectivement; $p < 0,01$). Toutefois, selon les auteurs, la valeur prédictive de la réponse à l'intensification de la dose d'ADA par l'intermédiaire d'une mesure de la concentration seuil demeure modeste (AUROC, 0,67; sensibilité $\approx$ 80 %; spécificité : < 60 %; $p < 0,01$). Un chevauchement dans la distribution des mesures de la concentration résiduelle d'ADA entre les deux groupes pourrait expliquer cette situation.
- C'est à une valeur supérieure à 4,5 µg/ml que la concentration seuil d'ADA prédit plus clairement un échec de l'intensification de la dose (spécificité : 90 %; VPP : 85 %; VPN : 39,5 %) et prédit, par le fait même, une réponse favorable à un changement d'anti-TNF (spécificité : 75 %; VPP : 88 %; VPN : 26 %) ou à un changement de classe thérapeutique (spécificité : 100 %; VPP : 100 %; VPN : 74 %).
- Concernant les concentrations d'anticorps anti-ADA mesurées juste avant l'intensification de la dose ($n = 52$), un certain chevauchement des valeurs a également été constaté selon que l'intervention se soldait par une réponse ou non. Toutefois, un titre d'anticorps anti-ADA supérieur à 4 µg/ml-éq prédit un échec thérapeutique à court terme (spécificité : 90 %; VPP: 76 %; VPN: 75 %).

L'étude prospective de Ben-Horin et ses collègues [2012] avait pour objectif de suivre la baisse des titres d'anticorps anti-IFX et d'anticorps anti-ADA après l'arrêt du traitement. Elle visait également à déterminer l'utilité clinique de mesurer les concentrations de ces anticorps avant la réintroduction d'un traitement similaire [Ben-Horin *et al.*, 2012]. L'évaluation de ces paramètres a été réalisée par ELISA chez deux cohortes distinctes. La première comportait 22 patients, dont 16 recevaient l'IFX et 6 l'ADA, alors que la deuxième comportait 27 patients

en arrêt de traitement depuis au moins 4 mois, parmi lesquels 24 patients avaient reçu l'IFX et 3 l'ADA. Les résultats sont présentés aux tableaux 3 et 4.

Tableau 3 Fréquence de détection d'anticorps anti-IFX et d'anticorps anti-ADA en fonction du temps après l'arrêt du traitement

	COHORTE 1 (N = 22)	
	IFX	ADA
PRÉSENCE D'ANTICORPS ANTI-TNF APRÈS ARRÊT DU TRAITEMENT N (%)		
À l'arrêt du traitement (temps 0)	16 (100)	6 (100)
6 mois après l'arrêt du traitement	8 (50)	4 (66,7)
12 mois après l'arrêt du traitement	3 (18,7)	4 (66,7)

Source : Ben-Horin *et al.*, 2012.

Contrairement à la baisse relativement rapide des titres d'anticorps anti-IFX chez la majorité des patients, les anticorps anti-ADA étaient toujours détectables chez 4 des 6 patients un an après l'arrêt du traitement ($p = 0,04$ pour la comparaison entre les taux de détection à 12 mois).

Tableau 4 Réponse clinique à une réintroduction du traitement anti-TNF en fonction de la présence ou non d'anticorps anti-IFX et d'anticorps anti-ADA

COHORTE 2 (N = 27)		ÉCHEC À LA RÉINTRODUCTION	RAPPORT DE COTES
Présence d'anti-IFX ou d'anti-ADA N (%)	Oui : 5 (18,5)	3 (60)	1,5 [IC95 % : 0,2-11]
	Non : 22 (81,5)	11 (50)	

Source : Ben-Horin *et al.*, 2012.

On a observé que 5 des 27 patients présentaient des concentrations détectables d'anticorps anti-IFX ou d'anticorps anti-ADA avant la réintroduction de l'anti-TNF. La présence d'anticorps anti-TNF au moment de la réintroduction du médicament n'a pas été associée à un risque significativement accru d'échec thérapeutique (RC = 1,5; IC95 % : 0,2-11; $p = 0,7$).

Au moment de la réintroduction d'un traitement anti-TNF, le risque d'échec thérapeutique est significativement plus élevé lorsque ce dernier a initialement été suspendu en raison d'une perte de réponse comparativement à d'autres raisons telles qu'une complication infectieuse, une grossesse, un retrait volontaire, etc. (RC = 6,0; IC95 % : 1,1-34; $p = 0,04$).

4.4 Validité analytique

En 2013, Wang et ses collègues ont développé et validé une méthode d'analyse de type HPLC-HMSA afin de mesurer les concentrations d'ADA et d'anticorps anti-ADA dans le sérum. Les expériences de validation ont été réalisées à partir du sérum de lapins immunisés à l'ADA. Des dilutions en série de ces échantillons de référence ont été réalisées afin de produire une courbe standard. Les résultats sont résumés au tableau 5.

Tableau 5 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA et des anticorps anti-ADA par HPLC-HMSA

ANALYTE	LOD (n = 29)	LLOQ (n = 29)	ULOQ (n = 29)	PRÉCISION ET JUSTESSE DES MESURES		CONCORDANCE (valeurs mesurées et attendues)	RÉGRESSION LINÉAIRE Pente	INTERFÉRENCE
				intraessai (n = 10)	interessai (n = 11)			
ADA (µg/ml)	0,018	0,04	1,1	CV < 19,2 % Erreur < 2,7 %	CV < 11,7 % Erreur < 21,2 %	R ² = 0,9933	0,9747	<u>OUI</u> : TNFα à 100ng/ml (16 000X la normale) <u>NON</u> : TNFα, TNFβ Ig, Facteurs rhumatoïdes, Sérum hémolysé, Azathioprine 10 µM et Méthotrexate 2 mM
Anti-ADA (U/ml)	0,026	0,063	25	CV < 2,2 % Erreur < 12,6 %	CV < 8,5 % Erreur < 17,2 %	R ² = 0,9977	0,876	

Source : Wang *et al.*, 2013.

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; anti-ADA : anticorps anti-adalimumab; CV : coefficients de variation;
Ig : immunoglobulines; LLOQ : *lower limit of quantification*; LOD : *limit of detection*; ULOQ : *upper limit of quantification*.

Les auteurs ont testé 100 échantillons de sérum provenant de sujets naïfs à l'ADA afin de déterminer les valeurs maximales pouvant être enregistrées chez un individu sain (bruit de fond). Concernant les anti-ADA en HMSA, les valeurs moyennes de l'aire sous la courbe du pic décalé, normalement associé au complexe anti-ADA/ADA-488, étaient très près de celles de la limite de détection (LOD). Après avoir extrapolé une concentration moyenne sur la courbe standard, le seuil minimal cliniquement significatif a été établi à 0,549 U/ml. Un seul échantillon témoin présentait une concentration d'anticorps anti-ADA supérieure à cette valeur, soit 0,630 U/ml. La spécificité de l'essai a donc été établie à 99 %.

Une approche semblable a été réalisée pour l'ADA/TNF-488. La concentration maximale seuil cliniquement significative a été établie à 0,676 µg/ml, ce qui représente une spécificité de 97 % pour cet essai.

En 2012, Llinares-Tello et ses collègues ont évalué la performance analytique de deux essais ELISA Promonitor®¹³ relativement au suivi thérapeutique de l'ADA et au dosage des anticorps anti-ADA chez des patients recevant le médicament. La variabilité inter et intraessai a été évaluée sur trois jours différents en réalisant l'analyse des mêmes échantillons en duplicata. La linéarité a été évaluée en effectuant des dilutions sériées d'un échantillon de référence. Les résultats sont résumés au tableau 6.

13. Même si ce sont les trousses Promonitor® qui sont visées par cette étude, des différences méthodologiques ont été notées comparativement aux formulaires transmis par le demandeur.

Tableau 6 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA et des anticorps anti-ADA par ELISA

ANALYTE	LOD	PRÉCISION (CV)		LINÉARITÉ (R ²)
		INTRAESSAI	INTERESSAI	
ADA	0,4 ng/ml	7,2 % à 9,5 %	11,9 % à 13,7 %	0,990 à 0,993
Anti-ADA	ND			

Source : Llinares-Tello *et al.*, 2012.

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; anti-ADA : anticorps anti-adalimumab; CV : coefficients de variation; LOD : *limit of detection*.

En 2013, Ruiz-Arguello et ses collègues ont réalisé une étude qui avait pour objectif d'analyser la corrélation entre les trousse Promonitor® et un essai réalisé au Sanquin Blood Supply diagnostic service des Pays-Bas, entre autres relativement au dosage sérique de l'ADA et des anti-ADA. Sanquin utilise un ELISA standard pour doser l'ADA et un RIA pour les anti-ADA.

Au total, 30 échantillons sériques enrichis artificiellement d'ADA et d'anti-ADA de manière à couvrir un large éventail de concentrations ont été utilisés, soit 0,001 à 5 µg/ml et 1 à 5000 AU/ml, respectivement. Le coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour étudier l'association entre les deux essais et la méthode de Bland-Altman pour évaluer la différence (biais) entre les mesures obtenues. Il a été démontré que Sanquin surestime la quantité d'ADA et entraîne une erreur systématique qui augmente lorsque la concentration sérique est supérieure à 2 µg/ml. Considérant l'essai Promonitor®, cette surestimation s'est avérée significativement plus faible (biais Sanquin : - 1,140 ± 2,713 contre biais Promonitor® : - 0,159 ± 0,488). Le taux de recouvrement obtenu avec la trousse Promonitor® est plus près des valeurs réelles (122 %) comparativement à Sanquin (214 %).

Tableau 7 Données de validité analytique des trousse Promonitor®

ANALYTE	LLOQ	VALEUR SEUIL*	CORRÉLATION AVEC RIA
ADA	2,9 ng/ml	24 ng/ml	R ² = 0,986 (p < 0,0001)
Anti-ADA	3,7 AU/ml	3,5 AU/ml	R ² = 0,996 (p < 0,0001)

Source : Ruiz-Arguello *et al.*, 2013.

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; RIA : *radio immuno-assay*; LLOQ : *lower limit of detection*.

* Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

Les données de validité analytique fournies par le fabricant des trousse Promonitor®-ADL et Promonitor®- anti-ADL sont résumées aux tableaux 8 et 9

Tableau 8 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA par ELISA avec la trousse Promonitor®-ADL

ANALYTE	LOD	LLOQ	RECOUVREMENT	VALEUR SEUIL*	PRÉCISION (CV)		CORRÉLATION AVEC AUTRE ELISA	LINÉARITÉ
					INTRA	INTER		
ADA	0,4 ng/ml	2,9 ng/ml	94-106 %	24 ng/ml	6,1 %	5,1 %	$R^2 = 0,98$	60 à 3,9 ng/ml

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; LLOQ : *lower limit of detection*; LOD : *limit of detection*.

* Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

Tableau 9 Données de validité analytique relativement au dosage sérique des anticorps anti-ADA par ELISA avec la trousse Promonitor®- anti-ADL

ANALYTE	SENSIBILITÉ ANALYTIQUE*	LLOQ	VALEUR SEUIL†	PRÉCISION (CV)		CORRÉLATION AVEC RIA	LINÉARITÉ
				INTRA	INTER		
Anti-ADA	4,4 AU/ml	3,7 AU/ml	3,5 AU/ml	6,6 %	6,6 %	$R^2 = 0,992$	196 à 8,5 AU/ml

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; LLOQ : lower limit of detection; RIA : radio immuno-assay.

* La concentration la plus faible à laquelle le dosage des anti-ADA produit de façon constante un résultat positif ou égal à la valeur seuil.

† Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

4.5 Données fournies par le demandeur

Les données relatives à cette section sont présentées à l'annexe B.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire présentée prend en considération les coûts directs et indirects liés à l'introduction des présentes analyses au *Répertoire*.

L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 6 et repose principalement sur les éléments suivants :

- les principaux comparateurs utilisés sont les analyses réalisées hors Québec par Prometheus Lab, par l'Université de Leuven et par Gamma Dynacare Medical Laboratories;
- au cours de la dernière année, 37 analyses ont été effectuées hors Québec;
- le coût moyen pondéré de l'ensemble de ces analyses est de 731,49 \$;
- selon les demandeurs, 280 et 240 analyses par année seraient réalisées suivant l'introduction du test par HMSA et par ELISA, respectivement, et ce, pour les trois prochaines années;
- les valeurs pondérées proposées par le demandeur pour les tests par HMSA et par ELISA sont de 77,14 et de 106, respectivement;
- les 280 et 240 analyses estimées représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.

Tableau 10 Coûts directs liés à l'introduction des nouvelles analyses au Répertoire

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Coûts actuels (envois hors Québec)	27 065 \$	27 065 \$	27 065 \$	81 195 \$
Coûts si introduction des nouvelles interventions	HMSA			
	21 599 \$	21 599 \$	21 599 \$	64 797 \$
	ELISA			
	25 440 \$	25 440 \$	25 440 \$	76 320 \$
Différentiel de coûts	HMSA			
	- 5 466 \$	- 5 466 \$	- 5 466 \$	- 16 398 \$
	ELISA			
	- 1 625 \$	- 1 625 \$	- 1 625 \$	- 4 875 \$

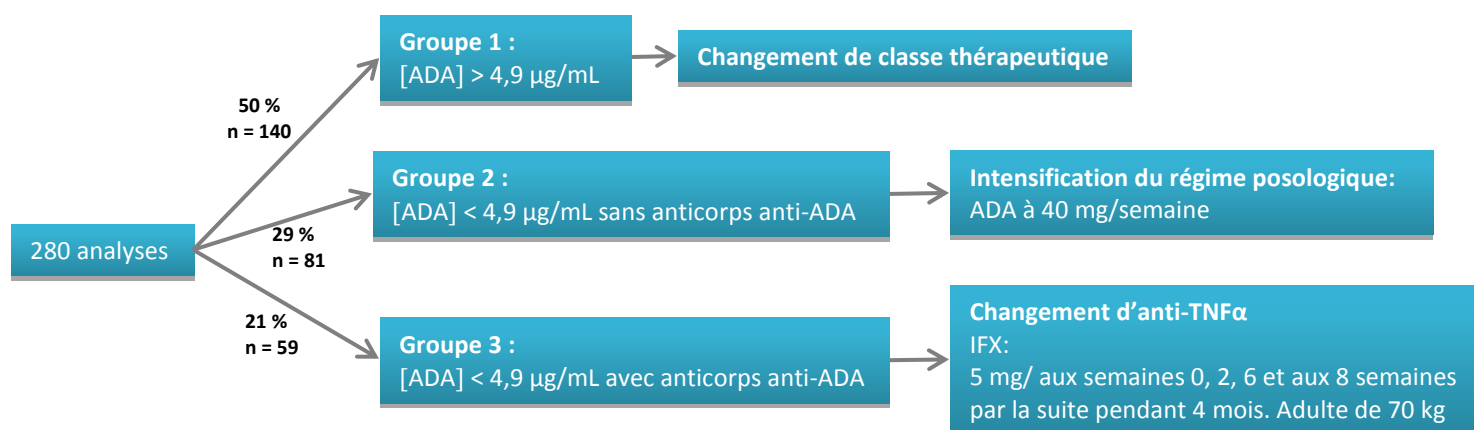
En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les économies directement liées à l'introduction de l'analyse par HMSA au *Répertoire* sont estimées à 16 398 \$, et ce, pour les trois premières années, alors que celles liées à l'introduction de l'analyse par ELISA sont estimées à 4 875 \$.

L'évaluation des coûts indirects est basée sur l'algorithme de traitement présenté à l'annexe C et elle repose principalement sur les éléments suivants.

Les interventions réalisées en fonction du résultat du test suivent l'algorithme présenté ci-dessous, adapté de Roblin et ses collègues [2014b], ainsi que sur celui présenté à l'annexe C.

Chaque analyse correspond à un patient.

Figure 2 Algorithme de traitement adapté de Roblin et ses collègues [2014b]



En effectuant le suivi thérapeutique de l'adalimumab, une réduction des coûts en adalimumab de plus de 2,4 M\$ pour 280 analyses réalisées par HMSA par année est anticipée, et ce, pour les trois prochaines années. Pour les analyses effectuées par ELISA, cette réduction de coût est évaluée à 2,1 M\$. En effet, en évitant d'utiliser cet anti-TNF chez les patients qui ne répondront pas au traitement, une économie de 8 700 \$ par analyse, soit par

HMSA ou ELISA, pourrait être réalisée. Toutefois, en considérant que ces patients recevront une autre thérapie telle que l'infliximab ou le vedolizumab, les économies indirectes anticipées seront moindres et elles sont plutôt estimées à 716 000 \$ par année pour les analyses par HMSA et à 614 000 \$ pour les analyses par ELISA, soit environ 2 500 \$ par analyse.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Ces enjeux n'ont pas été analysés.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

Blue Cross Blue Shield of Kansas (2015)

Politique de couverture (*Measurements of serum antibodies to infliximab and adalimumab*¹⁴) : la mesure des concentrations d'anticorps anti-ADA, soit seule ou sous forme d'analyse combinée avec les concentrations d'ADA chez un patient recevant un traitement anti-TNF, est considérée comme une mesure expérimentale ou d'investigation.

American College of Gastroenterology (ACG)

Management of Crohn's Disease in Adults et Ulcerative Colitis in Adults [Kornbluth et Sachar, 2010; Lichtenstein *et al.*, 2009] n'abordent pas la question. Toutefois, les documents sont actuellement en cours de révision¹⁵.

National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

La question du dosage thérapeutique des anti-TNF fait présentement l'objet d'une évaluation par le NICE. Le document d'évaluation suivant est terminé : *Crohn's disease - Tests for therapeutic monitoring of TNF inhibitors (LISA-TRACKER ELISA kits, TNFa-Blocker ELISA kits, and Promonitor ELISA kits)*. La publication des recommandations par le Diagnostics Advisory Committee est attendue pour le 26 mai 2016¹⁶.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

8.1 Résumé du contexte

Les analyses proposées permettent d'optimiser le traitement à l'adalimumab (ADA).

8.2 Résumé des données probantes

En cas d'échec du traitement à l'ADA, la concentration au seuil et la présence d'anticorps anti-ADA permettent d'orienter les décisions thérapeutiques subséquentes. À cet égard :

- Une concentration seuil faible en l'absence d'anticorps anti-ADA prédit la réussite d'une intensification de la dose dans la majorité des cas.

14. Blue Cross Blue Shield of Kansas (BCBSKS). *Medical Policies* [site Web]. Disponible à : <http://www.bcbsks.com/CustomerService/Providers/MedicalPolicies/policies.shtml> (consulté le 17 juillet 2015).

15. American College of Gastroenterology (ACG). *Clinical Guidelines (Sortable List)* [site Web]. Disponible à : <http://gi.org/clinical-guidelines/clinical-guidelines-sortable-list/> (consulté le 17 juillet 2015).

16. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). *Crohn's disease - Tests for therapeutic monitoring of TNF inhibitors (LISA-TRACKER ELISA kits, TNFa-Blocker ELISA kits, and Promonitor ELISA kits)*. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/indevelopment/gid-dt24> (consulté le 13 novembre 2015).

- Une concentration seuil faible en présence d'anticorps anti-ADA prédit l'échec d'une intensification de la dose dans la grande majorité des cas. Une substitution d'anti-TNF devrait alors être envisagée.
- Une concentration seuil élevée en présence ou en l'absence d'anticorps anti-ADA prédit un échec à l'intensification de la dose ou à la substitution d'anti-TNF dans 90 % des cas. Un changement de classe thérapeutique devrait être considéré.
- La quasi-totalité des preuves cliniques ont été développées en utilisant l'ELISA comme outil d'analyse.

La validité analytique des techniques HPLC-HMSA et ELISA est démontrée. L'information disponible indique une bonne précision des deux techniques d'analyse.

8.3 Impacts budgétaires

Des économies directes estimées entre 4 875 \$ et 16 398 \$ sont à prévoir pour les trois premières années suivant l'introduction de cette analyse au *Répertoire*. À celles-ci s'ajoutent des économies indirectes, soit celles liées au traitement, estimées à 2 500 \$ par test.

8.4 Positions d'autres organisations

Le dosage thérapeutique de l'ADA fait présentement l'objet d'une évaluation approfondie par le NICE. Les constats qui en seront dégagés sont attendus pour mai 2016.

9 RECOMMANDATIONS DE L'INESSS

Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab avec chromatographie liquide à haute performance – Essais HMSA et par ELISA

Les recommandations de l'INESSS

HPLC-HMSA

- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

ELISA

- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions additionnelles

- ✓ L'utilité clinique est reconnue par le comité. Toutefois, les données probantes ont été jugées insuffisantes pour recommander une utilisation à large échelle.
- ✓ Une évaluation du National Institute for Health and Care Excellence (NICE) est présentement en cours sur le sujet. Les résultats devraient être disponibles prochainement.
- ✓ Considérant que les données seront disponibles prochainement et afin de ne pas pénaliser les patients qui ont besoin de ce test, le comité recommande au MSSS de maintenir la possibilité que ce test soit réalisé hors Québec.

RÉFÉRENCES

- Ben-Horin S, Mazor Y, Yanai H, Ron Y, Kopylov U, Yavzori M, et al. The decline of anti-drug antibody titres after discontinuation of anti-TNFs: Implications for predicting re-induction outcome in IBD. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35(6):714-22.
- Fedorak RN, Wong K, Bridges R. Canadian Digestive Health Foundation Public Impact Series. Inflammatory bowel disease in Canada: Incidence, prevalence, and direct and indirect economic impact. *Can J Gastroenterol* 2010;24(11):651-5.
- Kornbluth A et Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2010;105(3):501-23.
- Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol* 2009;104(2):465-83.
- Llinares-Tello F, de Salazar JR, Gallego JM, Soler GS, Ramirez CS, Heredia ES, Garcia JM. Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(10):1845-7.
- Lowe AM, Roy PO, B.-Poulin M, Michel P, Bitton A, St-Onge L, Brassard P. Epidemiology of Crohn's disease in Québec, Canada. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15(3):429-35.
- Porter RS, réd. Le manuel Merck de diagnostic et de thérapeutique. 5^e éd. française. Paris, France : Éditions de médecine; 2014.
- Roblin X, Marotte H, Rinaudo M, Del Tedesco E, Moreau A, Phelip JM, et al. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014a;12(1):80-84.e2.
- Roblin X, Rinaudo M, Del Tedesco E, Phelip JM, Genin C, Peyrin-Biroulet L, Paul S. Development of an algorithm incorporating pharmacokinetics of adalimumab in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 2014b;109(8):1250-6.
- Ruiz-Arguello B, del Agua AR, Torres N, Monasterio A, Martinez A, Nagore D. Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med* 2013;51(12):e287-9.
- Wang SL, Hauenstein S, Ohrmund L, Shringarpure R, Salbato J, Reddy R, et al. Monitoring of adalimumab and antibodies-to-adalimumab levels in patient serum by the homogeneous mobility shift assay. *J Pharm Biomed Anal* 2013;78-79:39-44.
- Yanai H, Lichtenstein L, Assa A, Mazor Y, Weiss B, Levine A, et al. Levels of drug and antidrug antibodies are associated with outcome of interventions after loss of response to infliximab or adalimumab. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13(3):522-530.e2.

ANNEXE A

Indications reconnues de l'adalimumab par Santé Canada et indications de paiement au Québec

L'adalimumab est un médicament d'exception au Québec, spécifiquement indiqué pour les maladies suivantes :

INDICATIONS RECONNUES PAR SANTÉ CANADA	INDICATIONS DE PAIEMENT RECONNUES AU QUÉBEC
Polyarthrite rhumatoïde	Polyarthrite rhumatoïde modérée ou grave
Rhumatisme psoriasique	Arthrite psoriasique modérée ou grave de forme rhumatoïde ou autre
Spondylarthrite ankylosante	Spondylite ankylosante modérée ou grave
Psoriasis	Psoriasis en plaques chronique grave
Maladie de Crohn	Maladie de Crohn modérée ou grave
Arthrite juvénile idiopathique poly-articulaire	Autre indication thérapeutique (mesure du patient d'exception)
Colite ulcéreuse	

ANNEXE B

Données de validation locale

Janvier 2015

Dr Pierre-Olivier Héту, biochimiste clinique, Ph.D., CSPQ, FCACB
Dr Jonathan Michaud-Levesque, biochimiste clinique en formation, Ph.D.

Méthode HPLC-fluorescence par HMSA au CHUM

**Infliximab / anti-Infliximab
Adalimumab / anti-Adalimumab**

1. But

Le but de cette procédure est de décrire le dosage de l'Infliximab et de l'Adalimumab ainsi que des auto-anticorps dirigés contre l'Infliximab et l'Adalimumab par immuno-chromatographie (Méthode HMSA - *Homogeneous mobility shift assay*) en utilisant la chromatographie liquide à haute pression par filtration sur gel couplée à un détecteur fluorimétrique.

2. Abréviation

IFX : Infliximab
ADA : Adalimumab

ATI : Anti-IFX (Anticorps anti-infliximab)
ATA: Anti-ADA (Anticorps anti-adalimumab)

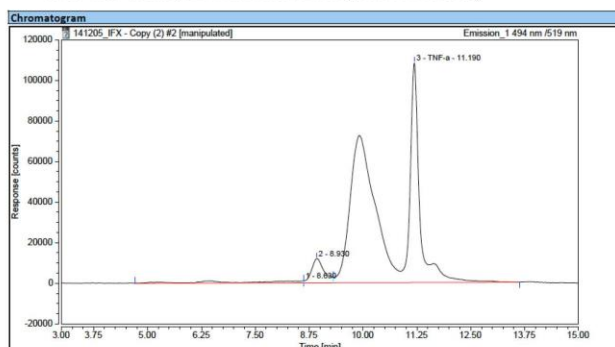
3. Principe

- 3.1. Pour quantifier l'IFX ou l'ADA, on incube le spécimen du patient avec du TNF- α fluorescent et on calcule la proportion du TNF- α déplacé par rapport au TNF- α total.
- 3.2. Pour quantifier les anti-IFX ou les anti-ADA, on incube les spécimens des patients avec de l'IFX fluorescent ou de l'ADA fluorescent, respectivement, et on calcule la proportion déplacée par rapport au total.

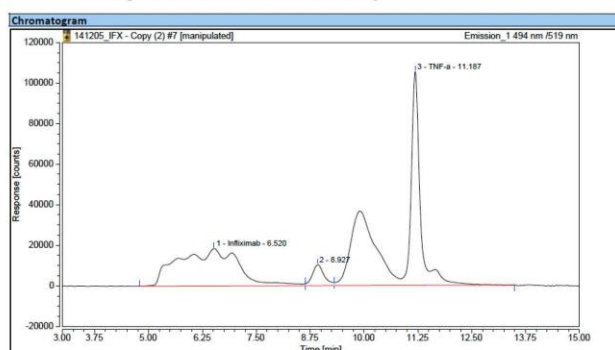
4. Résultats de validation

4.1. Méthode HMSA pour IFX et ATI

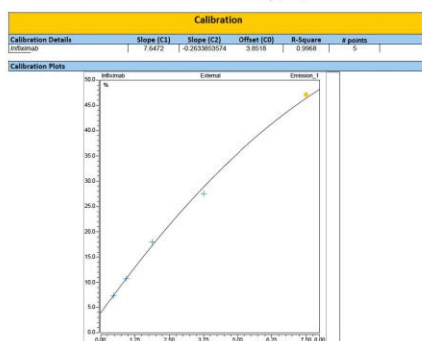
4.1.1. TNF- α marqué en absence d'IFX (pic vers 10 min)



4.1.2. TNF- α marqué en présence d'IFX (baisse du pic à 10 min et apparition de complexes de plus haut poids moléculaire vers 5-7 min)

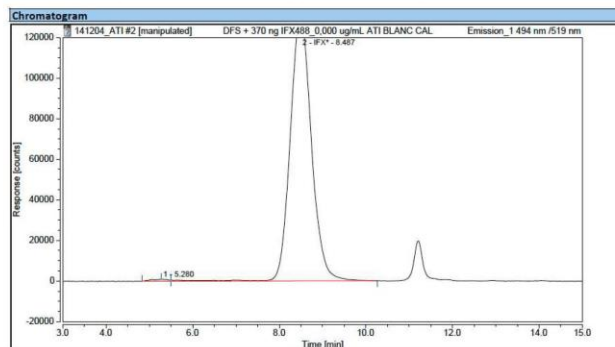


4.1.3. Courbe de calibration type pour IFX

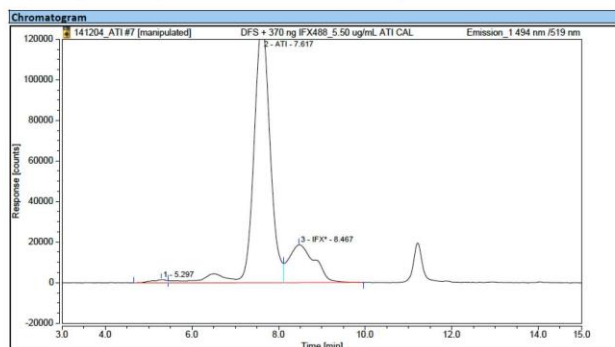


Janvier 2015

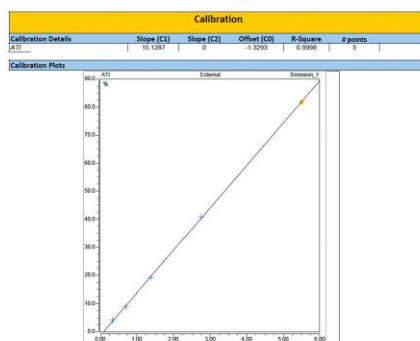
4.1.4. IFX marqué en absence d'ATI (pic vers 8,5 min)



4.1.5. IFX marqué en présence d'ATI (diminution du pic vers 8,5 min et apparition d'un complexe de plus haut poids moléculaire vers 5-7 min)



4.1.6. Courbe de calibration type pour ATI



Janvier 2015

4.1.7. Exactitude

Exactitude moyenne de $101,7 \pm 3,9\%$ à 2 ug/mL et $104,2 \pm 6,9\%$ à 5 ug/mL (n=5) pour l'IFX et $91,0 \pm 3,3\%$ à 1 ug/mL et $94,1 \pm 2,4\%$ à 4 ug/mL (n=5) pour les ATI

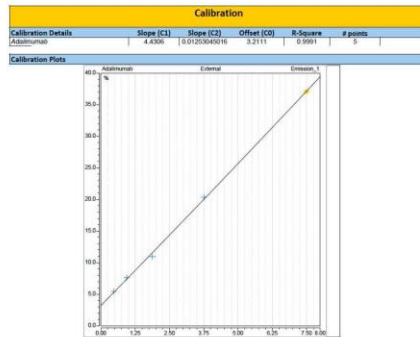
4.1.8. Imprécision

Imprécision intra-essai (n=5) ou inter-essai (n=4) < 7% à tous les niveaux testés pour l'IFX et les ATI (seulement intra-essai testé pour le moment).

4.2. Méthode HMSA pour ADA et ATA

Méthode mise au point mais en attente d'approbation d'introduction au répertoire pour validation finale. Données préliminaires suggèrent que les performances analytiques de la méthode pour ADA et ATA sont similaires à celles pour IFX et ATI (même principe analytique et mêmes conditions de préparation des échantillons).

4.2.1. Courbe de calibration type pour IFX

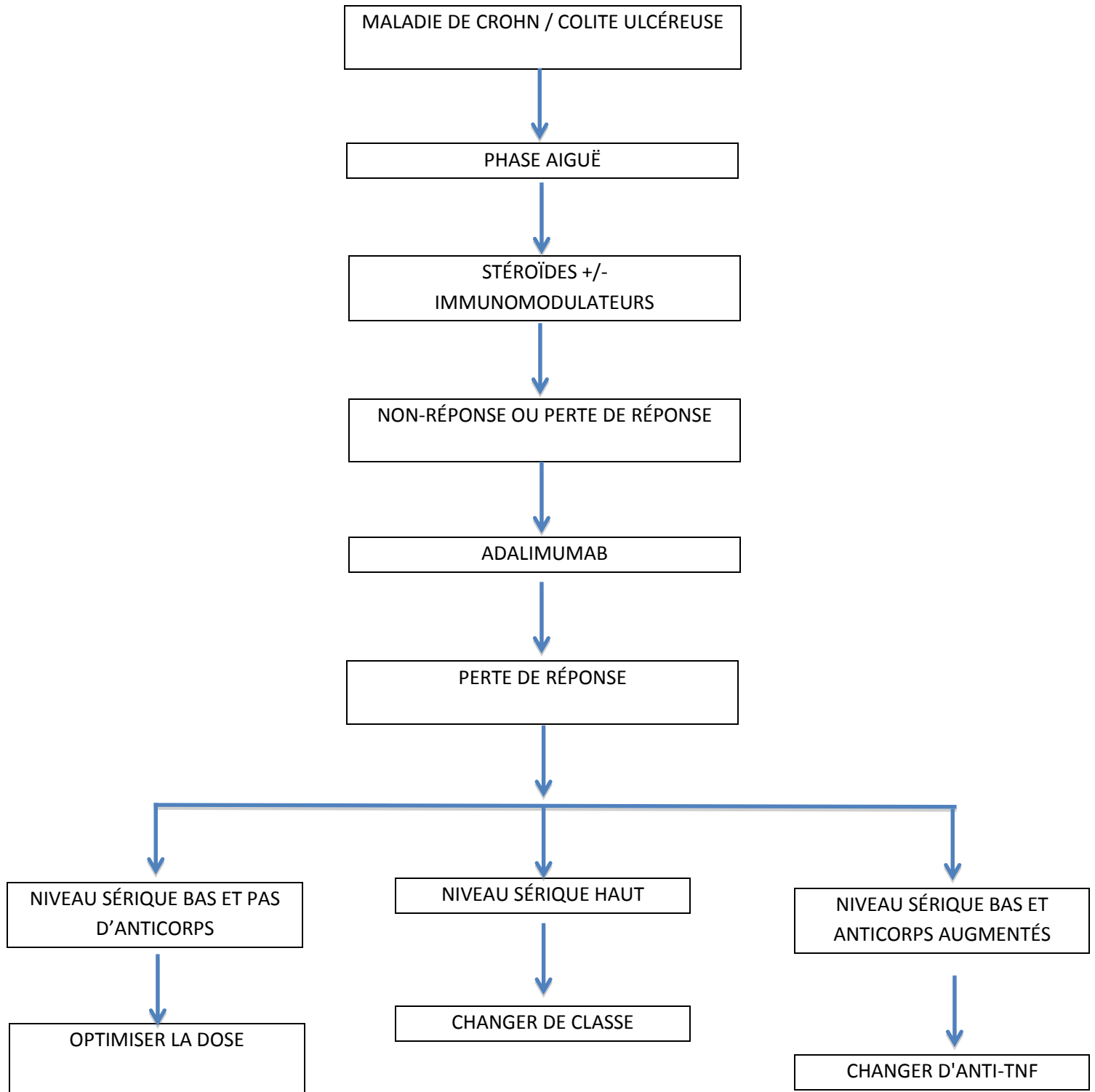


Dr Pierre-Olivier Héту, biochimiste clinique, Ph.D., CSPQ, FCACB
Responsable du laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHUM

2015-01-28

ANNEXE C

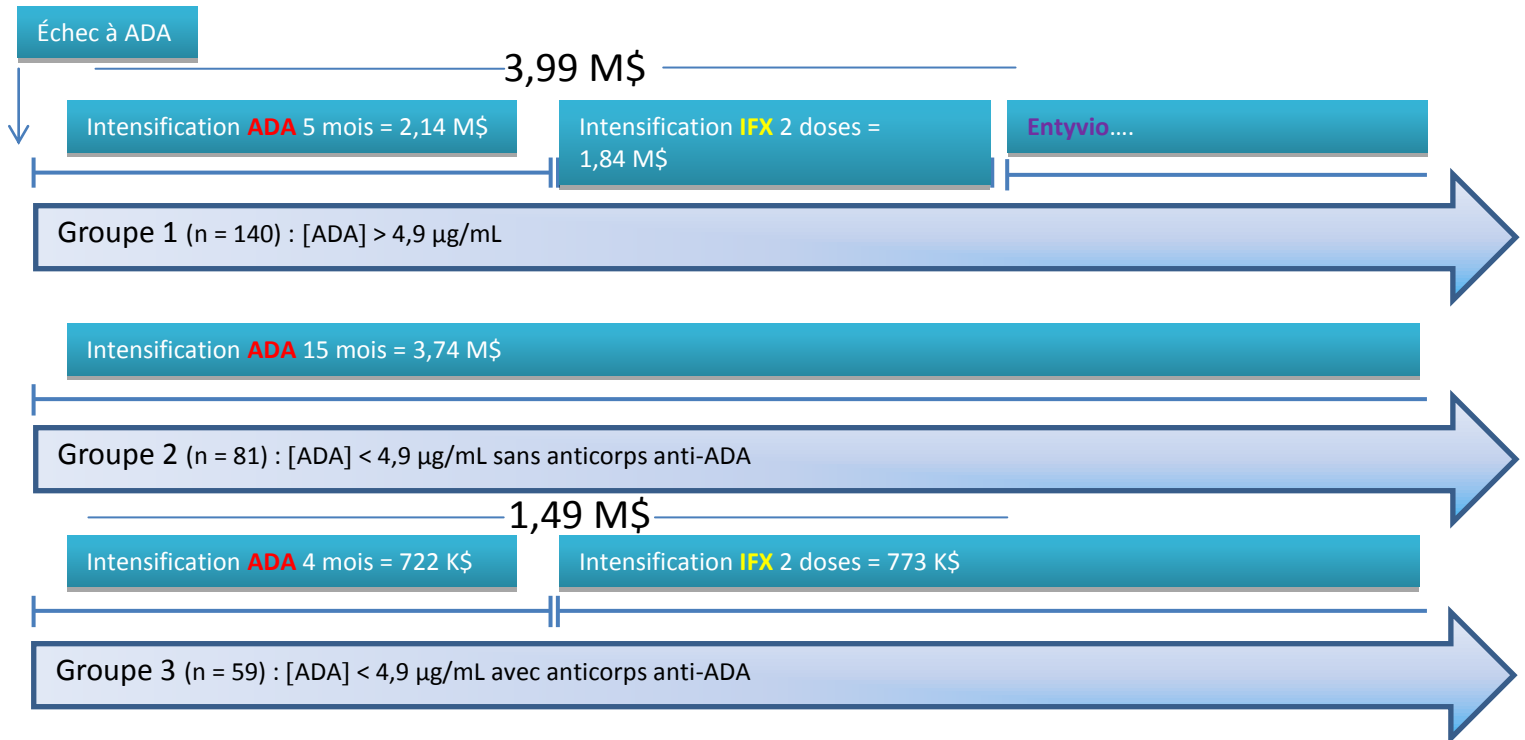
Algorithme de traitement optimal (HMR)



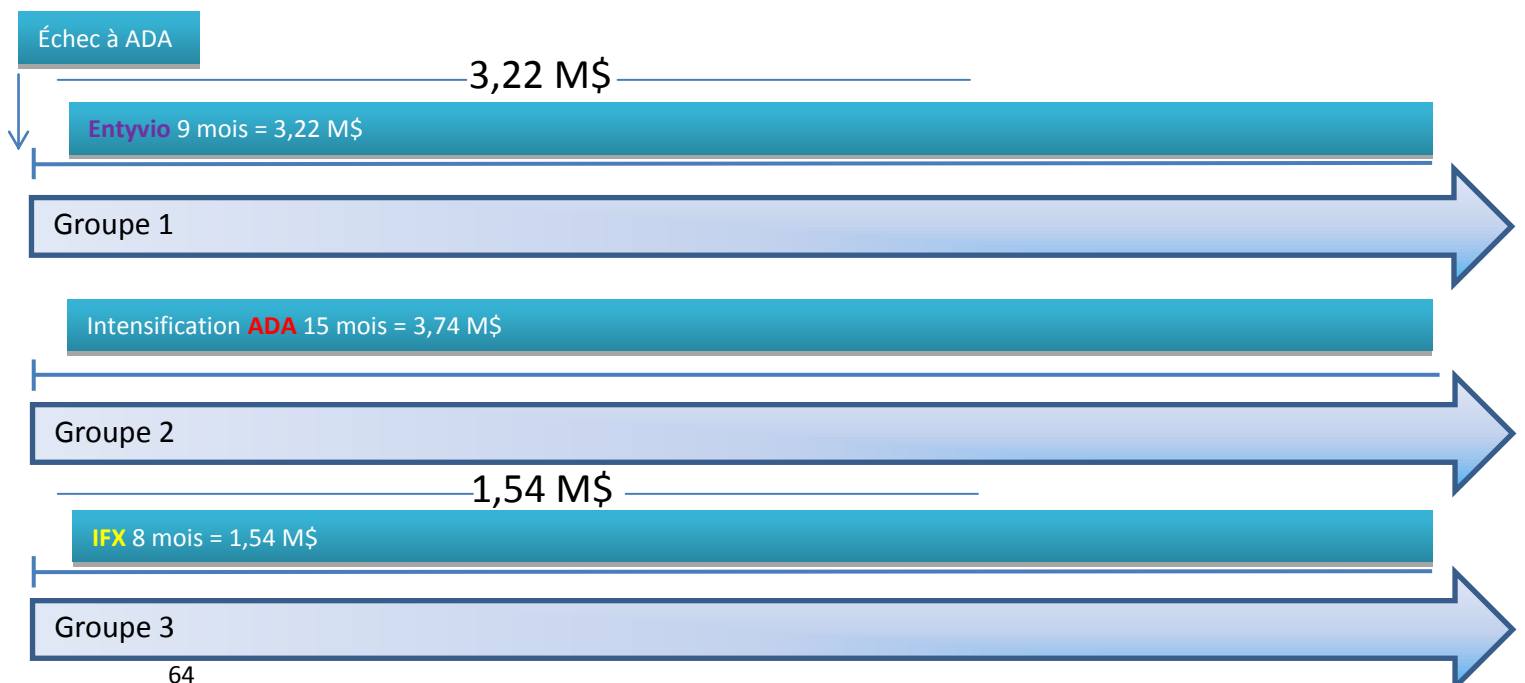
ANNEXE D

Algorithme de traitement

Sans l'introduction de l'analyse au Répertoire



Avec l'introduction de l'analyse au Répertoire



CANCER COLORECTAL HÉRÉDITAIRE - PANEL DE 7 GÈNES ANALYSÉS PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (RÉFÉRENCE – 2015.01.02)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital général juif de Montréal

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 23 décembre 2015

1.3 Date de publication de l'avis : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r David Rosenblatt n'a pas participé aux délibérations et il s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, l'expert consulté est le D^r Sébastien Lévesque, médecin généticien au Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Cancer colorectal héréditaire - panel de 7 gènes analysés par séquençage de nouvelle génération.

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) fait référence aux différentes plateformes de séquençage récemment développées, qui permettent d'obtenir la séquence de plusieurs gènes simultanément. Cette technologie est caractérisée par un rendement de lecture très élevé comparativement à la méthode de séquençage traditionnelle Sanger. Le SNG est réalisé en trois étapes principales : la préparation de l'ADN génomique et de la librairie (ADN fragmenté), le séquençage et l'analyse des variants. Lorsqu'une approche par panel de gènes est utilisée, un enrichissement des régions concernées est nécessaire avant de procéder au séquençage proprement dit.

Plusieurs plateformes SNG utilisant des technologies et des chimies différentes sont offertes sur le marché. Pour le présent dossier, la plateforme MiSeq^{MD} d'Illumina sera utilisée afin de déterminer le statut mutationnel de 7 gènes associés au cancer colorectal héréditaire. La recherche de mutations germinales sera effectuée à l'aide d'un panel maison; elle inclut les gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *APC* et *MUTYH*.

L'enrichissement des régions d'intérêt est effectué par capture d'hybrides avec la trousse SeqCap Ez^{MD} de Roche Nimblegen. Les oligonucléotides contenus dans la trousse sont choisis et synthétisés selon les spécifications du demandeur. Le séquençage repose sur un principe semblable à celui de l'approche de type Sanger, c'est-à-dire que la séquence est déterminée au cours de la synthèse cyclique d'un brin complémentaire à une matrice en utilisant des nucléotides fluorescents. Les séquences obtenues sont assemblées et alignées sur une séquence de référence. Les variations décelées de façon automatisée et manuelle sont confirmées par Sanger, tel que le recommande l'American College of Medical Genetics and Genomics, et elles sont annotées. L'analyse bio-informatique automatisée est effectuée à l'aide des logiciels NextGene et Geneticist Assistant (Soft Genetics). La plateforme MiSeq permet la lecture de plus de 95 % des séquences avec une qualité Q30¹⁷; la qualité minimale acceptée lors du séquençage est Q20. La signification clinique des variants est évaluée à l'aide de bases de données (InSiGHT, LOVD et Universal Mutation Database). L'interprétation des variants prend également en considération les renseignements cliniques disponibles tels que l'analyse immunohistochimique, la présence d'instabilité des microsatellites dans les tumeurs et le type de polypose rencontrée.

2.3 Modalités d'administration du test

L'analyse requiert une consultation génétique préalable et le consentement du patient. Seul un médecin généticien peut en faire la demande. Le médecin demandeur doit indiquer le motif de l'analyse et l'histoire personnelle et familiale de cancer du patient (type et âge au diagnostic).

Les prélèvements sanguins sont effectués aux centres de prélèvement des services de génétique suivants :

- Centre hospitalier de l'Université de Montréal;
- Centre universitaire de santé McGill;
- Centre hospitalier universitaire de Québec;
- Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke;
- Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine;
- Hôpital Charles-LeMoine;
- Hôpital général juif.

Les spécimens sont ensuite acheminés par courrier au laboratoire du centre de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif de Montréal où l'ADN est extrait et le séquençage est effectué.

17. Le Q score (*quality score*) est une mesure de la probabilité d'erreur dans l'appel des bases. Un Q score de 30 (Q30) signifie que 1 appel de base sur 1 000 pourrait être incorrect. Information tirée du site Web d'Illumina (*Understanding Illumina quality scores*, disponible à : http://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/technotes/technote_understanding_quality_scores.pdf (consulté le 15 mai 2015)).

2.4 Société ou développeur

- MiSeq^{MC} d'Illumina (trousse et plateforme de séquençage)
- Roche Nimblegen (trousse d'enrichissement d'ADN)

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Ne s'applique pas.

2.6 Valeur pondérée : 893,71

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les personnes chez qui on suspecte une forme héréditaire de cancer colorectal associée aux syndromes suivants :

- syndrome de Lynch (SL);
- polypose adénomateuse familiale (PAF);
- polypose associée aux mutations bialléliques du gène *MUTYH* (PAM).

3.2 Description de la maladie visée

Au Canada, le cancer colorectal (CCR) est le deuxième cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes et le troisième chez les femmes. Pour 2015, on estime qu'au Québec le nombre de nouveaux cas de CCR sera respectivement de 3 700 pour les hommes et de 2 900 pour les femmes, soit 14,9 % et 11,5 % de tous les nouveaux cancers diagnostiqués. Le CCR est également parmi les cancers les plus mortels; on estime qu'en 2015 un total de 2 450 patients décéderont du CCR au Québec, ce qui représente 12 % de tous les décès par cancer pendant la même période¹⁸.

Parmi les examens utilisés pour diagnostiquer le CCR, on compte la sigmoïdoscopie flexible, la coloscopie virtuelle, le lavement baryté en double contraste et la coloscopie longue (test de référence). Le diagnostic terminal de CCR repose sur des analyses histopathologiques réalisées sur un spécimen biopsique obtenu par endoscopie ou sur une pièce de résection chirurgicale¹⁹.

Parmi les facteurs qui augmentent significativement le risque de développer un CCR, on trouve l'histoire personnelle et familiale de lésions colorectales et de maladies inflammatoires intestinales. Certains syndromes héréditaires tels que le syndrome de Lynch, la polypose adénomateuse familiale et la polypose associée au gène *MUTYH* constituent également des facteurs de risque [Burt *et al.*, 2013].

Le syndrome de Lynch est caractérisé par la présence de mutations germinales causant la dysfonction du système de réparation des erreurs d'appariement, appelé système *mismatch repair* (MMR) [Peltomaki, 2001]. Le système MMR est principalement composé des gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*. L'altération du gène *EPCAM* a également été associée au SL, bien que ce soit par la méthylation du promoteur de *MSH2* [Ligtenberg *et al.*, 2009].

18. Information tirée du site Web de la Société canadienne du cancer, Statistiques canadiennes sur le cancer, disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/canadian-cancer-statistics-publication/?region=qc> (consulté le 10 juin 2015).

19. Information tirée du site Web Uptodate®, *Clinical presentation, diagnosis, and staging of colorectal cancer*, disponible à : <http://www.uptodate.com/contents/clinical-presentation-diagnosis-and-staging-of-colorectal-cancer> (consulté le 4 novembre 2015).

La polypose adénomateuse familiale est causée par des mutations du gène *APC*, qui contribuent à l'instabilité chromosomique. Les personnes touchées par la maladie développent des centaines, voire des milliers de polypes colorectaux dont quelques-uns peuvent évoluer vers un CCR s'ils ne sont pas réséqués chirurgicalement [OMIM]. Un seuil de 100 adénomes différencie la PAF classique (≥ 100) et celle atténuée (PAFA : < 100).

La PAM constitue une autre forme de polypose adénomateuse familiale suivant un mode de transmission autosomal récessif. Les personnes touchées présentent également de multiples polypes et adénomes colorectaux. Une mutation biallélique du gène *MUTYH* (*bMUTYH*) en serait la cause [Lubbe *et al.*, 2009; Gismondi *et al.*, 2004].

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

Le demandeur prévoit 400, 440 et 484 analyses par année au cours des trois prochaines années. Il appuie ces données sur les volumes actuels des analyses de séquençage demandées pour le SL et pour la PAF.

3.4 Spécialités médicales concernées

Génétique, gastroentérologie et chirurgie

3.5 Données médico-administratives

L'évaluation du statut mutationnel de tous les gènes inclus dans le panel proposé par le demandeur figure déjà au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, à l'exception d'*EPCAM*. Les données du ministère de la Santé et des Services sociaux concernant les valeurs pondérées et les volumes d'activité de ces analyses pour l'année 2014-2015 sont présentées au tableau 1. Ces analyses ont toutes un statut suprarégional.

Tableau 1 Évaluation du statut mutationnel de certains gènes en 2014-2015

MÉTHODE	GÈNE	CODE	VP	VOLUME ANNUEL*	TOTAL†
Séquençage complet	<i>MLH1</i>	50033	1 318	103	135 754 \$
	<i>MSH2</i>	50038	1 143	42	48 006 \$
	<i>MSH6</i>	50091	842	34	28 628 \$
Test de protéine tronquée	<i>MLH1, MSH2, MSH6</i>	50035	267	24	6 408 \$
	<i>MSH6</i>	50023	460	5	2 300 \$
	<i>PMS2</i>	50022	491	3	1 473 \$
	<i>APC</i>	50272	606	60	36 360 \$
Recherche de mutations individuelles	<i>MLH1, MSH2, MSH6</i>	50036	199	60	11 940 \$
	<i>APC</i>	50273	199	41	8 159 \$
	<i>MUTYH</i>	50275	158	148	23 384 \$

Sigles : VP : valeur pondérée.

* Le volume annuel présenté pour chaque code est la somme du volume annuel d'activité des centres hospitaliers qui utilisent ce code d'analyse biomédicale.

† L'impact financier est calculé en multipliant le volume annuel par la VP.

3.6 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic d'un syndrome familial associé à un risque accru de CCR s'appuie sur des critères cliniques tels que l'histoire personnelle et familiale en matière de cancer. Pour certains syndromes de prédisposition au CCR, en particulier le syndrome de Lynch, l'analyse du tissu tumoral d'un cas index permet de déceler un défaut d'expression et de fonction du système MMR, par immunohistochimie et par l'évaluation de la stabilité des microsatellites²⁰. Une anomalie dans l'un de ces deux tests entraînera des investigations génétiques supplémentaires. La mise en évidence d'une mutation germinale dans un des gènes concernés permet de confirmer le diagnostic. La recherche de mutations par séquençage direct complet des gènes suspectés peut s'avérer une tâche ardue et coûteuse étant donné l'absence de points chauds ou de patrons mutationnels précis; le ou les gènes suspectés doivent être criblés en entier [Rowley, 2005]. Certaines techniques, comme le test de protéine tronquée, permettent d'identifier le gène impliqué en vérifiant le poids moléculaire de la protéine produite *in vitro* avant de procéder au séquençage direct ciblé.

Concernant le diagnostic du SL, les critères Amsterdam II et Bethesda révisés font partie de ceux les plus utilisés (annexe A). Ils visent à effectuer une présélection des cas index. Toutefois, la valeur diagnostique de ceux-ci est généralement faible [Sjursen *et al.*, 2010; Trano *et al.*, 2009].

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permettra au médecin traitant de préciser simultanément le statut mutationnel de 7 gènes associés à une forme familiale du CCR (valeur diagnostique). Connaître le statut mutationnel permettra une meilleure prise en charge, autant des personnes atteintes que des personnes à risque.

L'approche proposée représente une analyse unique pour la recherche simultanée de mutations dans différents gènes, réduisant ainsi le délai et les coûts du diagnostic. À cet égard, l'approche par panel est moins coûteuse (VP de 893) que le séquençage complet seul de *MLH1* (VP de 1138), le gène le plus fréquemment responsable du SL.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Syndrome de Lynch

MLH1, MSH2, MSH6

Une étude prospective visant à évaluer l'efficacité de l'approche de sélection des patients par différents critères pour le diagnostic du SL a été réalisée chez 870 patients qui ont reçu un diagnostic de CCR avant 55 ans. L'étude a démontré la présence de mutations des gènes *MLH1* (1,7 %), *MSH2* (1,8 %) et *MSH6* (0,8 %) chez 38 (4,4 %) patients (tableau 2). L'âge moyen des patients porteurs de mutations au moment du diagnostic était significativement moindre que celui des patients non porteurs (42,7 ans c. 48,2 ans; $p < 0,001$). L'âge moyen au diagnostic était respectivement de 38,5 ans, 43,8 ans et 49,0 ans chez les patients porteurs de mutations des gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* ($p = 0,005$) [Barnetson *et al.*, 2006].

20. Les microsatellites sont de courtes séquences d'ADN contenant des motifs simples répétés, principalement de polyadénine. L'instabilité des microsatellites est l'accumulation dans ces séquences de multiples délétions somatiques de résidus d'adénine.

Une autre étude visant à déterminer le type et la fréquence des mutations germinales observées dans les gènes *MLH1* et *MSH2* a été réalisée avec les méthodes de chromatographie en phase liquide à haute performance SNG et par amplification multiplex de sonde nucléique dépendant des ligatures (MLPA). Les analyses ont été réalisées chez 93 patients atteints de CCR et répondant aux critères Amsterdam II. Les analyses ont démontré la présence de mutations du gène *MLH1* chez 42 patients (45,2 %) et du gène *MSH2* chez 18 patients (19,4 %) [Tang *et al.*, 2009].

Dans leur étude, Barrow et ses collègues [2008] ont calculé l'incidence de CCR chez 839 personnes atteintes de SL et venant de 121 familles différentes (51 familles porteuses de mutations du gène *MLH1*, 59 de mutations du gène *MSH2* et 11 de *MSH6*). L'étude a permis d'établir que le risque cumulé du CCR à 70 ans est respectivement de 53,8 % (intervalle de confiance à 95 % : 50,0-57,8) (IC95 %) pour *MLH1*, 50,9 % (IC 95 % : 47,3-54,5) pour *MSH2* et 26,3 % (IC 95 % : 18,1-34,5) pour *MSH6*. L'âge moyen au diagnostic du CCR est de 45 ans pour les porteurs de mutations du gène *MLH1*, 47,1 ans pour *MSH2* et 53,0 ans pour *MSH6*.

PMS2

Une étude visant à évaluer la contribution des mutations du gène *PMS2* au SL a été réalisée par séquençage Sanger. Un groupe de 97 patients possiblement atteints d'un SL ont été sélectionnés en raison de l'absence démontrée d'une mutation des gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6*. L'étude a conclu à la présence de mutations du gène *PMS2* chez 4 de ces patients (4 %) [Niessen *et al.*, 2009].

Une autre étude a évalué par séquençage et MLPA le risque de développer un CCR chez des personnes porteuses de mutations du gène *PMS2*. Un groupe de 98 familles comprenant 2 548 membres a été examiné. Parmi ceux-ci, 377 personnes ont été reconnues porteuses de mutations du gène *PMS2*. Le risque cumulatif de CCR à 70 ans, tel qu'évalué par le programme informatique MENDEL, est respectivement de 18,75 % (IC 95 % : 5,60-30,06) chez les hommes et de 10,56 % (IC 95 % : 2,42-18,01) chez les femmes porteuses de mutations du gène *PMS2* [Ten Broeke *et al.*, 2015].

EPCAM

Une étude a été réalisée dans le but de déterminer le risque de développer un CCR en présence d'une délétion du gène *EPCAM* et de comparer ce risque à celui des porteurs d'une mutation aux gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* ou d'une mutation combinée touchant à la fois *EPCAM* et *MSH2*. Les données cliniques de 194 patients chez qui le test était positif, reconnus comme porteurs obligatoires de mutations du gène *EPCAM* et venant de 41 familles, ont été comparées à celles de 431 personnes porteuses de mutations aux gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* venant de 91 familles. L'âge moyen au diagnostic de CCR chez les patients présentant une délétion du gène *EPCAM* était de 43 ans. Le risque cumulatif de développer un CCR avant 70 ans chez les patients porteurs d'une délétion d'*EPCAM* a été estimé à 75 % (IC 95 % : 65-85). Ce risque est similaire aux risques qu'encourent les personnes porteuses de mutations aux gènes *EPCAM-MSH2* (69 %), *MSH2* (77 %) et *MLH1* (79 %) et significativement plus élevé que pour les porteurs de mutations du gène *MSH6* (50 %) ($p < 0,0001$) [Kempers *et al.*, 2011].

Polypose adénomateuse familiale (PAF) et polypose adénomateuse familiale atténuée (PAFA)

Une étude dont le principal objectif visait à déterminer les risques qu'un cancer se développe chez les patients atteints de PAF a été menée avec 1 050 patients. Les travaux ont révélé que les patients atteints de PAF ont reçu un diagnostic de CCR à un âge moyen de 39,8 ans. L'âge moyen au décès des patients (toutes causes confondues) était de 44,4 ans pour les hommes et de 40,8 ans pour les femmes. L'étude a également observé un risque cumulatif de développer un CCR chez les patients atteints de PAF, qui atteint 99 % à 70 ans [Iwama *et al.*, 1993].

Une étude visant à caractériser le phénotype de la PAFA a été menée chez deux familles étendues dans lesquelles 184 personnes ont été trouvées porteuses de mutations au gène *APC*. Parmi 120 personnes dont les résultats de coloscopie ont été compilés, 111 présentaient des adénomes. Le nombre médian d'adénomes était de 25 (0-470). L'étude démontre que, dans les cas de PAFA, l'âge moyen au diagnostic de CCR était de 58 ans et que le risque cumulatif de développer un CCR était de 69 % à l'âge de 80 ans [Burt *et al.*, 2004].

Polypose associée au gène *MUTYH* (PAM)

Une étude visant à évaluer le risque de CCR et à décrire le phénotype et la prévalence associés aux mutations du gène *MUTYH* a été réalisée. Une cohorte de 9 268 patients ayant reçu un diagnostic de CCR avant 80 ans ont subi un test pour déceler la présence de mutations bialléliques au gène *MUTYH* (*bMUTYH*). Le statut des microsatellites, déterminé pour 2 748 de ces patients, s'est avéré stable chez chacun d'entre eux. Des mutations *bMUTYH* ont été détectées chez 27 patients (0,3 %) de la cohorte. L'inactivation des deux allèles a été associée à une augmentation du risque de développer un CCR de 28 fois supérieur (IC 95 % : 18 à 44; $p = 0,0001$). Le risque de développer un CCR a été estimé à 42,89 % à 60 ans chez les personnes porteuses de mutations *bMUTYH*. Elles étaient significativement plus susceptibles d'être atteintes de CCR proximal ($p = 0,0004$) et de présenter des polypes ($p = 5,7 \times 10^{-9}$) [Lubbe *et al.*, 2009].

Une étude a été réalisée dans le but de déterminer la prévalence de mutations du gène *MUTYH* chez un groupe de 405 patients présentant au moins 10 polypes chacun. Les patients qui avaient antérieurement reçu un diagnostic de SL, de PAF ou d'une MII ont été exclus. Les mutations ont été recherchées par séquençage du gène *MUTYH*. Ainsi, 27 patients (6,7 %) porteurs de *bMUTYH* ont été repérés. Ceux-ci présentaient en moyenne 35 polypes (20-62) alors que les autres patients en présentaient en moyenne 15 (12-28); ($p < 0,001$). Une plus grande proportion de patients atteints de PAM avaient une histoire personnelle de cancer (59,3 % c. 35 %; $p = 0,014$) [Guarinos *et al.*, 2014].

Tableau 2 Données concernant la mutation de différents gènes associés à des syndromes héréditaires de cancer colorectal

SYNDROME (OMIM)	GÈNE	MUTATIONS DOCUMENTÉES*	PRÉVALENCE DES MUTATIONS	RISQUE DE CCR (%)	ÂGE MOYEN AU DIAGNOSTIC DE CCR (ANS)	RÉFÉRENCE
Lynch (120435)	<i>MLH1</i>	1190	1,7 % des CCR <55 ans 45,2 % des CCR répondant aux critères Amsterdam II	À 70 ans : 53,8	38,5 à 45	Barnetson <i>et al.</i> , 2006 Tang <i>et al.</i> , 2009 Barrow <i>et al.</i> , 2008
	<i>MSH2</i>	1010	1,8 % des CCR < 55 ans 19,4 % des CCR répondant aux critères Amsterdam II	À 70 ans : 50,9	43,8 à 47,1	Barnetson <i>et al.</i> , 2006 Tang <i>et al.</i> , 2009 Barrow <i>et al.</i> , 2008
	<i>MSH6</i>	543	0,8 % des CCR < 55 ans	À 70 ans : 26,3	49,0 à 53,0	Barnetson <i>et al.</i> , 2006 Barrow <i>et al.</i> , 2008
	<i>PMS2</i>	243	4 % des SL suspectés	À 70 ans : Hommes : 18,75 Femmes : 10,56	52	Niessen <i>et al.</i> , 2009 Ten Broeke <i>et al.</i> , 2015
	<i>EPCAM</i>	6	2,8 % des SL expliqués aux Pays-Bas 1,1 % des SL expliqués en Allemagne	À 70 ans : 75	43	Kuiper <i>et al.</i> , 2011 Kempers <i>et al.</i> , 2011
PAF (175100)	<i>APC</i>	1198	87 % des PAF	À 70 ans : 99 ± 2	39,8	Powell <i>et al.</i> , 1993 Iwama <i>et al.</i> , 1993
PAFA (611731)			ND	À 80 ans : 69	54,2 à 58,1	Burt <i>et al.</i> , 2004 Soravia <i>et al.</i> , 1998
PAM (608456)	<i>MUTYH</i>	305	0,3 % des CCR 6,7 % des ≥ 10 polypes	À 60 ans : 42,89	49 à 58	Lubbe <i>et al.</i> , 2009 Guarinos <i>et al.</i> , 2014

Sigles et acronymes : CCR : cancer colorectal; MSI : instabilité des microsatellites; ND : non déterminé; OMIM : *Online Mendelian Inheritance in Man*; PAF : polyposse adénomateuse familiale; PAFA : polyposse adénomateuse familiale atténuée; PAM : polyposse associée au gène *MUTYH*; SL : syndrome de Lynch.

* Information tirée du site Web InSiGHT, disponible à : <http://insight-group.org/variants/database/> (consulté le 27 avril 2015).

Cinq études évaluant l'efficacité et les avantages de l'approche par panel pour le diagnostic des syndromes héréditaires prédisposant au CCR ont été retenues [Chubb *et al.*, 2015; Kraus *et al.*, 2015; Cragun *et al.*, 2014; LaDuca *et al.*, 2014; Pritchard *et al.*, 2012].

Une première étude prospective visait à vérifier si l'utilisation d'une approche par panel était associée à une augmentation de la fréquence de détection de mutations germinales dans une cohorte de nouveaux cas de CCR. L'étude a été réalisée avec une cohorte de 152 patients opérés pour un CCR primaire et évalués par les critères cliniques de Bethesda et Amsterdam II. La stabilité des microsatellites a été déterminée et l'expression des protéines MMR a été vérifiée par immunohistochimie. Le statut mutationnel des patients a été évalué à l'aide d'un panel de 18 gènes, y compris les 7 gènes ciblés par le demandeur, avec la plateforme Ion Torrent PGM. L'étude a permis de mettre en évidence 27 variations génétiques chez 23 patients. L'évaluation de la signification clinique de ces variations a permis d'établir que 3 d'entre elles étaient pathogéniques²¹ (1 *MLH1*, 2 *MSH6*). L'approche en panel a permis de repérer au moins 2 cas de SL qui ne satisfaisaient pas aux critères cliniques traditionnels ou pour lesquels l'analyse par immunohistochimie et la stabilité des

21. Selon la classification du Centre international de recherche sur le cancer (IARC classe 5 : définitivement pathogénique).

microsatellites étaient normales. De plus, des variants de signification indéterminée (VSI²²) ont été reconnus chez 12 patients qui ont subi le test (7,9 %). Selon les données présentées, l'utilisation systématique du SNG avec 18 gènes génère un résultat de signification clinique incertaine quatre fois plus souvent qu'un résultat confirmé de SL [Kraus *et al.*, 2015].

Une seconde étude rétrospective a évalué le taux de mutations observées par une approche en panel de gènes pour le diagnostic du CCR héréditaire et elle a vérifié si les patients porteurs de mutations satisfaisaient aux critères cliniques associés aux syndromes respectifs. Les antécédents personnels et familiaux de cancer de 586 patients sans mutations préalablement connues ainsi que les résultats obtenus avec le panel SNG ColoNext^{MD} (14 gènes) d'Ambry Genetics ont été analysés. Des variations pathogéniques²³ dans des gènes pour lesquels un consensus de gestion clinique ou de surveillance était défini (mutations pertinentes) ont été détectées chez 42 de ces patients (7,2 %). Parmi ceux-ci, 33 étaient porteurs d'une mutation dans un gène associée aux syndromes suivants :

- SL : *MLH1* (5), *MSH2* (8), *PMS2* (6) et *MSH6* (4);
- PAF : *APC* (6);
- PAM : *bMUTYH* (4).

Parmi les 42 cas avec des mutations pertinentes dans les gènes, 30 (71 %) satisfaisaient aux critères diagnostiques et cliniques du National Comprehensive Cancer Network. Si l'on s'en tient aux gènes visés dans la présente demande, cette proportion est de 76 % (25/33). Le panel a également mis en évidence 159 VSI chez 118 patients (20,1 %) ayant subi le test. La moitié de ces VSI (48 %) a été observée dans des gènes associés au SL. Ainsi, l'utilisation d'un panel présente le potentiel de trouver des mutations chez des gens qui ne satisfont pas aux critères de dépistage spécifiques aux syndromes visés. Selon les données présentées, l'utilisation systématique du SNG avec 14 gènes ciblés génère un résultat de signification clinique incertaine 2 fois plus souvent qu'un résultat confirmé de SL, de PAF ou de PAM [Cragun *et al.*, 2014].

Une étude prospective de validation du panel ColoSeq a été réalisée, qui inclut 31 gènes dont les 7 présents dans le panel du demandeur. L'étude présente notamment l'analyse des spécimens de 31 patients présentant des antécédents cliniques suggérant un SL ou un syndrome de polypose. Des mutations pathogéniques ont été détectées chez 6 d'entre eux [*MSH6* (1), *PMS2* (3), *APC* (2)] ainsi que 3 VSI (*MSH6*, *APC* et *MUTYH*). Le panel ColoSeq a permis de repérer des mutations pathogéniques chez 19,4 % des patients dont les tests étaient préalablement négatifs pour au moins un des gènes du panel ColoSeq. La spécificité clinique a été démontrée en appliquant le test à 19 patients ne présentant pas d'antécédents cliniques personnels ou familiaux de CCR. Aucune mutation pathogénique n'a été observée (spécificité : 100 %), mais 2 VSI ont été repérés [Pritchard *et al.*, 2012].

La quatrième étude retenue visait à établir la capacité d'une approche par panel à mettre en évidence des mutations dans des gènes hautement liés à une forme familiale de CCR. L'étude a été réalisée chez 626 patients ayant reçu un diagnostic de CCR avant l'âge de 56 ans et dont au moins un parent du premier degré avait été atteint de CCR. Ces patients ont subi le test avec un panel de 10 gènes par SNG avec la plateforme HiSeq^{MD} d'Illumina comprenant les gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC* et *MUTYH*. Le SNG a permis de

22. Selon la classification du Centre international de recherche sur le cancer (IARC classe 3 : incertain).

23. Selon les classifications de l'IARC et de l'American College of Medical Genetics (ACMG) (classes 1 et 2 : pathogénique et vraisemblablement pathogénique).

repérer des mutations pathogéniques et probablement pathogéniques chez 89 patients (14,2 %). Parmi ceux-ci, 85 (95,5 %) étaient porteurs de mutations dans les 6 gènes inclus dans le panel proposé par le demandeur. Des VSI ont été observés chez 64 patients (10,2 %). Les mutations du système MMR ont été les plus fréquemment trouvées, soit chez 68 patients (10,9 %). De ces patients, 46 satisfaisaient aux critères d'Amsterdam II. Sur les 22 qui ne satisfaisaient pas à ces critères, 12 étaient porteurs de mutations classées pathogéniques par InSiGHT. Les critères Amsterdam II présentent ainsi une sensibilité de 69 % (46/68) pour le diagnostic du SL relativement à une approche par panel de gènes. De plus, parmi les 10 patients porteurs de mutations du gène *APC* et les 7 porteurs de mutations du gène *MUTYH*, respectivement 5 et 4 présentaient une polypose colorectale [Chubb *et al.*, 2015].

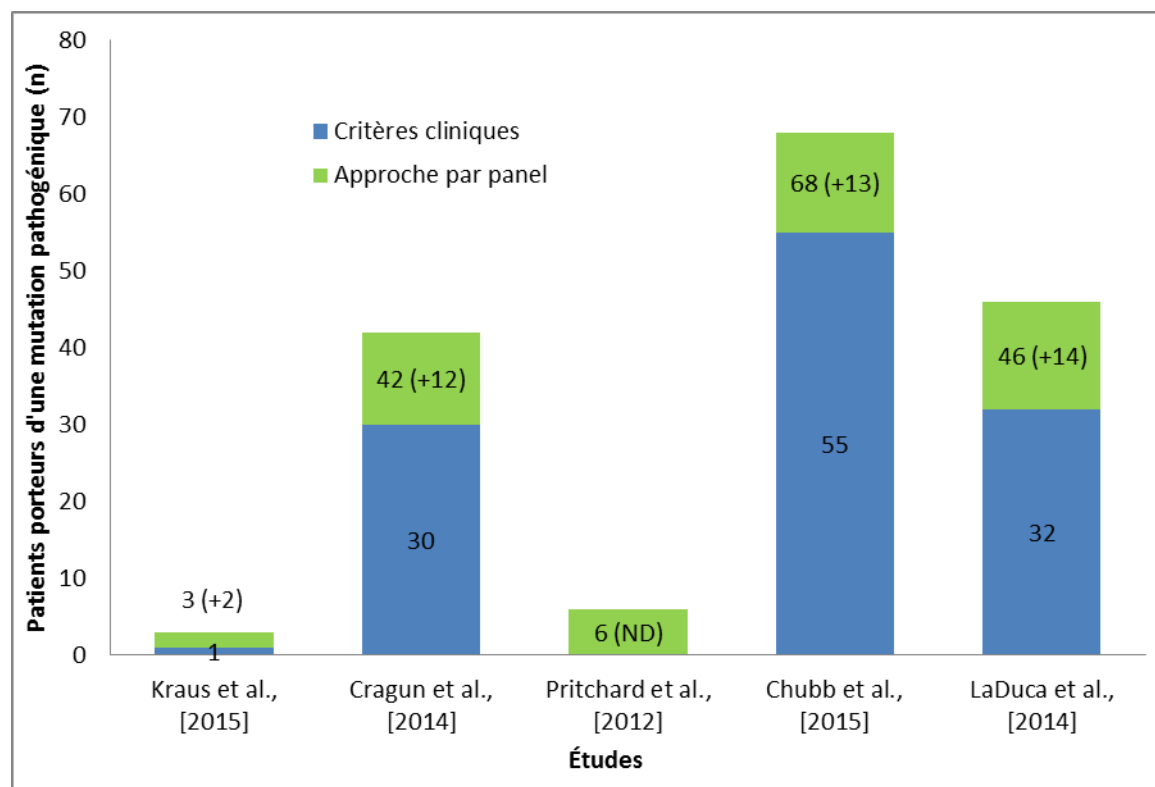
La cinquième étude retenue a analysé rétrospectivement les données cliniques et moléculaires de 557 cas ayant subi le test au moyen du panel de gènes ColoNext²⁴ en raison d'un risque élevé de CCR héréditaire. Parmi les cas observés, 96 % avaient des antécédents personnels positifs de cancer ou de lésion précancéreuse, dont 281 CCR confirmés. L'enrichissement et le séquençage ont été réalisés à l'aide de la réaction en chaîne par polymérase en émulsion (Raindance Technologies) et de la plateforme HiSeq^{MD} 2000 (Illumina). La technique Sanger a été utilisée pour le séquençage du gène *PMS2*, la recherche de certaines régions à faible couverture et de mutations pathogéniques inconnues. La détection des réarrangements larges a été réalisée par biopuce à ADN et, dans le cas de *PMS2*, par MLPA. Les paramètres minimaux quant aux variations étaient de qualité supérieure à Q20; la couverture moyenne était supérieure à 300X. Les variants ont été classés en 5 catégories²⁵. Au total, le panel ColoNext a permis de mettre en évidence au moins une mutation pathogénique (et probablement pathogénique) dans 9,2 % des cas évalués (n = 51). Les autres cas ont été jugés non concluants, c'est-à-dire porteurs de VSI seulement (15,1 %) ou négatifs, c'est-à-dire non porteurs et porteurs de variations bénignes (73,2 %). La fraction restante des cas était constituée des porteurs monoalléliques de mutations *MUTYH* (2,5 %). Parmi les 51 tests déclarés positifs par le panel ColoNext, 46 patients (90,2 %) étaient porteurs de mutations dans des gènes pour lesquels il existe, selon les auteurs, des critères diagnostiques bien établis et des recommandations de traitement : *APC*, *CDH1*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *bMUTYH*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *STK11* et *TP53*. Les 5 autres cas étaient des porteurs de mutations dans le gène *CHEK2*, gène dont les critères diagnostiques et thérapeutiques ne sont pas établis. Parmi les 46 patients porteurs d'une mutation dans un gène dont les critères diagnostiques et les recommandations de prise en charge sont établis, 32 (69,6 %) satisfaisaient à ces critères, mais pas les 14 autres [LaDuca *et al.*, 2014].

Parmi les études retenues, 4 présentent des données qui permettent de déterminer la proportion des cas satisfaisant aux critères cliniques de dépistage d'une forme familiale de CCR parmi tous les patients reconnus comme porteurs d'une mutation pathogénique. Ainsi, l'approche par panel de gènes, avec des indications cliniques plus larges, permet de repérer davantage de cas avec des variations pathogéniques que les critères cliniques seuls (figure 1).

24. Le panel ColoNext inclut 14 gènes de susceptibilité au CCR (*APC*, *BMPR1A*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *STK11* et *TP53*).

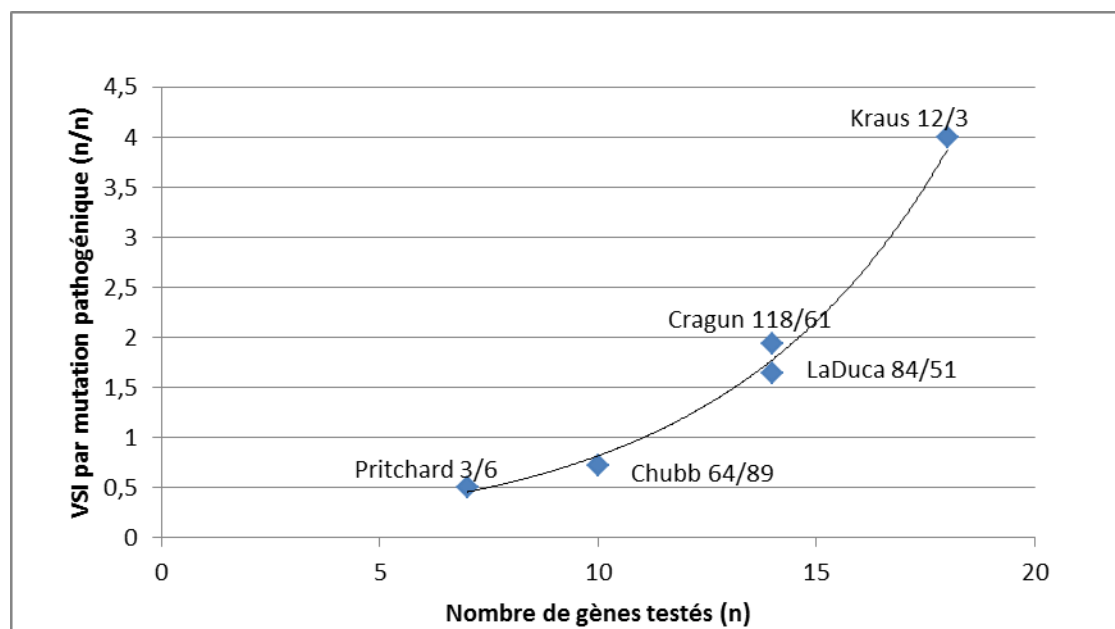
25. En accord avec les recommandations et lignes directrices publiées par le Collège américain de génétique médicale et l'Agence internationale de recherche sur le cancer.

Figure 1 Comparaison du nombre de patients porteurs d'une mutation pathogénique reconnue par une approche en panel de gènes et la quantité d'entre eux satisfaisant aux critères cliniques



Ces études démontrent une augmentation de la proportion de VSI détectés comparativement aux mutations pathogéniques lorsqu'on augmente le nombre de gènes testés dans une approche par panel (figure 2). Ainsi, on note une progression de 0,5 VSI par mutation pathogénique pour 7 gènes testés [Pritchard *et al.*, 2012] à 4 VSI par mutation pathogénique pour 18 gènes testés [Kraus *et al.*, 2015].

Figure 2 Nombre de porteurs d'un VSI reconnus pour chaque porteur d'une mutation pathogénique en fonction du nombre de gènes testés



4.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque l'analyse par panel de gènes du CCR n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution du CCR.

4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue, puisque l'analyse par panel de gènes du CCR n'a pas pour objectif d'orienter ou de modifier les choix de traitement.

4.4 Validité analytique

L'étude de Pritchard et ses collègues [2012], décrite à la section 4.1, présente également un volet de validation analytique. Le panel de l'étude inclut les 7 gènes du panel proposé par le demandeur, et l'analyse est produite par un séquenceur HiSeq^{MD} d'Illumina. Au moment de l'analyse des spécimens cliniques, la couverture de lecture médiane obtenue est de 475X. Une qualité de séquençage supérieure à Q30 a été obtenue. Des spécimens génotypés dans le cadre du projet HapMap²⁶ ont été séquencés afin de vérifier l'efficacité analytique du panel. Les données étaient disponibles pour 1 388 positions génomiques dont 226 variants d'un seul nucléotide (*single nucleotide variant*, SNV) hétérozygote, 144 SNV homozygotes et 1 018 positions correspondant à la séquence de référence. Le panel ColoSeq a détecté 222 SNV hétérozygotes. Parmi les SNV hétérozygotes non détectés, 2 se sont révélés être des erreurs d'annotation de HapMap (222/224). Parmi les SNV homozygotes, 143 sur 144 ont été détectés (tableau 3). La couverture moyenne obtenue dans cette étude a permis de détecter 100 % des délétions et duplications larges par un test à l'aveugle (6/6). L'approche consiste à comparer la couverture obtenue pour une région donnée avec celle attendue. Dans ce cas-ci, relativement à l'identification précise des extrémités, une résolution comparable à la MLPA, ou meilleure, a été obtenue. De plus, une délétion de l'exon 8 de

26. Le projet international HapMap est une initiative visant à relever et à cataloguer les similitudes et les différences génétiques entre les humains. Site Web disponible à : <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.fr> (consulté le 8 juillet 2015).

PMS2 a été mise en évidence par cette approche chez une patiente atteinte d'un cancer de l'endomètre (MSI+; *PMS2*- en IHC) jamais évaluée en génétique moléculaire [Pritchard *et al.*, 2012].

Afin de déterminer la sensibilité du panel ColoSeq pour détecter les variations pathogéniques, des spécimens provenant de 23 patients atteints de CCR héréditaire (porteurs de mutations connues) et de 3 lignées cellulaires (5 mutations) de CCR ont été testés à l'aveugle. Le panel a présenté une sensibilité de 100 % en détectant les 28 mutations documentées dans ces spécimens (tableau 3) [Pritchard *et al.*, 2012].

Tableau 3 Données de validation analytique du panel SNG ColoSeq

SPÉCIMEN DE GÉNOTYPE CONNU	N	CIBLE	SENSIBILITÉ	SPÉCIFICITÉ	PRÉCISION
			(%)		
HapMap	6	SNV hétérozygotes	222/224 (99,1)	1012/1018 (99,4)	1234/1242 (99,4)
		SNV hétérozygotes dans les exons et les sites d'épissage seulement	27/27 (100,0)	198/198 (100,0)	225/225 (100,0)
		SNV homozygotes	143/144 (99,3)	ND	ND
Cas de CCR	23	Mutations connues	23/23 (100,0)	ND	ND
Lignées cellulaires	3	Mutations connues	5/5 (100,0)	ND	ND

Sigles : N : nombre d'échantillons; ND : non déterminé; SNV : *single nucleotide variant*.

Source : Pritchard *et al.*, 2012.

Les reproductibilités interessai et intraessai du panel ColoSeq ont été déterminées respectivement à partir de 75 et 12 spécimens testés en duplicata. D'après les résultats de reproductibilité sur les spécimens cliniques testés, il a été établi qu'un seuil minimal de lecture de variant à 15X était optimal. Celui-ci permettait à la fois la détection de toutes les variations pathogéniques et de tous les VSI, et il augmentait substantiellement la reproductibilité sans nuire à la sensibilité. La reproductibilité a ensuite été évaluée en fixant des seuils minimaux de lecture de variants à 15X et 40X et elle a été établie selon le type de mutation (tableau 4) [Pritchard *et al.*, 2012].

Tableau 4 Reproductibilité du panel SNG ColoSeq

ESSAI	N	SEUIL MINIMAL DE LECTURE D'UN VARIANT	RÉGION	REPRODUCTIBILITÉ (%)	
				SNV	INDEL
inter	75	15X	Exons	99,3	98,9
		40X	Exons	100,0	100,0
intra	12	15X	Exons et introns	95,0	92,1
			Exons	100,0	100,0

Sigles et acronymes : indel : insertions-délétions; N : nombre; SNV : *single nucleotide variant*.

Source : Pritchard *et al.*, 2012.

Une étude a été réalisée dans le but d'évaluer la performance d'une approche multigènes relativement à la détection de mutations germinales associées au SL [Sapari *et al.*, 2014]. Bien qu'un panel de 94 gènes ait été utilisé, seuls *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2* ont été analysés sur un appareil MiSeq^{MD} d'Illumina. L'ADN provenant de 12 cas de SL porteurs de mutations aux gènes *MLH1* et *MSH2* confirmées par séquençage de type Sanger et celui de 3 sujets témoins sains ont été testés. Parmi les 4 257 variants reconnus par SNG, les

14 mutations visées étaient toutes présentes (sensibilité de 100 %). Afin d'augmenter la spécificité de l'analyse, les auteurs ont exclu les variants dont la fréquence populationnelle générale était de plus de 5 %, réduisant ainsi le nombre de variants supplémentaire à 263, et ce, sans diminuer la sensibilité. Parmi les autres approches testées pour augmenter la spécificité sans compromettre la sensibilité, une sélection positive des variants indiqués dans la base de données Human Gene Mutation Database (HGMD) a permis de réduire le nombre de variants supplémentaires à 3, avec pour conséquence de réduire la sensibilité à 93 % (13/14). En filtrant les variants selon la fréquence et les données de l'HGMD, les valeurs de sensibilité et de spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) étaient respectivement de 93 %, 100 %, 81 % et 100 %.

Les spécimens témoins ont été analysés ensemble à 3 reprises (9 essais). La profondeur de lecture moyenne était de 182X avec un coefficient de variation de 21 %. Lors des diverses reprises, entre 285 et 299 variants ont été repérés selon l'échantillon, pour un total de 2 635 variants uniques. Selon les 3 reprises effectuées, 2 619 variants (99,39 %) ont été détectés sur une base constante (tableau 5).

La détection des variants par SNG a également été comparée à celle obtenue avec la plateforme BeadChip Array. Les performances du SNG étaient les suivantes : sensibilité de 99,42 % (695/699), spécificité de 99,99 % (6800/6801), VPP de 99,86 % (695/696) et VPN de 99,94 % (6800/6804) [Sapari *et al.*, 2014].

Tableau 5 Données de validité analytique de SNG parMiSeq^{MD}

DONNÉES	CIBLES	SE (%)	SP (%)	VPP (%)	VPN (%)	PROFONDEUR DE LECTURE (CV %)	REPRODUCTIBILITÉ (%)
Mutations chez les patients connus	Mutations	13/14 (92,86)	14 (100,00)	81,25	100,00	-	-
Comparaison avec BeadChip Array	Variants	695/699 (99,42)	6800/6801 (99,99)	695/696 (99,86)	6800/6804 (99,94)	-	-
Spécimens témoins	Variants	-	-	-	-	182X (21,00)	2619/2635 (99,39)

Sigles et abréviations : CV : coefficient de variation, N : nombre; SE : sensibilité; SP : spécificité; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

Source : Sapari *et al.*, 2014.

Le volet concernant la validation analytique de l'étude de Chubb et ses collègues [2015], présentée à la section 4.1, est décrit ici. La performance du séquençage par la plateforme SNG HiSeq^{MD} 2000 d'Illumina a été comparée à celle de 523 spécimens antérieurement génotypés par la plateforme HumanExome-12v1_A Beadchips d'Illumina. Les données provenant des deux méthodes avaient 49 615 variants en commun. Les variants détectés lorsque la profondeur de lecture était supérieure à 30X ont présenté une concordance de 99,98 % [Chubb *et al.*, 2015].

4.5 Données fournies par le demandeur

Selon le demandeur, le SNG proposé couvre 100 % de la séquence codante ainsi que la région du promoteur et des sites d'épissage des 7 gènes. La couverture varie entre 50X et 1500X. Les patients qui ont subi le test ont tous obtenu une couverture complète.

Un exemple de profondeur de lecture obtenu pour un spécimen témoin d'une profondeur de lecture de 68X à 1426X et d'une moyenne de 1000X (annexe B).

L'utilisation de ce panel maison a été validée localement par le laboratoire de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif de Montréal au moyen de 28 spécimens sanguins

porteurs de 29 mutations connues. Toutes les mutations, localisées dans les gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC* et *MUTYH*, ont été repérées avec succès.

L'analyse par SNG proposée pour la détection de mutations prédisposant au CCR est utilisée depuis le 16 février 2015. Au total, 66 patients ont subi le test en date du 22 mai 2015. Des mutations pathogéniques ont été détectées chez 17 patients : *MLH1* (2), *MSH2* (4), *PMS2* (2), *APC* (5) et *MUTYH* (4).

Le laboratoire du demandeur compte participer au contrôle externe de la qualité de l'European Molecular Genetics Quality Network.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

Les conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois n'ont pas été analysées.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La possibilité de détecter des variants de signification indéterminée implique que le médecin demandant l'analyse avise les patients de cette possibilité au moment des rencontres d'information et obtienne le consentement au test. La détection de tels variants implique également que les coordonnées des patients concernés soient conservées afin que ceux-ci soient avisés au moment de la reclassification des variants.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

Aucune orientation ou recommandation provenant d'autres organisations concernant l'approche par panel de gènes pour le diagnostic des prédispositions héréditaires au CCR n'a été repérée.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

L'analyse proposée vise le diagnostic du syndrome de Lynch, de la polypose adénomateuse familiale et de sa forme atténuée de même que de la polypose associée au gène *MUTYH*. Cette analyse permettra de préciser simultanément le statut mutationnel de 7 gènes associés à une forme familiale de CCR. Connaître le statut mutationnel de ces gènes permettrait une meilleure prise en charge des personnes atteintes et des personnes à risque.

Valeur diagnostique

En fonction des critères d'inclusion des différentes études, la fréquence de repérage de mutations dans les gènes visés varie entre 2 % et 14 % des cas. Les gènes visés par la présente demande étaient observés dans 80 % à 100 % des cas avec mutation pathogénique. Comparativement à la stratégie actuellement utilisée, l'approche par panel de gènes permet de repérer davantage de patients porteurs de mutations pathogéniques. En effet, parmi tous les cas reconnus comme porteurs d'une mutation, entre 33 % et 71 % répondaient aux critères cliniques établis.

Toutefois, la proportion de patients chez lesquels un résultat de signification clinique inconnue est généré augmente avec le nombre de gènes testés. La proportion de cas VSI par

mutation pathogénique passe de 0,5 VSI par mutation pour un panel de 7 gènes à 4 VSI par mutation pour un panel de 18 gènes.

Validité analytique

L'analyse a été validée localement par le laboratoire de pathologie moléculaire du centre demandeur au moyen de 28 spécimens sanguins porteurs de 29 mutations connues. Toutes les mutations, localisées dans les gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC* et *MUTYH*, ont été reconnues avec succès.

Les études de validation du SNG présentées par le demandeur pour la recherche de mutations par panel de gènes indiquent que le SNG couvre 100 % de la séquence codante ainsi que la région du promoteur et des sites d'épissage des 7 gènes.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Cancer colorectal héréditaire - Panel de 7 gènes analysés par séquençage de nouvelle génération

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Même si relativement peu de données sont disponibles, la pertinence clinique du test est démontrée.
- ✓ Le comité recommande une introduction provisoire au *Répertoire* avec une réévaluation de l'INESSS dans un an (le temps que le centre demandeur collige davantage de données de validation).
- ✓ Considérant les particularités de l'analyse, le comité recommande au MSSS de limiter l'introduction de ce test au centre demandeur (aucun autre laboratoire ne devrait effectuer le test). Toute autre demande similaire devrait faire l'objet d'une évaluation scientifique approfondie.

RÉFÉRENCES

- Barnetson RA, Tenesa A, Farrington SM, Nicholl ID, Cetnarskyj R, Porteous ME, et al. Identification and survival of carriers of mutations in DNA mismatch-repair genes in colon cancer. *N Engl J Med* 2006;354(26):2751-63.
- Barrow E, Alduaij W, Robinson L, Shenton A, Clancy T, Laloo F, et al. Colorectal cancer in HNPCC: Cumulative lifetime incidence, survival and tumour distribution. A report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet* 2008;74(3):233-42.
- Burt RW, Cannon JA, David DS, Early DS, Ford JM, Giardiello FM, et al. Colorectal cancer screening. *J Natl Compr Canc Netw* 2013;11(12):1538-75.
- Burt RW, Leppert MF, Slattery ML, Samowitz WS, Spirio LN, Kerber RA, et al. Genetic testing and phenotype in a large kindred with attenuated familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 2004;127(2):444-51.
- Chubb D, Broderick P, Frampton M, Kinnersley B, Sherborne A, Penegar S, et al. Genetic diagnosis of high-penetrance susceptibility for colorectal cancer (CRC) is achievable for a high proportion of familial CRC by exome sequencing. *J Clin Oncol* 2015;33(5):426-32.
- Cragun D, Radford C, Dolinsky JS, Caldwell M, Chao E, Pal T. Panel-based testing for inherited colorectal cancer: A descriptive study of clinical testing performed by a US laboratory. *Clin Genet* 2014;86(6):510-20.
- Gismondi V, Meta M, Bonelli L, Radice P, Sala P, Bertario L, et al. Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the MYH gene in Italian patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas. *Int J Cancer* 2004;109(5):680-4.
- Guarinos C, Juarez M, Egoavil C, Rodriguez-Soler M, Perez-Carbonell L, Salas R, et al. Prevalence and characteristics of MUTYH-associated polyposis in patients with multiple adenomatous and serrated polyps. *Clin Cancer Res* 2014;20(5):1158-68.
- Iwama T, Mishima Y, Utsunomiya J. The impact of familial adenomatous polyposis on the tumorigenesis and mortality at the several organs. Its rational treatment. *Ann Surg* 1993;217(2):101-8.
- Kempers MJ, Kuiper RP, Ockeloen CW, Chappuis PO, Hutter P, Rahner N, et al. Risk of colorectal and endometrial cancers in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: A cohort study. *Lancet Oncol* 2011;12(1):49-55.
- Kraus C, Rau TT, Lux P, Erlenbach-Wunsch K, Lohr S, Krumbiegel M, et al. Comprehensive screening for mutations associated with colorectal cancer in unselected cases reveals penetrant and nonpenetrant mutations. *Int J Cancer* 2015;136(6):E559-68.
- Kuiper RP, Vissers LE, Venkatachalam R, Bodmer D, Hoenselaar E, Goossens M, et al. Recurrence and variability of germline EPCAM deletions in Lynch syndrome. *Hum Mutat* 2011;32(4):407-14.

- LaDuca H, Stuenkel AJ, Dolinsky JS, Keiles S, Tandy S, Pesaran T, et al. Utilization of multigene panels in hereditary cancer predisposition testing: analysis of more than 2,000 patients. *Genet Med* 2014;16(11):830-7.
- Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL, Goossens M, Hebeda KM, Voorendt M, et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat Genet* 2009;41(1):112-7.
- Lubbe SJ, Di Bernardo MC, Chandler IP, Houlston RS. Clinical implications of the colorectal cancer risk associated with MUTYH mutation. *J Clin Oncol* 2009;27(24):3975-80.
- Niessen RC, Kleibeuker JH, Westers H, Jager PO, Rozeveld D, Bos KK, et al. PMS2 involvement in patients suspected of Lynch syndrome. *Genes Chromosomes Cancer* 2009;48(4):322-9.
- Peltomaki P. DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res* 2001;488(1):77-85.
- Powell SM, Petersen GM, Krush AJ, Booker S, Jen J, Giardiello FM, et al. Molecular diagnosis of familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 1993;329(27):1982-7.
- Pritchard CC, Smith C, Salipante SJ, Lee MK, Thornton AM, Nord AS, et al. ColoSeq provides comprehensive lynch and polyposis syndrome mutational analysis using massively parallel sequencing. *J Mol Diagn* 2012;14(4):357-66.
- Rowley PT. Inherited susceptibility to colorectal cancer. *Annu Rev Med* 2005;56:539-54.
- Sapari NS, Elahi E, Wu M, Loh M, Ng HK, Han X, et al. Feasibility of low-throughput next generation sequencing for germline DNA screening. *Clin Chem* 2014;60(12):1549-57.
- Sjursen W, Haukanes BI, Grindedal EM, Aarset H, Stormorken A, Engebretsen LF, et al. Current clinical criteria for Lynch syndrome are not sensitive enough to identify MSH6 mutation carriers. *J Med Genet* 2010;47(9):579-85.
- Soravia C, Berk T, Madlensky L, Mitri A, Cheng H, Gallinger S, et al. Genotype-phenotype correlations in attenuated adenomatous polyposis coli. *Am J Hum Genet* 1998;62(6):1290-301.
- Tang R, Hsiung C, Wang JY, Lai CH, Chien HT, Chiu LL, et al. Germ line MLH1 and MSH2 mutations in Taiwanese Lynch syndrome families: Characterization of a founder genomic mutation in the MLH1 gene. *Clin Genet* 2009;75(4):334-45.
- Ten Broeke SW, Brohet RM, Tops CM, van der Klift HM, Velthuisen ME, Bernstein I, et al. Lynch syndrome caused by germline PMS2 mutations: Delineating the cancer risk. *J Clin Oncol* 2015;33(4):319-25.
- Trano G, Wasmuth HH, Sjursen W, Hofslie E, Vatten LJ. Awareness of heredity in colorectal cancer patients is insufficient among clinicians: A Norwegian population-based study. *Colorectal Dis* 2009;11(5):456-61.

ANNEXE A

Critères cliniques utilisés pour le dépistage du syndrome de Lynch (SL)

AMSTERDAM II (tous les critères sont requis)

1. Au moins 3 sujets atteints de cancers associés au SL
2. Au moins 1 sujet est parent au 1^{er} degré avec les 2 autres
3. Au moins 2 générations successives
4. Au moins 1 cas < 50 ans
5. Syndrome FAP exclu

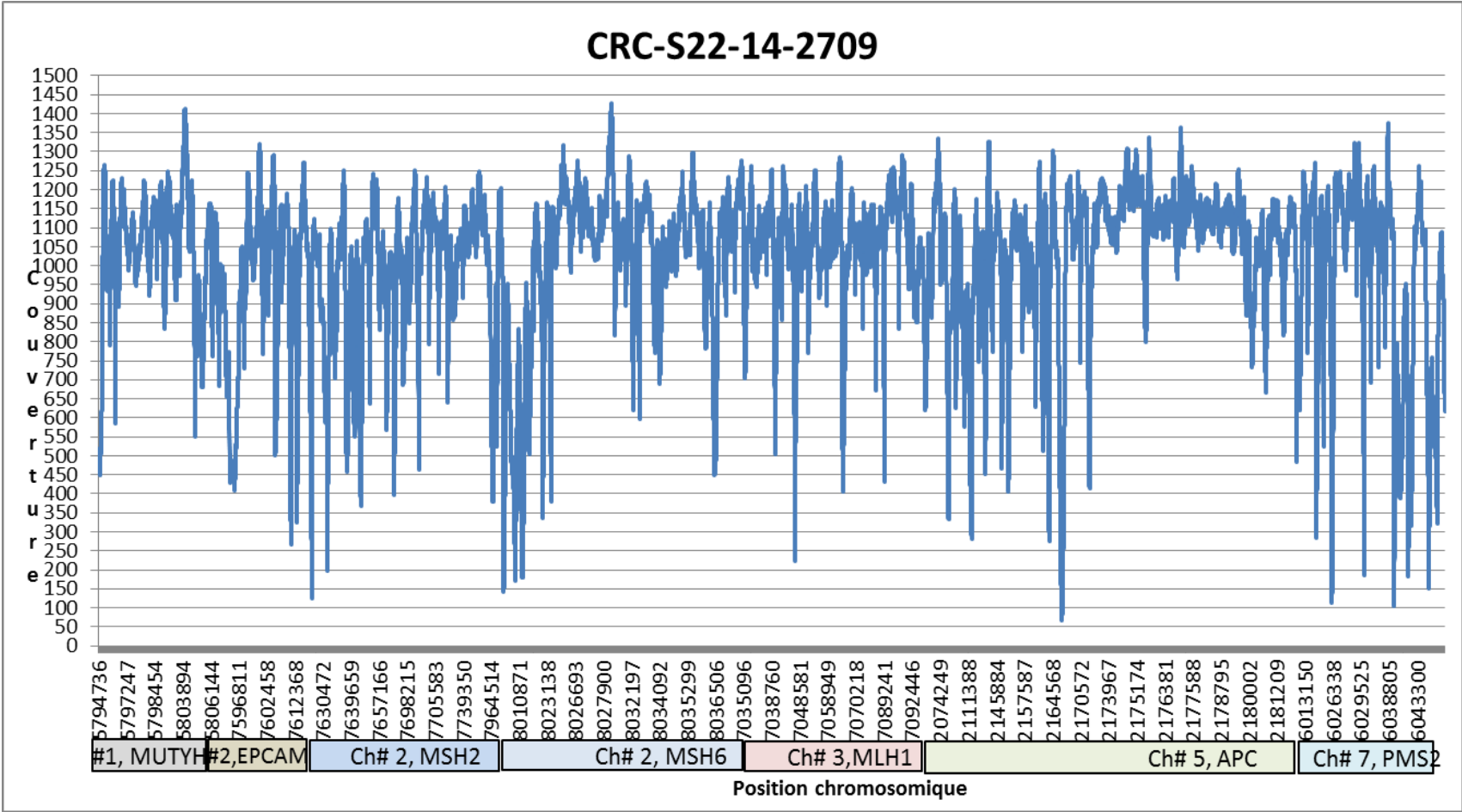
BETHESDA RÉVISÉS (au moins un critère requis)

CCR < 50 ans.

1. Deuxième CCR synchrone ou métachrone
2. Deuxième cancer associé au SL
3. Anatomopathologie évocatrice et MSI élevée, < 60 ans
4. CCR avec au moins 1 parent au 1^{er} degré présentant un cancer associé au SL < 50 ans
5. CCR avec au moins 2 parents au 1^{er} ou 2^e degré présentant un cancer associé au SL, indépendamment de l'âge

ANNEXE B

Exemple de profondeur de lecture par SNG



MESURE DE L'AVIDITÉ DES IMMUNOGLOBULINES G SPÉCIFIQUES AU CYTOMÉGALOVIRUS PAR DOSAGE IMMUNOLOGIQUE MICROPARTICULAIRE EN CHIMILUMINESCENCE (RÉFÉRENCE – 2015.02.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 23 décembre 2015

1.3 Date de publication de l'avis : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, l'experte consultée est la D^{re} Marie-Danielle Dionne, obstétricienne et gynécologue - médecine maternelle et fœtale, CHUM.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Mesure de l'avidité des immunoglobulines G (IgG) spécifiques au cytomégalo virus (CMV) au moyen d'un dosage immunologique microparticulaire en chimiluminescence (CMIA – *chemiluminescent microparticle immunoassay*)

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Le test d'avidité des IgG anti-CMV est utilisé afin de repérer une primo-infection chez la femme enceinte. L'avidité mesure la force de liaison (affinité fonctionnelle) des IgG anti-CMV synthétisés en réponse à une infection. Les anticorps produits au cours de l'infection primaire ont une affinité plus faible pour l'antigène que dans le cas d'une infection non primaire. En effet, l'avidité des anticorps IgG augmente progressivement avec le temps après une immunisation. Ce phénomène est connu comme étant une maturation de la réponse immune humorale [Yang *et al.*, 2014; Hazell, 2007]. Donc, les IgG de faible avidité sont une indication d'une infection récente (primaire), alors que les IgG de forte avidité sont

une indication d'une infection antérieure récurrente ou d'une réinfection [Prince et Lape-Nixon, 2014; Revello et Gerna, 2002; Grangeot-Keros *et al.*, 1997].

La trousse Architect CMV IgG Avidity, d'Abbott Laboratories, permet d'effectuer un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) pour mesurer qualitativement et semi-quantitativement l'avidité des IgG anti-CMV dans le sérum ou le plasma humain. Brièvement, deux aliquotes de l'échantillon à tester sont incubées séparément : la première avec un antigène de CMV et la seconde avec un tampon sans l'antigène. La première réaction sert à éliminer les IgG de haute avidité par compétition avec l'antigène et la deuxième sert de référence pour la quantité totale d'IgG anti-CMV. Chacune des aliquotes est alors combinée avec des microparticules paramagnétiques couvertes d'un lysat de virus CMV. La quantité d'IgG anti-CMV liée aux particules magnétiques est mesurée en chimiluminescence par l'utilisation d'un anti-IgG humain couplé à l'acridinium (purifié à partir d'un modèle murin).

La réaction de chimiluminescence qui en résulte est mesurée en unités de lumière relative (RLU – *relative light units*). L'avidité des IgG anti-CMV de l'échantillon est calculée en utilisant les mesures RLU des deux réactions : Avidité (%) = $100 \times [1 - (\text{Avidité 1} / \text{Avidité 2})]$. L'interprétation des résultats de la trousse, exprimés en pourcentage d'avidité des IgG anti-CMV, est faite comme suit :

- < 50 % : faible avidité
- 50 % à 59,9 % : avidité intermédiaire (zone grise)
- ≥ 60 % : forte avidité

Le fabricant recommande de répéter le test avec un deuxième échantillon à l'intérieur d'une période de temps appropriée lorsque les résultats se situent dans la zone grise, puisqu'aucune interprétation clinique ne peut être donnée.

Utilisée conjointement avec l'analyse des taux d'IgM et d'IgG spécifiques au CMV, la détermination de l'avidité des IgG anti-CMV serait le meilleur outil pour dater l'infection primaire [Lumley *et al.*, 2014], en particulier lorsque la séroconversion pendant la grossesse n'est pas disponible.

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons sanguins seront recueillis au centre de prélèvement de l'établissement désigné ou dans les centres hospitaliers clients selon les modalités habituelles pour ce type d'échantillon. Ils seront acheminés au laboratoire central du centre désigné pour la réception et la réalisation de l'analyse. Selon le demandeur, le temps de réponse de l'analyse sera de 1 semaine.

Il est fortement suggéré que l'analyse soit effectuée entre la 12^e et la 16^e semaine de grossesse afin d'avoir une interprétation appropriée [Tung *et al.*, 2012; Lazzarotto *et al.*, 2011]. En effet, une faible avidité des IgG CMV suggère une infection primaire ou aiguë alors qu'une avidité élevée durant cette période est un bon indicateur d'une infection antérieure. Si l'avidité est déterminée plus tard durant la grossesse (après 18 à 20 semaines de gestation), la sensibilité est radicalement réduite [Lazzarotto *et al.*, 2011], puisqu'il est alors plus difficile de départager une infection primaire d'une infection secondaire. Une autre étude suggère également que la détection des anticorps contre CMV soit faite préférentiellement à la fin du 1^{er} trimestre ou au début du 2^e trimestre de la grossesse [Enders

et al., 2013], puisqu'une augmentation des valeurs d'avidité a été observée avec le temps dans les spécimens analysés [Lumley *et al.*, 2014; Grangeot-Keros *et al.*, 1997].

2.4 Société ou développeur

Abbott Ireland, Diagnostics Division (Irlande)

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Trousse Architect I System – CMV IgG Avidity Assay (Santé Canada, n° 71693, 1^{er} mai 2009)

2.6 Valeur pondérée : 47,39

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Femmes enceintes chez qui l'on suspecte une infection à CMV et enfants chez qui l'on pourrait soupçonner un CMV congénital dans un contexte de surdité dépistée tardivement (cas rarement rencontrés selon le demandeur).

3.2 Description de la maladie visée

Le CMV est un virus ubiquitaire de la famille des *Herpesviridae* [Hazell, 2007]. Les infections à CMV sont habituellement bénignes et asymptomatiques. Cependant, une infection contractée durant la grossesse comporte un risque de transmission *in utero* et peut causer des lésions fœtales à des degrés variables [ASPC, 2010]. Après une primo-infection, le CMV reste chez l'hôte à l'état latent avec des réactivations occasionnelles et des infections récurrentes. Les changements hormonaux associés à la grossesse peuvent conduire à la réactivation du virus [Tung *et al.*, 2012].

Une infection primaire contractée durant la grossesse comporte un risque de transmission *in utero* de l'ordre de 30 % à 40 % [Yinon *et al.*, 2010] et de 0,5 % à environ 2 % dans le cas d'une infection secondaire (réinfection ou réactivation) [Leruez-Ville et Ville, 2014; Johnson et Anderson, 2013]. Le risque d'infection à CMV congénitale augmente avec l'avancement de la grossesse [Tung *et al.*, 2012; Revello et Gerna, 2002]. Selon le demandeur, le Québec ne possède pas de données statistiques précises relatives aux cas d'infection primaire au CMV contractée durant la grossesse. Toujours selon le demandeur, une étude réalisée au CHU Sainte-Justine et soumise pour publication estime l'incidence d'une séroconversion à CMV en cours de grossesse à 3,8 %.

Les lésions fœtales causées par le CMV sont variables. La majorité (90 %) des nouveau-nés infectés *in utero* par le CMV sont asymptomatiques, mais 10 % à 15 % d'entre eux peuvent présenter des lésions neurosensorielles et autres anomalies congénitales de modérées à graves de même qu'un retard de développement psychomoteur [Leruez-Ville et Ville, 2014; Yinon *et al.*, 2010]. Les séquelles d'une infection congénitale sont plus graves lorsque la séroconversion maternelle survient durant le 1^{er} trimestre [Revello et Gerna, 2002]. De 20 % à 30 % des bébés peuvent décéder des suites de ces complications durant leur premier mois de vie ou survivre avec des complications neurologiques [ASPC, 2010; Yinon *et al.*, 2010].

Aucun traitement efficace n'est actuellement disponible et l'option de l'interruption médicale de grossesse est offerte lorsqu'une infection fœtale est détectée par échographie ou amniocentèse, ou lorsque l'on détermine ou que l'on soupçonne qu'un fœtus est touché par cette infection [Yinon *et al.*, 2010]. Les options de traitement pour une infection à CMV

foétale sont limitées, car des controverses demeurent quant à l'efficacité des traitements pharmacologiques [Coll *et al.*, 2009]. En effet, les médicaments antiviraux ont des effets tératogènes potentiels et la toxicité bien connue de ceux-ci ne favorise pas leur usage durant la grossesse.

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

Le volume annuel d'analyses prévu pour les 3 prochaines années est d'environ 400.

3.4 Spécialités médicales concernées

Obstétrique et gynécologie, immunologie, infectiologie

3.5 Données médico-administratives

Au cours des dernières années, des analyses ont été envoyées au Public Health Ontario Laboratory (PHOL, Toronto). Toutefois, aucune donnée n'a été répertoriée auprès du MSSS pour ces envois hors Québec²⁷. Selon le demandeur, le CHU Sainte-Justine envoie environ 2 spécimens par mois au PHOL. Celui-ci utilise la technique ELISA, d'Euroimmun, pour l'analyse.

3.6 Brève description de la situation actuelle

La mise en évidence d'une séroconversion maternelle, c'est-à-dire l'apparition *de novo* d'IgG anti-CMV dans le sérum d'une femme enceinte qui était auparavant séronégative, constitue une référence diagnostique [Yinon *et al.*, 2010; Revello et Gerna, 2002]. Toutefois, en pratique, le sérum prégrossesse n'est habituellement pas disponible pour déterminer une séroconversion. Le diagnostic clinique habituel d'une femme enceinte infectée par le CMV est le suivant : si la sérologie IgG anti-CMV et IgM anti-CMV est positive, une échographie est pratiquée pour évaluer la présence d'anomalies fœtales. Si c'est le cas, une amniocentèse s'impose. En l'absence d'anomalies fœtales (environ 15 % des fœtus infectés n'ont pas d'anomalies visibles à l'échographie²⁸), l'amniocentèse peut être réalisée pour aider à déterminer si le fœtus est infecté.

Le test établi comme étalon or pour le diagnostic d'une infection fœtale à CMV repose sur l'isolement et la culture du virus à partir du liquide amniotique [Tung *et al.*, 2012; Yinon *et al.*, 2010]. Le diagnostic de l'infection chez le nouveau-né peut être fait par la recherche de l'ADN du CMV dans l'urine et la salive ou par culture virale [Tung *et al.*, 2012; Lazzarotto *et al.*, 2011].

Différentes trousse commerciales sont disponibles pour mesurer l'avidité des IgG CMV. Trois d'entre elles sont homologuées au Canada. Elles utilisent des technologies en dosage immunologique : ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) et ECLIA (*electro-chemiluminescence immunoassay*) [Guisasola *et al.*, 2010; Revello *et al.*, 2010].

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Une infection primaire à CMV chez la femme enceinte comporte un risque de transmission *in utero* du virus, et donc de lésions fœtales. Le diagnostic différentiel entre une infection primaire et une infection secondaire est très important afin d'informer adéquatement la

27. Fichiers des analyses réalisées hors Québec - Bilans des exercices financiers 2012-2013 et 2013-2014, information fournie par le MSSS (20 octobre 2015).

28. Information provenant de la D^{re} Marie-Danielle Dionne, obstétricienne et gynécologue - CHUM.

mère à propos des conséquences possibles sur le déroulement de sa grossesse et d'orienter la prise en charge optimale.

La mesure de l'avidité IgG anti-CMV durant la grossesse permet de mieux estimer le moment de l'infection CMV primaire et ainsi de savoir si le fœtus est à risque élevé d'infection congénitale. Par exemple, cela permet aux patientes asymptomatiques dont l'échographie est normale et dont l'avidité est élevée d'éviter des investigations effrénées pouvant comporter des risques pour le fœtus (p. ex. amniocentèse) [Hazell, 2007]. À cet égard, la mesure des IgM spécifiques au CMV ne permet pas de dater l'infection, puisque ceux-ci peuvent demeurer positifs 2 ans après l'infection primaire et peuvent redevenir positifs lors de la réinfection ou de la réactivation.

La trousse Architect CMV IgG Avidity permet une analyse automatisée des échantillons. L'intervalle des valeurs d'avidité pour lesquelles l'interprétation est ambiguë est de 10 % comparativement à d'autres trousse commerciales utilisant d'autres méthodes et où cet intervalle est plus large (voir l'annexe A).

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Datation de l'infection

Une étude a démontré qu'un indice d'avidité (AI) des IgG-CMV ≤ 30 % suggère que l'infection primaire est récente (au cours des 3 derniers mois) alors qu'un AI > 60 % indiquerait que l'infection est antérieure ou alors secondaire [Grangeot-Keros *et al.*, 1997]. Cette étude utilise une trousse d'immunoessai enzymatique indirect pour mesurer l'avidité des IgG CMV chez des groupes de femmes enceintes et elle présente les résultats en fonction de leur statut sérologique. Les résultats montrent que les femmes ayant une infection antérieure ou une réactivation du CMV présentent un AI moyen de 88 % et de 92 % respectivement.

Les données de validité clinique des différentes trousse commerciales disponibles relativement à la mesure de l'avidité des IgG-anti-CMV sont présentées au tableau 1. Trois études présentant des données de validité clinique pour la trousse à l'étude, Architect CMV IgG Avidity, ont été repérées [Revello *et al.*, 2010; Curdt *et al.*, 2009; Lagrou *et al.*, 2009].

La première étude retenue avait pour principal objectif d'évaluer les performances de la trousse Architect comparativement à d'autres trousse commerciales. La sensibilité clinique a été vérifiée en mesurant l'avidité des IgG-anti-CMV d'échantillons sériques disponibles commercialement en 3 trousse et pour lesquels le moment du prélèvement postséroconversion était documenté pour chaque femme. Tous les échantillons IgG-anti-CMV positifs, prélevés à l'intérieur des 4 mois suivant la séroconversion, ont pu être évalués avec la trousse Architect sauf 1 en raison d'une non-réactivité (36/37). Tous les échantillons réactifs ont été catégorisés de faible avidité (sensibilité de 100 %, 36/36) [Curd *et al.*, 2009].

La spécificité clinique a été vérifiée en mesurant l'avidité des IgG-anti-CMV à partir d'échantillons sériques IgG+/IgM- pour le CMV provenant de 312 femmes enceintes. Dans ce groupe, tous les échantillons d'avidité IgG élevée ont été considérés comme de vrais négatifs. Cette précaractérisation repose sur l'hypothèse que les échantillons IgG+ avec indice d'avidité (IA) élevé et IgM- proviennent de femmes dont l'infection est passée. Trois échantillons dont le pourcentage d'avidité se situait dans la zone grise d'Architect (50-60 %)

ont été exclus. Les 309 échantillons restants ont été catégorisés IgG IA élevé (spécificité de 100 %). En ce qui concerne la trousse Radim, la spécificité clinique était de 99,7 %.

Une analyse de type ROC a été réalisée afin de confirmer les valeurs diagnostiques seuils, en termes d'indice d'avidité, pour la trousse Architect. Les échantillons utilisés dans le calcul des performances diagnostiques ont été repris. L'aire sous la courbe était de 1,0 (sensibilité et spécificité de 100 %) pour des valeurs seuils d'avidité se situant entre 45,1 % et 53,2 % [Curdt *et al.*, 2009].

La deuxième étude qui a présenté des données de performance clinique pour la trousse Architect est celle de Revello et ses collègues [2010]. L'objectif était de comparer plusieurs trousses d'avidité IgG-anti-CMV entre elles au moyen d'une banque de 198 échantillons sériques prélevés consécutivement chez 65 femmes enceintes atteintes d'une infection primaire à CMV. L'infection primaire a été établie par la séroconversion IgG-anti-CMV dans 56 cas et par l'analyse cinétique des IgM-anti-CMV, l'avidité des IgG-anti-CMV et la présence d'ADN viral dans le sang pour les 9 autres femmes.

Dans le but d'évaluer la capacité des tests d'avidité IgG-CMV à discriminer les dates de l'infection primaire, les échantillons ont été regroupés en 3 catégories : < 90 jours (n = 116), 91 et 180 jours (n = 60) et >180 jours (n = 22). La distribution approximative des résultats d'IA faible, IA intermédiaire et IA élevé en fonction des 3 catégories d'échantillons, pour la trousse Architect, est la suivante : < 90 jours (80 %, 15 %, 5 %), 91-180 jours (50 %, 20 %, 30 %) et >180 jours (5 %, 25 %, 70 %).

Une catégorisation identique obtenue avec au moins 5 trousses différentes a été observée pour 59,6 % des échantillons (118/198), démontrant ainsi la variabilité entre les diverses approches. En effet, le degré d'accord (exactitude) entre l'IA et la datation de l'infection primaire : 0-90 jours (IA faible), 90-180 jours (IA intermédiaire) et plus de 180 jours (IA élevé), tel qu'évalué au moyen du coefficient de corrélation kappa (κ), s'est avéré passable ($\kappa = 0,28$) pour la trousse Architect. Cinq des autres trousses évaluées avaient un accord plus élevé, et deux un accord moins élevé (voir tableau 1).

La performance diagnostique de l'IA des IgG-anti-CMV a été évaluée au moyen d'une analyse de type ROC. Aucune des trousses de mesure de l'IA n'a été capable de bien catégoriser tous les échantillons sériques selon la date de l'infection primaire. Considérant l'importance de diagnostiquer une infection récente (< 90 jours), l'aire sous la courbe ROC de la trousse Architect était de 0,70, la plus faible derrière les trousses de Bio-Rad (0,74), DiaSorin (0,74), DIESSE (0,78), Euroimmun (0,78) et Radim (0,84).

La troisième étude sélectionnée a présenté des données de sensibilité diagnostique d'un dosage de l'avidité des IgG-anti-CMV à partir de 94 échantillons sériques prélevés chez 31 femmes enceintes dont la séroconversion a été documentée entre 2 semaines et 4 mois auparavant [Lagrou *et al.*, 2009]. Aucun échantillon sérique testé moins de 3 mois suivant la séroconversion ne présentait un IA élevé, et cela, autant avec la trousse Architect (CMIA) qu'avec celle de Vidas (ELFA). Une série de 100 échantillons sériques IgG+/IgM- obtenus consécutivement a été utilisée pour déterminer la spécificité du test de l'avidité des IgG. Concernant la trousse Architect, l'IA était élevé (≥ 60 %) pour 98 échantillons (spécificité de 98 %). Pour la trousse Vidas, l'IA était élevé (≥ 80 %) pour 76 échantillons (spécificité de 76 %). À cet égard, les valeurs d'IA obtenues par Vidas se sont avérées plus faibles lorsque déterminées à partir d'un échantillon dont la concentration des IgG-anti-CMV était inférieure à 25 AU/ml (IgG-anti-CMV < 25 AU/ml : IA moyen de 60,2 % contre > 25 AU/ml :

IA moyen de 85,9 %; $p < 0,001$). Ce phénomène n'a pas été observé avec Architect (IA moyen de 78,1 % contre 84,4 %, respectivement; $p = 0,091$).

Risque de transmission d'une infection congénitale

Les valeurs d'avidité des IgG par rapport aux conséquences cliniques fœtales ou néonatales causées par l'infection à CMV sont présentées au tableau 2. Les prévalences des cas d'infection à CMV congénitale et des morbidités sont plus élevées lorsque les valeurs des indices d'avidité (AI) sont faibles comparativement à des AI intermédiaires ou élevés.

Ebina et ses collègues [2014] ont démontré un lien entre l'indice d'avidité des IgG-anti-CMV mesuré avant 28 semaines de grossesse et les infections congénitales. En effet, parmi les 759 femmes pour qui le test IgG-anti-CMV était positif, 14 ont donné naissance à un enfant atteint d'une infection congénitale (1,8 %). L'avidité des IgG-anti-CMV maternels était significativement plus faible dans le groupe avec infection congénitale que dans le groupe sans infection (IA médian : 35,1 % contre 70,4 %; $p < 0,00001$) [Ebina *et al.*, 2014]. Une analyse de type ROC a été utilisée afin de déterminer la valeur d'IA qui permet une meilleure discrimination entre les cas avec et sans infection congénitale. C'est à un indice d'avidité < 40 % mesuré avant 28 semaines que la sensibilité et la spécificité pour les cas d'infection congénitale sont les plus élevées, soit 88,9 % et 96,2 %, respectivement.

L'étude de Sonoyama abonde dans le même sens. L'avidité des IgG-anti-CMV maternels était significativement plus faible dans le groupe avec infection congénitale ($n = 9$) que dans le groupe sans infection ($n = 41$) (AI = 16 % vs 66 %; $p = 0,0138$). L'analyse de régression logistique multivariée réalisée dans cette étude démontre que l'avidité des IgG anti-CMV maternels est un facteur prédictif indépendant d'une infection à CMV congénitale (RC : 0,91; $p = 0,0317$) [Sonoyama *et al.*, 2012].

Combinaison avec d'autres paramètres

L'utilisation combinée des analyses de taux d'IgM, d'IgG, d'avidité des IgG maternels et de l'ultrasonographie fœtale permet de repérer les fœtus infectés atteints de lésions graves. Cependant, elle ne permet pas la détection des fœtus infectés atteints uniquement d'une déficience auditive [Kaneko *et al.*, 2013].

Dans une étude visant à déterminer si les résultats cliniques des tests prénataux chez les femmes enceintes à haut risque d'infection à CMV primaire peuvent prédire une infection congénitale, des facteurs de risque ont été évalués. La comparaison a été faite entre un groupe de femmes dont le bébé était atteint d'une infection congénitale et un groupe dont le bébé n'en était pas atteint. L'analyse de régression logistique multivariée a démontré que l'avidité des IgG CMV maternels (RC 0,91; $p = 0,0317$) et la recherche des anomalies fœtales par ultrasonographie (RC 291,22; $p = 0,0213$) sont des facteurs prédictifs indépendants d'une infection à CMV congénitale [Sonoyama *et al.*, 2012]. Autrement dit, lorsqu'une femme enceinte obtient un résultat faible d'avidité des IgG ou une ultrasonographie fœtale anormale, la probabilité d'une infection à CMV congénitale augmente significativement.

Tableau 1 Données de validité clinique

Étude	Trousse	Sensibilité clinique	Spécificité clinique	Autres paramètres
Études qui ont examiné la trousse avec la technologie CMIA				
Curdt <i>et al.</i> , 2009 <i>Sensibilité :</i> N = 37 sérums commerciaux <i>Spécificité :</i> N = 312 sérums de femmes enceintes (IgG+, IgM-)	Architect (CMIA)	<i>Sensibilité à la séroconversion</i> 0-4 mois : 100 % (36/36) 1 échantillon non réactif	IA ≥ 60 % 100 % (309/309) 3 échantillons avec IA entre 50 % et 60 %.	AU-ROC 1,0 : valeur seuil d'avidité entre 45,1 % et 53,2 %
	Radim (ELISA)	<i>Sensibilité à la séroconversion</i> 0-4 mois : 87,5 % (28/32) 2 échantillons IA intermédiaire, 2 élevé et 5 non réactifs	IA élevé 99,7 % (299/300) 1 échantillon IA faible, 11 intermédiaires et 1 non réactif	AU-ROC 0,995 : pas de valeur seuil qui différencie les spécimens d'avidité faible <u>et</u> élevée
Revello <i>et al.</i> , 2010 N = 198 sérums 65 femmes enceintes avec CMV primaire	Trousses commerciales : -Architect (CMIA) -Vidas (ELFA) -Platelia (ELISA) -Liaison (CLIA) -Diesse (ELISA) -Euroimmun (ELISA) -Radim (ELISA) -Technogenetics (ELISA)	<i>AU-ROC</i> (≤ 90 jours, infection récente) : -Architect : 0,70 -Vidas : 0,60 -Platelia : 0,74 -Liaison : 0,74 -Diesse : 0,78 -Euroimmun : 0,78 -Radim : 0,84 -Technogenetics : 0,61	<i>AU-ROC</i> (≥ 180 jours, infection passée) : -Architect : 0,79 -Vidas : 0,72 -Platelia : 0,76 -Liaison : 0,74 -Diesse : 0,87 -Euroimmun : 0,72 -Radim : 0,85 -Technogenetics : 0,54	<i>Exactitude</i> (valeur Kappa) : -Architect : 0,28 (passable) -Vidas : 0,18 (faible) -Platelia : 0,37 (passable) -Liaison : 0,37 (passable) -Diesse : 0,40 (modéré) -Euroimmun : 0,48 (modéré) -Radim : 0,43 (modéré) -Technogenetics : 0,15 (faible)
Lagrou <i>et al.</i> , 2009 <i>Sensibilité :</i> N = 94 sérums, 31 femmes enceintes avec CMV primaire <i>Spécificité :</i> N = 100 sérums de femmes enceintes (IgG+, IgM-)	Architect (CMIA)	<i>Sensibilité à la séroconversion</i> 0-3 mois : 100 % (94/94)	IA ≥ 60 % 98 % (98/100)	La concentration des IgG-anti-CMV inférieure ou supérieure à 25 AU/ml n'influe pas sur l'IA : IA moyen = 78,1 % contre 84,4 %, respectivement; p = 0,091
	Vidas (ELFA)	<i>Sensibilité à la séroconversion</i> 0-3 mois : 100 % (94/94)	IA ≥ 80 % 76 % (76/100)	La concentration des IgG-anti-CMV inférieure ou supérieure à 25 AU/ml influe sur l'IA : IA moyen = 60,2 % contre 85,9 %, respectivement; p < 0,001

Étude	Trousse	Sensibilité clinique	Spécificité clinique	Autres paramètres
Études qui ont examiné les trousses avec d'autres technologies				
Ebina <i>et al.</i> , 2014 (Japon)	Siemens (EIA)	Avec valeur seuil d'AI = 40 % : sen = 64,3 % et spe = 96,1 % pour la prédiction d'une infection à CMV congénitale. Avec valeur seuil d'AI = 40 % chez patientes < 28 sem. de grossesse : sen = 88,9 %, spe = 96,2 %, VPP = 27,6 %, VPN = 99,8 % et précision = 96,1 %		Avidité IgG à prédire une infection à CMV congénitale AUC-ROC : 0,802
Enders <i>et al.</i> , 2013 (Allemagne)	Vidas (EIA)	AI < 20 % (12 dernières sem.) : VPP 98,2 % (54/55) AI < 40 % (20 dernières sem.) : VPP 93,4 % (99/106)	AI entre 40-55 % (12 dernières sem.) : VPN 88,2 % (15/17)	
	RecomBlot (immunoblot assay)	6-8 dernières sem. : VPP 100 % (18/18) 14 dernières sem. : VPP 96,9 % (31/33)	6-8 dernières sem. : VPN 87,5 % (14/16)	
Grangeot-Keros <i>et al.</i> , 1997 (France)	Enzygnost-CMV IgG (indirect enzyme immunoassay)			Valeur moyenne d'avidité <u>vs</u> datation de l'infection AI ≤ 30 % : séroconversion maternelle n'a pas été documentée durant le 1^{er} trimestre AI 30 % : séroconversion maternelle bien documentée AI 88 % : infection antérieure AI 92 % : après une réactivation du CMV
Rajasekariah <i>et al.</i> , 2013 (Australie)	RecomBlot (immunoblot assay)	Spécimens d'avidité faible Sen : 94,1 % VPP : 100 % Spécimen d'avidité élevée Sen : 100 % VPP : 97,1 %		L'accord entre la sérologie conventionnelle et RecomBlot est de 65 % pour le diagnostic de l'infection à CMV primaire (dont AI < 40 %).
Vauloup-Fellous <i>et al.</i> , 2014 (France)	Elecsys (ECLIA) 2 sites d'étude : Paris-Clamart (France) et Bologne (Italie)	Infection primaire 91,3 % (n = 25) et 96,1 % (n = 93) Infection antérieure 100 % (n = 57) et 90,9 % (n = 50)	Infection primaire 92 % (n = 25) et 96,8 % (n = 93) Infection antérieure 89,5 % (n = 57) et 80 % (n = 50)	

Sigles et abréviations : AI : indice d'avidité (des IgG); AUC-ROC : aire sous la courbe ROC (*Receiver Operating Characteristic*); sem. : semaine; sen : sensibilité; spe : spécificité

Tableau 2 Conséquences cliniques fœtales ou néonatales de l'infection à CMV en fonction des valeurs d'avidité des IgG maternels

Étude	Avidité des IgG maternels	Infection congénitale	Conséquences cliniques fœtales ou néonatales
Chakravarti <i>et al.</i> , 2007	AI < 40 %	26 % (13/50)	Hépatomégalie et jaunisse 69,2 % (9) Dommages du système nerveux central 30,8 % (4), dont 2 décès
Ebina <i>et al.</i> , 2014	AI < 40 %	23,7 % (9/38)	Asymptomatique (5) Hépatosplénomégalie (4) Calcification intracrânienne (3) Ventriculomégalie (3) Retard de croissance fœtale (3) Thrombocytopénie (2) Rétinite (2) Microcéphalie (1) Ascites (1)
	AI > 40 %	0,7 % (5/721)	
Leruez-Ville <i>et al.</i> , 2013	AI faible	36,5 % (15/41)	Asymptomatiques à la naissance (8) Perte auditive (2) Lésions cérébrales graves et interruption de grossesse (4) Avortement spontané (1)
	AI intermédiaire	6,4 % (2/31)	Asymptomatiques à la naissance (1) Lésions cérébrales graves et interruption de grossesse (1)
Sonoyama <i>et al.</i> , 2012	AI ≤ 30 %	50 % (5/10)	Anomalies fœtales (3)
	AI > 30 %	10 % (4/40)	Anomalies fœtales (3)

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque cette analyse n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue, puisque cette analyse n'a pas pour objectif d'orienter ou de modifier les choix de traitement.

4.4 Validité analytique

Les performances analytiques de la trousse Architect sont présentées aux tableaux 3 et 4. Elles proviennent de sa monographie. Les caractéristiques des trousses commerciales sont présentées à l'annexe A.

4.5 Données fournies par le demandeur

Données locales

Une étude de validation²⁹ de la trousse Architect CMV IgG Avidity a été réalisée avec 37 échantillons sériques dont le délai entre l'infection et le prélèvement était connu ou documenté. Les délais de moins de 4 mois sont classés comme des infections récentes (faible avidité, n = 6 spécimens) alors que ceux de plus de 4 mois sont considérés comme des infections anciennes (forte avidité, n = 31 spécimens). La sensibilité et la spécificité sont de 100 %.

Contrôle interne de la qualité

Les mécanismes internes de contrôle de la qualité qui seraient mis en place par le demandeur sont :

- Présence d'un contrôle positif et négatif chaque jour durant lequel l'analyse est réalisée;
- Suivi des contrôles à l'aide du programme *Unity Real Time*;
- Validation des analyses par un médecin microbiologiste.

Contrôle externe de la qualité

Actuellement, il n'existe pas d'instrument commercial de contrôle externe de la qualité au Canada ou aux États-Unis. Le College of American Pathologists (CAP) n'offre pas encore cette analyse. Le demandeur indique qu'il pourrait communiquer avec le laboratoire de santé publique de l'Ontario afin de faire des échanges comme il l'a déjà fait concernant les tests sérologiques pour les bactéries *Bartonella*³⁰.

29. Rapport de vérification de la trousse CMV IgG avidité au CHU Sainte-Justine (envoyé par le demandeur le 23 juillet 2015).

30. Les espèces du genre *Bartonella* sont des bactéries Gram négatif.

Tableau 3 Précision (répétabilité et reproductibilité) des trousse de détection de l'avidité des IgG pour CMV

Étude (pays)	Trousse (méthode)	Spécimens et nombre	Valeur d'avidité (%)	Intraessai		Précision combinée*	
				CV (%)	Écart-type relatif (%)	CV (%)	Écart-type relatif (%)
Abbott Laboratories, 2008 (Irlande) <i>Monographie de la trousse</i>	Architect (CMIA)	Zone grise : 4 essais	50,0 – 59,9			14	
		Contrôle AI faible : 288	25,5	8,59	2,19	9,46	2,41
		Contrôle AI élevé : 288	80,8	0,89	0,72	1,10	0,89
		Spécimens humains : 96	57,1	2,38	1,36	3,32	1,90

Sigles et abréviations : AI : indice d'avidité (*avidity index*); CMIA : dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence; CV : coefficient de variation

*Coefficient de variation total pour la précision : comprend l'intraessai, l'interessai et l'*inter-day*.

Tableau 4 Sensibilité, spécificité et interférences des trousse de détection de l'avidité des IgG pour CMV

Étude (pays)	Trousse	Sensibilité analytique	Spécificité analytique	Interférences / notes
Abbott Laboratories, 2008 (Irlande) <i>Monographie de la trousse</i>	Architect (CMIA)	97,3 % (36/37)* Phase aiguë de l'infection	100 % (399/399)* Chez femmes enceintes	-Aucune interférence observée chez les spécimens témoins et les spécimens d'avidité faible ou élevée pour : bilirubine, triglycérides, protéines, globules rouges, hémoglobines. -Interférences potentielles sur des spécimens de patients atteints de maladies non reliées à l'infection à CMV (surtout avec une avidité élevée).

Sigles et abréviations : AI : indice d'avidité; CMIA : *chemiluminescent microparticle immunoassay*; N : nombre de spécimen

*Sensibilité et spécificité de la trousse Architect comparativement à une autre trousse commerciale non identifiée.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

N'ont pas été analysés.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Un algorithme utilisant une réactivité IgM CMV comme critère pour tester l'avidité IgG CMV de repère pas tous les sérums de faible avidité, et ceux manquants peuvent être des cas d'infection aiguë à CMV [Prince *et al.*, 2014]. Par ailleurs, la combinaison des analyses du taux d'IgM CMV et d'une faible avidité des IgG anti-CMV n'indique pas toujours une infection primaire à CMV [Lumley *et al.*, 2014]. Or, cette possibilité doit être considérée lors des conseils thérapeutiques et avant de prendre la décision d'entreprendre d'autres tests diagnostiques effractifs. Enfin, même si une infection congénitale est confirmée, le pronostic fœtal est difficile à établir [Yinon *et al.*, 2010; Coll *et al.*, 2009].

Une bonne performance des tests diagnostiques et de confirmation ainsi qu'une interprétation correcte des résultats et des conseils thérapeutiques appropriés donnés par un médecin spécialiste peuvent réduire significativement le taux des interruptions de grossesse non nécessaires [Lazzarotto *et al.*, 2011; Coll *et al.*, 2009] ou les risques médicaux pour le fœtus à la suite d'interventions effractives.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

La Société des obstétriciens et gynécologues du Canada (SOGC) propose un algorithme pour le diagnostic prénatal de l'infection à CMV congénitale (voir annexe B), qui utilise l'analyse de l'avidité des IgG en combinaison avec la détection des IgM spécifiques [Yinon *et al.*, 2010].

Des lignes directrices proposées par un consensus d'experts internationaux en obstétrique, gynécologie et néonatalogie convergent vers des directives similaires [Coll *et al.*, 2009]. L'analyse de l'avidité IgG anti-CMV est recommandée lorsqu'il y a présence d'IgM afin de repérer une infection primaire ou pour confirmer les résultats non concluants d'une séroconversion des IgG.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

1. La mesure de l'avidité des IgG spécifiques au CMV durant la grossesse permet de confirmer les résultats sérologiques afin d'évaluer le risque d'infection et d'orienter les patientes vers les interventions appropriées. Elle aurait le potentiel de diminuer le recours à des interventions effractives. Cette analyse serait complémentaire aux analyses des IgG et des IgM spécifiques au CMV.
2. L'analyse sert à la datation et à l'évaluation du risque d'infection. L'avidité des IgG-anti-CMV permet de distinguer une infection primaire d'une infection antérieure lorsque l'analyse est effectuée au moment opportun (avant 4 mois). La prévalence des cas d'infection à CMV congénitale et de la morbidité fœtale ou néonatale est plus élevée lorsque les valeurs des indice d'avidité (AI) sont faibles comparativement à des AI intermédiaires ou élevés. L'utilisation combinée des analyses d'IgM, d'IgG, d'avidité des IgG maternels et de l'ultrasonographie fœtale permet de reconnaître les fœtus infectés ayant des lésions graves.

Les données de validité analytique de la trousse Architect sont tirées de sa monographie. La sensibilité et la spécificité sont $> 97 \%$. Les coefficients de variation sont $\leq 14 \%$.

3. Une bonne performance des tests diagnostiques et de confirmation ainsi qu'une interprétation correcte des résultats et des conseils thérapeutiques appropriés peuvent réduire significativement le taux des interruptions de grossesse non nécessaires ou les risques médicaux pour le fœtus à la suite d'interventions effractives.
4. La Société des obstétriciens et gynécologues du Canada et un consensus d'experts proposent l'analyse de l'avidité des IgG spécifiques au CMV, en combinaison avec l'analyse des IgM, pour le diagnostic prénatal afin de repérer une infection primaire ou de confirmer les résultats d'une séroconversion des IgG.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Mesure de l'avidité des immunoglobulines G spécifiques au cytomégalovirus par dosage immunologique microparticulaire en chimiluminescence

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Un suivi prospectif de l'analyse est recommandé.

RÉFÉRENCES

- Abbott Laboratories. CMV IgG Avidity [Monographie de la trousse]. Sligo, Irlande : Abbott Laboratories; 2008. Disponible à : http://www.illexmedical.com/files/PDF/CMVIgGAvidity_ARC.pdf.
- Agence de la santé publique du Canada (ASPC). Cytomégalo­virus [site Web]. Ottawa, ON : ASPC; 2010. Disponible à : <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/cytomegalovirus-fra.php>.
- Berth M, Grangeot-Keros L, Heskia F, Dugua JM, Vauloup-Fellous C. Analytical issues possibly affecting the performance of commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33(9):1579-84.
- Chakravarti A, Kashyap B, Wadhwa A. Relationship of IgG avidity index and IgM levels for the differential diagnosis of primary from recurrent cytomegalovirus infections. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2007;6(4):197-201.
- Coll O, Benoist G, Ville Y, Weisman LE, Botet F, Anceschi MM, et al. Guidelines on CMV congenital infection. *J Perinat Med* 2009;37(5):433-45.
- Curd I, Praast G, Sickinger E, Schultess J, Herold I, Braun HB, et al. Development of fully automated determination of marker-specific immunoglobulin G (IgG) avidity based on the avidity competition assay format: Application for Abbott Architect cytomegalovirus and Toxo IgG Avidity assays. *J Clin Microbiol* 2009;47(3):603-13.
- Ebina Y, Minematsu T, Sonoyama A, Morioka I, Inoue N, Tairaku S, et al. The IgG avidity value for the prediction of congenital cytomegalovirus infection in a prospective cohort study. *J Perinat Med* 2014;42(6):755-9.
- Enders G, Daiminger A, Bader U, Exler S, Schimpf Y, Enders M. The value of CMV IgG avidity and immunoblot for timing the onset of primary CMV infection in pregnancy. *J Clin Virol* 2013;56(2):102-7.
- Evans C, Brooks A, Anumba D, Raza M. Dilemmas regarding the use of CMV-specific immunoglobulin in pregnancy. *J Clin Virol* 2013;57(2):95-7.
- Grangeot-Keros L, Mayaux MJ, Lebon P, Freymuth F, Eugene G, Stricker R, Dussaix E. Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J Infect Dis* 1997;175(4):944-6.
- Guisasola ME, Ramos B, Sanz JC, Garcia-Bermejo I, De Ory Manchon F. Comparison of IgG avidity assays in the confirmation of the diagnosis of cytomegalovirus primary infection. *APMIS* 2010;118(12):991-3.
- Hazell SL. Clinical utility of avidity assays. *Expert Opin Med Diagn* 2007;1(4):511-9.

- Johnson JM et Anderson BL. Cytomegalovirus: Should we screen pregnant women for primary infection? *Am J Perinatol* 2013;30(2):121-4.
- Kaneko M, Sameshima H, Minematsu T, Kusumoto K, Yamauchi A, Ikenoue T. Maternal IgG avidity, IgM and ultrasound abnormalities: Combined method to detect congenital cytomegalovirus infection with sequelae. *J Perinatol* 2013;33(11):831-5.
- Lagrou K, Bodeus M, Van Ranst M, Goubau P. Evaluation of the new architect cytomegalovirus immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgG avidity assays. *J Clin Microbiol* 2009;47(6):1695-9.
- Lazzarotto T, Guerra B, Gabrielli L, Lanari M, Landini MP. Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(9):1285-93.
- Leruez-Ville M et Ville Y. Infection à cytomégalo­virus pendant la grossesse : enjeux et prise en charge. *Presse Med* 2014;43(6 Pt 1):683-90.
- Leruez-Ville M, Sellier Y, Salomon LJ, Stirnemann JJ, Jacquemard F, Ville Y. Prediction of fetal infection in cases with cytomegalovirus immunoglobulin M in the first trimester of pregnancy: a retrospective cohort. *Clin Infect Dis* 2013;56(10):1428-35.
- Lumley S, Patel M, Griffiths PD. The combination of specific IgM antibodies and IgG antibodies of low avidity does not always indicate primary infection with cytomegalovirus. *J Med Virol* 2014;86(5):834-7.
- Prince HE et Lape-Nixon M. Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy. *Clin Vaccine Immunol* 2014;21(10):1377-84.
- Prince HE, Lape-Nixon M, Brenner A, Pitstick N, Couturier MR. Potential impact of different cytomegalovirus (CMV) IgM assays on an algorithm requiring IgM reactivity as a criterion for measuring CMV IgG avidity. *Clin Vaccine Immunol* 2014;21(6):813-6.
- Revello MG et Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(4):680-715.
- Revello MG, Genini E, Gorini G, Klersy C, Piralla A, Gerna G. Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *J Clin Virol* 2010;48(4):255-9.
- Sonoyama A, Ebina Y, Morioka I, Tanimura K, Morizane M, Tairaku S, et al. Low IgG avidity and ultrasound fetal abnormality predict congenital cytomegalovirus infection. *J Med Virol* 2012;84(12):1928-33.
- Tung YC, Lu PL, Ke LY, Tsai WC. CMV infection and pregnancy. *Curr Obstet Gynecol Rep* 2012;1(4):216-22.
- Vauloup-Fellous C, Lazzarotto T, Revello MG, Grangeot-Keros L. Clinical evaluation of the Roche Elecsys CMV IgG Avidity assay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33(8):1365-9.

Yang JM, Li JX, Guo ZX. Application of commercial cytomegalovirus IgG avidity diagnostic kit. Clin Lab 2014;60(8):1377-82.

Yinon Y, Farine D, Yudin MH, Gagnon R, Hudon L, Basso M, et al. Cytomegalovirus infection in pregnancy. J Obstet Gynaecol Can 2010;32(4):348-54.

ANNEXE A

Caractéristiques des troussees commerciales

FABRICANT	NOM DE LA TROUSSE	HOMOLOGATION	MÉTHODE	INTERPRÉTATION DES INDICES D'AVIDITÉ		
				FAIBLE	INTERMÉDIAIRE	FORT
TROUSSES HOMOLOGUÉES PAR SANTÉ CANADA (AU 31 JUILLET 2015)						
Abbott Diagnostics (Ireland)	Architect CMV IgG avidity	Santé Canada 71693 (2009-05-01)	CMIA (<i>chemiluminescent microparticule immunoassay</i>)	< 50 % *	50,0 % – 59,9 %*	≥ 60 %*
Roche Diagnostics (Suisse)	Cobas (et Elecsys) CMV IgG Avidity	Santé Canada 88527 (2012-03-30)	ECLIA (<i>electro-chemiluminescence immunoassay</i>)	< 45 % *	45,0 % – 54,9 %*	≥ 55 %*
Euroimmun Medizinische labordiagnostika AG (Allemagne)	Avidity Anti-CMV ELISA (IgG)	Santé Canada 84902 (2011-01-18)	ELISA (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>)	< 40 %‡ < 45 %†	40 % – 60 %‡ 45 % – 55 %†	> 60 %‡ > 55 %†
AUTRES FABRICANTS, TROUSSES NON HOMOLOGUÉES PAR SANTÉ CANADA (AU 31 JUILLET 2015)						
BioMérieux (France)	VIDAS CMV IgG Avidity II	Code fabricant 413557	ELFA (<i>Enzyme-linked fluorescent assay</i>)	< 0,2‡€	0,2 – 0,8‡€	> 0,8‡€
BioMérieux (Allemagne)	VIDAS CMV IgG avidity EIA		EIA (<i>enzyme immunoassay</i>)	< 40 %§	40 % – 55 %§	> 55 %§
Bio-Rad (France)	Platelia CMV IgG avidity		ELISA	< 40 %†‡	40 % – 55 %†‡	> 55 %†‡
DiaSorin (Italie)	LIAISON CMV IgG Avidity II	Code fabricant 310765 (usage hors des É-U et du Canada)	CLIA (<i>chemiluminescent immunoassay</i>)	< 21 %† < 0,2‡€	21 % – 30 %† 0,2 – 0,3‡€	> 30 %† > 0,3‡€
DiaSorin (Italie)	CMV IgG avidity EIA		EIA	¥	¥	¥
Focus Diagnostics (Quest Diagnostics) (Californie, États-Unis)	Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity ELISA	Code fabricant 42600	ELISA			
Institut Virion-Serion (Allemagne)	2 troussees d'usage conjoint : SERION ELISA classic CMV Avidity Regeant SERION ELISA classic CMV IgG	Code fabricant B109AVID et ESR109G	ELISA			

FABRICANT	NOM DE LA TROUSSE	HOMOLOGATION	MÉTHODE	INTERPRÉTATION DES INDICES D'AVIDITÉ		
				FAIBLE	INTERMÉDIAIRE	FORT
Radim (Italie)	CMV Avidity IgG EIA		EIA	< 45 %†	45 % – 55 %†	> 55 %†
	Cytomegalovirus IgG avidity		ELISA	< 35 %‡	35 % – 45 %‡	> 45 %‡
Diesse (Royaume Unis)	Cytomegalovirus IgG avidity		ELISA	< 30 %‡	30 % – 40 %‡	> 40 %‡
Technogenetics (Italie)	BEIA CMV IgG Avidity		ELISA	< 25‡	25 – 45‡	> 45‡
Autobio Diagnostics (Chine)	Autobio CMV IgG Avidiy		ELISA	£	£	£
Behring (Allemagne)	Enzygnost-CMV IgG		<i>Indirect enzyme immunoassay</i>	¢	¢	¢
Mikrogen diagnostik (Allemagne)	RecomBlot CMV IgG Avidity		<i>Immunoblot assay</i>	¥ §	¥ §	¥ §

*Information tirée de la monographie

† Guisasola *et al.*, 2010

‡ Revello *et al.*, 2010

¥ Rajasekariah *et al.*, 2013

§ Enders *et al.*, 2013

€ Leruez-Ville *et al.*, 2013

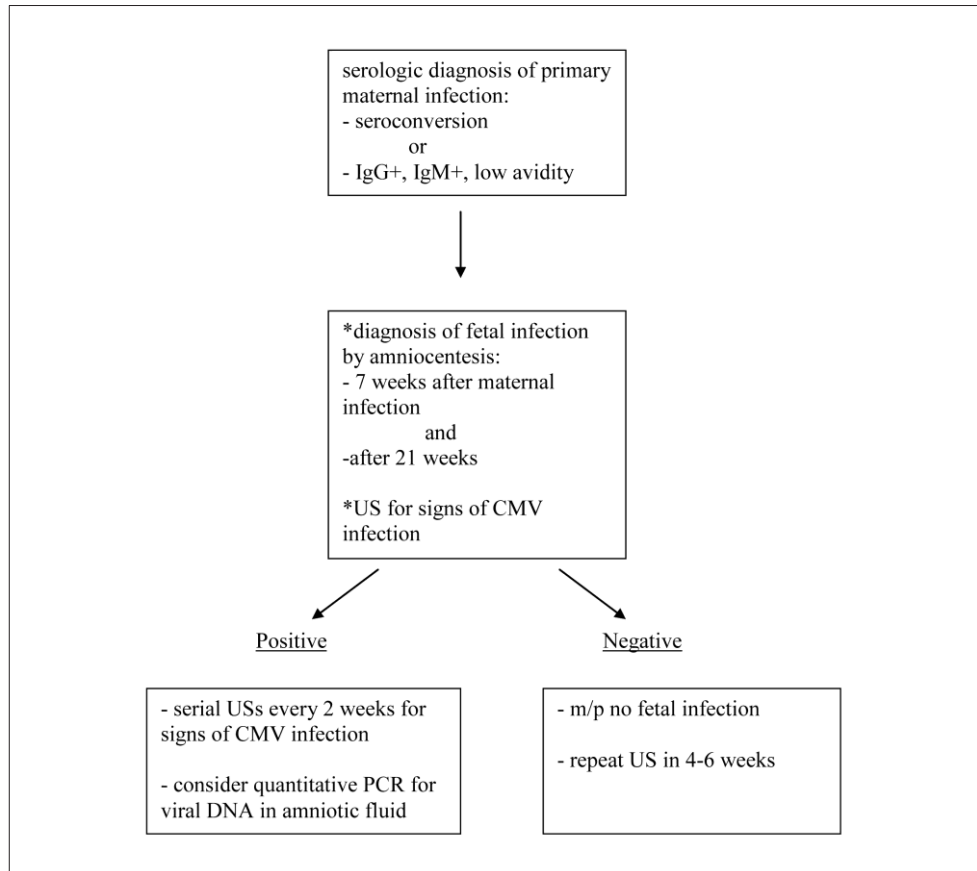
¢ Grangeot-Keros *et al.*, 1997

£ Yang *et al.*, 2004

ANNEXE B

Algorithme clinique pour le diagnostic prénatal de l'infection à CMV durant la grossesse

Algorithm for prenatal diagnosis of congenital CMV



Le schéma ci-dessus est présenté uniquement à titre indicatif. Il est tiré de Yinon *et al.*, 2010.

RECHERCHE DES MUTATIONS K27M ET G34V/R DANS LES HISTONES DES TUMEURS CÉRÉBRALES PÉDIATRIQUES COMME MARQUEURS DIAGNOSTIQUES DES ASTROCYTOMES DIFFUS DE HAUT GRADE (RÉFÉRENCES – 2014.02.004 ET 2015.02.002)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 23 décembre 2015

1.3 Date de publication de l'avis : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Recherche des mutations K27M et G34R/V dans les histones des tumeurs cérébrales pédiatriques comme marqueurs diagnostiques des astrocytomes diffus de haut grade (ADHG).

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

L'analyse consiste en une amplification des régions ciblées au moyen de la réaction en chaîne par polymérase (*polymerase chain reaction* ou PCR) suivie d'une analyse moléculaire par séquençage bidirectionnel des amplicons. Plus précisément, l'analyse est réalisée sur l'ADN tumoral extrait de tissus congelés ou préservés dans la paraffine. Deux amplifications sont réalisées afin de couvrir les régions spécifiques contenant les mutations d'intérêt, soit K27M et G34V/R du gène *H3F3A* (histone H3.3) ainsi que K27M du gène *HIST1H3B* (histone H3.1). Les amplicons sont ensuite séquencés par la méthode de Sanger. Les résultats sont qualitatifs.

Le test pourra être demandé par un anatomopathologiste-neuropathologiste dans le cadre de son analyse histopathologique d'une tumeur cérébrale pédiatrique à morphologie équivoque, lorsque le diagnostic différentiel inclut celui d'un astrocytome de haut grade (ADHG). Puisque les jeunes adultes ont des tumeurs

cérébrales dont la signature moléculaire se rapproche plutôt du type pédiatrique, ce test pourrait aussi être demandé pour ces patients. Cette analyse moléculaire est un outil diagnostique d'appoint et son résultat doit être interprété par un anatomopathologiste en complément de l'analyse morphologique et immunohistochimique et non de façon isolée.

2.3 Modalités d'administration du test

Le tissu tumoral est obtenu par l'intermédiaire du département de pathologie du centre demandeur pour ses patients internes ou par la réception des spécimens pour ceux venant d'autres CHU. L'extraction de l'ADN à partir de tissu paraffiné sera faite au laboratoire de diagnostic moléculaire, de même que l'application de la technique de séquençage. L'analyse sera effectuée au laboratoire de diagnostic moléculaire du CHU Sainte-Justine³¹. Le temps de réponse sera de deux semaines.

2.4 Société ou développeur

Analyse maison

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Ne s'applique pas.

2.6 Valeur pondérée : 165,90

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients pédiatriques et jeunes adultes (< 25 ans) atteints d'un astrocytome diffus de haut grade (ADHG) ou d'une tumeur cérébrale d'histologie similaire.

3.2 Description de la maladie visée

Au Canada, les statistiques sur l'incidence du cancer montrent que le système nerveux central (SNC) représente le deuxième site le plus touché chez les enfants et les jeunes de 0 à 19 ans, derrière les leucémies. En effet, parmi les 4 550 nouveaux cas de cancer pédiatrique prévus pour les 5 prochaines années, 860 impliqueront la présence du SNC (19 %)³².

La classification publiée en 2007 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) est reconnue comme un standard international relativement au typage et à la stadification des tumeurs gliales et autres tumeurs cérébrales [Louis *et al.*, 2007³³].

31. Lettre justificative datée du 1^{er} mai 2014 envoyée à Mme Johanne Nicole et à M. François Sanschagrin, Ph. D, de la Direction générale des services de santé et médecine universitaire (DGSSMU) du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) par le D^r Benjamin Ellezam, M.D., la D^{re} Sonia Cellot, M.D., Ph. D et la D^{re} Virginie Dormoy-Raclet, Ph. D du CHU Sainte-Justine.

32. Société canadienne du cancer. Statistiques canadiennes sur le cancer 2015. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/canadian-cancer-statistics-publication/?region=qc>.

33. Le système de gradation de l'OMS attribue aux tumeurs à évolution lente un « bas grade », soit I ou II selon leur caractère circonscrit ou non. Les tumeurs de grade I sont circonscrites et elles ont un meilleur pronostic que celles de grade II dont les limites imprécises rendent souvent difficile l'exérèse chirurgicale complète. Les tumeurs de « haut grade » sont caractérisées par une croissance rapide, soit au sein de foyers anaplasiques apparaissant dans une tumeur de bas grade (grade III) soit dans une grande partie ou dans l'ensemble de la masse tumorale (grade IV). Les signes de croissance rapide sont très importants (forte densité cellulaire, index mitotique élevé et anaplasie ou moindre différenciation cellulaire). La nécrose et la néovascularisation sont souvent observées dans les tumeurs de grade IV, mais il s'agit de signes inconstants et infidèles de la croissance rapide [adapté de l'*Atlas interactif de neuro-oncologie*, Association des neuro-oncologues d'expression française, <http://anocef.org/atlas/fr/index.html>].

Or, les tumeurs cérébrales forment un groupe très hétérogène et leur classification à l'intérieur d'identités définies par l'OMS demeure un défi. Le tableau 1 présente quelques données épidémiologiques concernant les ADHG et autres tumeurs cérébrales dont l'histologie est équivoque.

Tableau 1 Tumeurs cérébrales pédiatriques primaires avec composante gliale (0-19 ans)

HISTOLOGIE	GRADE ¹	RÉPARTITION ²	INCIDENCE ^{2,3}	SURVIE RELATIVE À 10 ANS ⁴
Astrocytome pilocytaire	I	15,5 %	0,82	96,0 %
Astrocytome diffus	II	5,2 %	0,27	80,4 %
Astrocytomes autres (dont le XAP II)	I-III	1,9 %	0,1	70 % (XAP)
Astrocytome anaplastique	III	1,6 %	0,09	26,5 %
Glioblastome (dont le DIPG)	IV	2,7 %	0,14	12,6 %
Épendymome	I-III	5,3 %	0,28	64,9 %
Gliomes malins non-classés	III-IV	11,5 %	0,61	57,0 %
Neuronale/gliale (dont le GG)	I-III	6,9 %	0,36	72,4 %
Tumeurs embryonnaires (dont la PNET)	IV	12,5 %	0,66	55,8 %

Sigles et abréviations : DIPG : gliome pontique diffus (ou *diffuse intrinsic pontine glioma*); GG : gangliogliome; PNET : tumeur neuroectodermale primitive (ou *primitive neuroectodermal tumor*); XAP : xanthoastrocytome pléomorphe.

1. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [Louis *et al.*, 2007].
2. Données tirées du rapport statistique du CBTRUS (Central Brain Tumor Registry of the United-States), 2006-2010. La répartition est rapportée sur toutes les tumeurs cérébrales pédiatriques (N = 21 512) et non uniquement les gliomes (N = 11 305 cas) [Ostrom *et al.*, 2013].
3. Taux d'incidence annuel par 100 000 personnes ajusté selon l'âge [Ostrom *et al.*, 2013].
4. La survie relative se définit comme le ratio de la survie observée d'un groupe de personnes atteintes d'un cancer et la survie prévue pour l'ensemble de la population présumée à toutes fins utiles exempte du cancer à l'étude et qui présente les mêmes caractéristiques (sexe, âge, secteur de résidence, etc.). Statistiques sur la survie 2004 [site Web], disponible à : <http://www.statcan.gc.ca/pub/84-601-x/2004001/4067481-fra.htm>.

L'astrocytome est une tumeur infiltrante du SNC qui se développe à partir des astrocytes. Les astrocytes sont des cellules gliales en forme d'étoile qui entourent, soutiennent et protègent les neurones [Greenberg, 1997]. Ces tumeurs sont classées en sous-groupes selon des paramètres histologiques et le degré de malignité sur une échelle de I à IV selon le système de gradation de l'OMS [Louis *et al.*, 2014]. Les astrocytomes de bas grade sont généralement localisés et se développent lentement alors que les astrocytomes de haut grade se développent à un rythme accéléré et infiltrent les tissus environnants [Louis *et al.*, 2014; Greenberg, 1997]. L'ADHG est un terme accepté qui inclut à la fois l'astrocytome anaplasique de grade III (AA), le glioblastome de grade IV (GBM) ainsi que le gliome pontique diffus (DIPG). Ces types tumoraux sont décrits plus en détail aux paragraphes suivants.

Astrocytome anaplasique de grade III (AA)

L'AA se différencie des astrocytomes de bas grade par une cellularité augmentée, une activité mitotique élevée, un pléomorphisme cellulaire et nucléaire et une tendance à infiltrer les tissus environnants [Pfister *et al.*, 2009; Louis *et al.*, 2007]. L'AA peut se développer à partir d'un astrocytome de bas grade. On le trouve principalement dans les hémisphères cérébraux, mais aussi dans les structures médianes profondes du cerveau, la fosse postérieure (site préférentiel de l'épendymome anaplasique) ainsi que le tronc cérébral [Pfister *et al.*, 2009]. Le pronostic est sombre avec une survie relative à 10 ans de 26,5 %. La prolifération cellulaire de l'AA est importante et il peut évoluer rapidement vers un glioblastome de grade IV. Il se différencie principalement de ce dernier par l'absence de prolifération vasculaire et de nécrose observables à l'analyse histologique [Pfister *et al.*, 2009].

Glioblastome de grade IV (GBM)

Le GBM est une tumeur cérébrale primaire maligne et agressive classée grade IV par l'OMS [Louis *et al.*, 2007]. Les GBM pédiatriques progressent rarement à partir d'un gliome de bas grade et ils surviennent fréquemment *de novo* [Sturm *et al.*, 2012]. Les critères histologiques des GBM incluent une haute activité mitotique, une prolifération microvasculaire et des zones de nécrose [Louis *et al.*, 2007]. Les GBM constituent 80 % des tumeurs pédiatriques du tronc cérébral et ils sont associés à une survie relative à 3 ans entre 5 et 10 % [Karajannis *et al.*, 2008]. L'exérèse chirurgicale complète de cette tumeur infiltrante est quasi impossible [Wilson *et al.*, 2014].

Gliome pontique diffus de grade IV (DIPG)

Le DIPG est un GBM pédiatrique très agressif du tronc cérébral, qui apparaît parfois dans la littérature comme un diagnostic histopathologique [Adamski *et al.*, 2014; Saratsis *et al.*, 2014; Frazier *et al.*, 2009]. Une hémorragie intratumorale symptomatique, généralement localisée dans les régions nécrotiques, se produit dans presque 20 % des cas pédiatriques à la suite du diagnostic de DIPG [Green et Kieran, 2015]. Les thérapies sont rarement curatives et la survie médiane sans progression est de 7 mois alors que la survie globale est de 9 à 11 mois [Wolff *et al.*, 2011; Massimino *et al.*, 2008].

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

Le demandeur prévoit 24 cas annuellement en provenance du CHU Sainte-Justine, du CHUM, du CHU de Québec et du CUSM. Une demande additionnelle de 10 cas venant de l'extérieur du Québec est à prévoir, puisque ce test n'est pas disponible ailleurs au Canada.

3.4 Spécialités médicales concernées

Anatomopathologie, neurochirurgie, neuropathologie, oncologie, pédiatrie, radio-oncologie

3.5 Brève description de la situation actuelle

Même si l'évaluation clinique du patient et les résultats d'imagerie médicale peuvent fortement suggérer la présence d'un ADHG, l'étalon or concernant le diagnostic des

tumeurs cérébrales repose principalement sur l'évaluation de l'aspect microscopique d'une biopsie tumorale [Ichimura *et al.*, 2012]. Toutefois, malgré des caractéristiques distinctives, plusieurs études ont démontré une faible reproductibilité des méthodes et une grande variation selon les observateurs relativement à la classification des tumeurs cérébrales. À titre d'exemple, la distinction entre un astrocytome pilocytique ou un xanthoastrocytome pléomorphe et un ADHG peut occasionnellement représenter un défi important pour le pathologiste étant donné que le pronostic et l'approche thérapeutique associés à ces tumeurs sont différents [Appin et Brat, 2014].

Des tests complémentaires tels que l'immunohistochimie et les analyses en génétique moléculaire aident à préciser le diagnostic et, dans certains cas, contribuent à une meilleure estimation du pronostic et de la valeur prédictive de réponse aux traitements. Les techniques habituellement utilisées pour mettre en évidence des délétions ou amplifications géniques sont l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), la perte d'hétérozygotie et l'hybridation génomique comparative (CGH). Les mutations présentes dans certains gènes utilisés comme marqueurs moléculaires sont, pour leur part, mises en évidence par diverses techniques de séquençage.

Selon le demandeur, au cours des dernières années, l'utilisation de marqueurs moléculaires pour établir le diagnostic anatomopathologique est devenue un standard de pratique en neuropathologie. Actuellement, il n'existe aucune analyse permettant de déterminer le statut des mutations K27M et G34R/V dans les tumeurs cérébrales.

3.6 Données médico-administratives

Ne s'applique pas

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, les mutations K27M et G34R/V sont des marqueurs d'une grande spécificité et dont la sensibilité est suffisamment élevée dans la population pédiatrique pour justifier leur utilisation en neuropathologie diagnostique, particulièrement en raison du faible coût de la technologie utilisée. Toujours selon le demandeur, il est nécessaire de rechercher ces trois mutations conjointement, puisqu'elles sont mutuellement exclusives dans un ADHG donné. De plus, l'utilisation de plusieurs amorces dans une même réaction PCR est plus économique et rapide que la recherche de chacune de ces mutations individuellement ou en série.

Cette analyse sera utilisée comme outil diagnostique d'appoint sur des biopsies de tumeurs cérébrales pédiatriques de bas et de haut grade dont les résultats histopathologiques sont équivoques. Selon le demandeur, cette situation n'est pas rare, particulièrement chez les patients pédiatriques. En effet, même de l'avis des experts du Children's Oncology Group, jusqu'à 20 % des tumeurs cérébrales sont difficilement classifiables dans une entité définie par l'OMS (Peter Burger, USCAP 2012 *Annual Meeting*³⁴). Le demandeur vise plus particulièrement à différencier les ADHG pédiatriques de cinq autres entités tumorales, soit le gliome de grade I

34. Information tirée de la lettre justificative datée du 8 avril 2015 envoyée au D^r Yves Jalbert de la Direction de la biovigilance et de la biologie médicale du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) par le D^r Benjamin Ellezam, M.D. Ph. D., FRCPC.

(GG), l'astrocytome pilocytaire de grade I (APC), le xanthoastrocytome pléomorphe de grade II (XAP), l'épendymome anaplasique de grade III (EA) ainsi que la tumeur neuroectodermique primitive de grade IV (PNET). Il est important de départager les ADHG des diagnostics différentiels précédemment énumérés, puisque leur pronostic et leur traitement sont différents [Adamski *et al.*, 2014; Louis *et al.*, 2007].

3.8 Assurance qualité

Le laboratoire est certifié par le Collège canadien de généticiens médicaux (Canadian College of Medical Genetic ou CCMG) et par Agrément Canada - ISO 15189. Il n'existe pas de contrôle de la qualité spécifique pour cette analyse, mais le laboratoire se soumet aux épreuves de séquençage Sanger du College of American Pathologists (CAP). Des témoins positifs et négatifs dont le génotype est connu sont inclus dans l'analyse. Le séquençage sera effectué de façon bidirectionnelle.

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucune procédure inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Indépendamment de la méthode employée pour déterminer le statut de la mutation K27M du gène *HIST1H3B* ainsi que des mutations K27M et G34V/R du gène *H3F3A*, plusieurs études de cohorte rétrospectives visant à évaluer leur fréquence parmi différents types de tumeurs cérébrales ont été recensées. Le tableau 2 présente un résumé des études qui ont évalué la valeur diagnostique de ces marqueurs.

Sensibilité et spécificité des marqueurs des mutations K27M et G34R/V dans les ADHG pédiatriques

Dans la première étude, le criblage d'une cohorte de 784 patients de tous âges, soit 159 cas pédiatriques et 625 adultes atteints de tumeurs cérébrales d'histologie et de grade différents, a démontré la présence des mutations K27M et G34R/V du gène *H3F3A* dans 34 % des ADHG pédiatriques. Ces mutations étaient absentes des autres types de tumeurs cérébrales pédiatriques et elles ont été trouvées dans seulement 3 % des ADHG chez l'adulte [Schwartzentruber *et al.*, 2012].

Dans la seconde étude, Wu et ses collègues [2012] ont effectué l'analyse Sanger de 95 ADHG pédiatriques ainsi que le séquençage de l'exome entier de 245 autres types de tumeurs cérébrales pédiatriques. Ils ont démontré que les trois mutations sont des marqueurs diagnostiques exclusifs aux ADHG. Plus précisément, 11 % des ADHG étaient de statut K27M-H3.1, 40 % de statut K27M-H3.3 et 5 % de statut G34R/V contre 0 % pour les autres types de tumeurs [Wu *et al.*, 2012].

La mutation K27M-H3.3 a également été trouvée dans 71 % des ADHG pédiatriques (correspondant au diagnostic histopathologique du DIPG) [Khuong-Quang *et al.*, 2012].

Tableau 2 Valeur diagnostique des mutations K27M ou G34R/V des histones H3.1 et H3.3

ÉTUDE, ANNÉE	COHORTE, N ÂGE AU DIAGNOSTIC	HISTOLOGIE (N)	MÉTHODE	H3.1 N(%) HIST1H3B	H3.3 N(%) H3F3A		VALEUR DIAGNOSTIQUE
				K27M	K27M	G34R/V	
Schwartzentruber <i>et al.</i> , 2012	N = 48 2 à 20 ans	ADHG	WES et Sanger	S.O.	9/48 (19)	6/48 (13)	H3.3 muté, ADHG pédiatriques vs autres : 34 % vs 0 % H3.3 muté, ADHG pédiatrique vs adulte : 34 % vs 3 % H3.3 muté, GBM pédiatrique vs adulte : 36 % vs 3 % (p < 0.0001)
	N = 159 pédiatriques	ADHG (101) Autres (58)	Sanger	S.O.	34/101 (34) 0 (0)		
	N = 625 adultes	ADHG (426) Autres (199)		S.O.	11/426 (3) 0 (0)		
Wu <i>et al.</i> , 2012	N = 95 pédiatriques 0 à 22 ans	ADHG (95)	Sanger	10/95 (11)	38/95 (40)	5/95 (5)	K27M, ADHG vs autres : 56 % vs 0 %
	N = 252 pédiatriques	Autres (245)	WGS	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Khuong-Quang <i>et al.</i> , 2012	N = 42 7 ans [0-17]	ADHG (DIPG)	Sanger	0 (0)	30/42 (71)	0 (0)	K27M-H3.3, ADHG (DIPG) : 71 %
Gessi <i>et al.</i> , 2013	N = 123 11 ans [3 - 18]	ADHG	PSQ	S.O.	33/123 (27)	6/123 (5)	K27M-H3.3, ADHG vs PNET : 26 % vs 0 % G34R/V, ADHG vs PNET : 5 % vs 12 %
	N = 33 10 ans [1 - 17]	PNET		S.O.	0 (0)	4/33 (12)	
Venneti <i>et al.</i> , 2013	N = 76 Âge moyen de 110 à 156 mois (selon les sous-classes)	ADHG (20) Autres (56)	IHC	6/20 (30) 0 (0)		S.O. S.O.	Marquage faible ou absent en IHC (anti- H3K27me3), ADHG vs autres : 30 % vs 0 %
		ADHG (20)	Sanger	S.O.	6/20 (30)	0 (0)	
Gielen <i>et al.</i> , 2013	N = 321 9,5 ans [0-18]	ADHG (157) Autres (164)	PSQ	S.O. S.O.	40/157 (25) 0 (0)	7/157 (4) 1/164 (0.6)	K27M-H3.3, ADHG : Se = 25,5 % et Sp = 100 % G34R/V, ADHG vs autres : 4 % vs 0,6 %
Saratsis <i>et al.</i> , 2014	N = 31 8 ans [0,5-25]	ADHG (22) Autres (9)	Sanger	3/7 (43) 0 (0)	10/17 (59) 0 (0)	S.O. S.O.	K27M, ADHG (DIPG) vs autres : 77 % vs 0 %
Korshunov <i>et al.</i> , 2015	N = 202 12 ans [1-18]	ADHG	Sanger	69/202 (34)		24/202 (12)	K27M ou G34R/V, ADHG : 46 %

Sigles et abréviations : ADHG : astrocytome diffus de haut grade [ce terme inclut l'astrocytome anaplasique (AA), le glioblastome (GBM) et le gliome pontique diffus (*diffuse intrinsic pontine glioma* ou DIPG)]; IHC : immunohistochimie; N : nombre; PNET : tumeur neuroectodermale primitive (*primitive neuroectodermal tumor*); PSQ : pyroséquençage; Se : sensibilité; S.O. : sans objet; Sp : spécificité; WES : séquençage de l'exome entier (*whole exome sequencing*); WGS : séquençage du génome entier (*whole genome sequencing*).

Pour leur part, Venneti et ses collègues [2013] ont vérifié le profil immunohistochimique de 76 tumeurs pédiatriques, dont 20 ADHG, et celui de 56 tumeurs d'autres types à l'aide d'un anti-H3K27me3. Un marquage faible, voire absent, a été observé chez 30 % des ADHG pédiatriques étudiés contre 0 % pour les autres types de tumeurs. Les résultats de séquençage des ADHG ont permis de confirmer la présence de la mutation K27M dans les tumeurs produisant un marquage faible ou absent [Venneti *et al.*, 2013].

Gielen et ses collègues [2013] ont analysé une série de 321 tumeurs cérébrales pédiatriques, dont 157 ADHG et 164 tumeurs d'autres types. Ils ont démontré que 25,5 % des ADHG pédiatriques possédaient la mutation K27M-H3.3 alors qu'elle était absente des autres tumeurs. Les auteurs concluent que la mutation K27M-H3.1 est un marqueur diagnostique spécifique des ADHG avec une sensibilité de 25,5 % et une spécificité de 100 %. La mutation G34R/V a été trouvée dans 4 % des ADHG contre 0,6 % pour les tumeurs d'autres types [Gielen *et al.*, 2013].

Les résultats de Saratsis et ses collègues [2014] vont dans le même sens avec 43 % des ADHG pédiatriques positifs pour la mutation K27M-H3.1 et 59 % pour K27M-H3.3, contre 0 % pour les autres types de tumeurs cérébrales pédiatriques analysées.

Plus récemment, Kurshunov et ses collègues [2015] ont trouvé les mutations K27M et G34R/V dans 34 % et 12 % des ADHG pédiatriques analysés, respectivement.

Sensibilité et spécificité du marqueur G34R/V dans les tumeurs neuroectodermiques primitives (PNET) du SNC

Dans l'étude effectuée par Gessi et ses collègues [2013], le criblage de 123 GBM et de 33 PNET, classés selon leurs caractéristiques morphologiques, a permis de démontrer la présence de la mutation G34R/V dans 12 % des PNET et 5 % des GBM analysés. Selon les auteurs, les tumeurs comportant la mutation G34R/V constitueraient un groupe histopathologique hétérogène présentant des caractéristiques microscopiques typiques à la fois des GBM et des PNET. Pour cette raison, et considérant sa faible représentation dans les tumeurs cérébrales en comparaison avec la mutation K27M, les auteurs concluent que la mutation G34R/V ne constituerait pas un marqueur moléculaire approprié pour le diagnostic neuropathologique [Gessi *et al.*, 2013]. Plus récemment, une étude menée par Korshunov et ses collègues [2016], ayant pour objectif d'effectuer une analyse histopathologique et moléculaire intégrée de 81 tumeurs primaires du SNC de statut G34R/V, soit 59 tumeurs ayant l'apparence d'un GBM et 22 autres correspondant à la description morphologique de la PNET, a démontré que ces dernières constituent une entité distincte de tumeurs malignes du SNC.

Les tumeurs ont été investiguées pour rechercher des altérations génomiques et épigénétiques. Les résultats démontrent, entre autres, que, malgré leur apparence histopathologique divergente, les GBM et les PNET du SNC comportant la mutation G34R/V possèdent une signature épigénétique uniforme, suggérant une origine biologique commune. En effet, aucune différence significative dans le profil de méthylation de l'ADN, considéré comme un outil pour la classification moléculaire des entités tumorales distinctes, n'a été trouvée. Ces résultats, couplés à d'autres données moléculaires, ont permis aux auteurs d'affirmer que les tumeurs de statut G34R/V sont en fait des gliomes de haut grade et ils recommandent la recherche de

la mutation G34R/V comme marqueur diagnostique de routine pour l'identification des tumeurs supratentorielles du SNC [Korshunov *et al.*, 2016].

L'analyse intégrée des données présentées au tableau 2 permet de mettre en évidence que la mutation K27M-H3.3 serait présente dans 19 à 71 % des ADHG pédiatriques, suivie par K27M-H3.1 avec 0 à 43 % et G34R/V qui se trouverait dans 0 à 13 % des ADHG pédiatriques. Comme ces trois marqueurs sont mutuellement exclusifs dans une tumeur donnée, l'une ou l'autre de ces mutations serait présente dans 30 à 77 % des ADHG pédiatriques (sensibilité). De plus, la mutation G34R/V se trouverait dans $\leq 0,6$ % des autres types de tumeurs cérébrales pédiatriques alors que les mutations K27M-H3.3 et K27M-H3.1 en seraient complètement absentes. Les mutations du gène *H3F3A* (K27M et G34R/V de l'histone H3.3) seraient présentes dans ≤ 3 % des ADHG chez l'adulte. Ces dernières observations permettent d'estimer que ces trois marqueurs confondus ont une sensibilité de 30 à 77 % et une spécificité de près de 97 % pour les ADHG pédiatriques.

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude relative à la valeur pronostique des marqueurs K27M et G34R/V n'a été retenue, puisque l'objectif de la présente analyse n'est pas de générer une information permettant de prédire l'issue de la maladie ou sa réponse à un traitement.

4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue, puisque l'objectif de la présente analyse n'est pas de générer une information permettant de choisir ou de modifier un traitement.

4.4 Validité analytique

La revue de littérature n'a pas permis de repérer d'études traitant de la validité analytique concernant spécifiquement la détection des mutations K27M et G34R/V dans un contexte clinique tel que décrit dans le présent avis.

4.5 Données fournies par le demandeur

Le laboratoire demandeur a choisi des amorces spécifiques pour les deux gènes où les régions entourant les mutations recherchées devaient être amplifiées. Ils ont extrait l'ADN de tumeurs fixées en bloc de paraffine et réalisé la PCR. Chaque produit d'amplification a ensuite été séquencé. Ils ont d'abord testé leur technique sur des échantillons normaux et, lorsque celle-ci a été au point, la validation a été réalisée sur trois échantillons présentant une mutation mise en évidence dans un laboratoire de recherche du Montreal Children's Hospital. Le processus de développement a suivi celui recommandé par des organisations professionnelles internationales comme le Canadian College of Medical Geneticists (CCMG). Des exemples de séquences anonymisées comportant les mutations K27M et G34R/V dans les gènes *H3F3A* et *HIST1HB3* sont fournis à l'annexe A.

Dans le cadre de son processus de validation, réalisé en 2014, le demandeur a effectué la recherche des mutations K27M et G34R/V sur 23 tumeurs, y inclus plusieurs cas pour lesquels le diagnostic d'astrocytome diffus de haut grade demeurait équivoque à la suite de l'analyse morphologique et immunohistochimique. À titre d'exemple, voici le descriptif de cinq cas pour lesquels

la détermination du statut des mutations K27M et G34R/V a été utilisée comme outil diagnostique d'appoint pour l'identification de tumeurs cérébrales d'histologie similaire :

- Dans un cas de tumeur hémisphérique chez un garçon de 12 ans pour lequel le diagnostic différentiel morphologique était celui d'un PNET, la présence d'une mutation G34R dans *H3F3A* a permis de confirmer le diagnostic de glioblastome;
- Dans deux cas de tumeur cérébrale pédiatrique (4 et 13 ans) où le diagnostic pouvait à la fois évoquer un glioblastome et un épépendymome anaplasique, l'absence de mutation des histones n'a pas permis de trancher sur une base moléculaire;
- Dans un cas de tumeur diencephalique chez une jeune de 23 ans (chez qui le taux attendu de mutation K27M était relativement élevé), l'absence de mutation de K27M ajoutée à l'absence d'autres mutations caractéristiques de l'astrocytome (*ATRX* et *IDH1*) a apporté un soutien au diagnostic de PNET;
- Dans un cas de tumeur thalamique chez un jeune de 21 ans pour qui le diagnostic différentiel morphologique était celui d'un astrocytome pilocytaire, la présence d'une mutation K27M dans *H3F3A* a permis de confirmer le diagnostic de glioblastome.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

N'ont pas été évalués

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Cancers rares, nécessité de concentrer l'expertise

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

Selon l'International Society of Neuropathology (ISN), un diagnostic intégré comprenant à la fois des données histologiques et moléculaires est désormais nécessaire afin d'assurer une définition étroite et hautement uniforme des groupes tumoraux du SNC [Louis *et al.*, 2014]. Cette classification est critique, voire nécessaire à l'établissement d'un diagnostic, d'un pronostic ou d'un traitement adapté à l'entité tumorale. Plus précisément, il est reconnu et accepté par les neuropathologistes et autres experts du domaine que certains types de tumeurs pédiatriques possèdent une empreinte moléculaire différente de celle observée chez l'adulte. La mutation K27M de l'histone H3.3, entre autres, est mentionnée comme marqueur diagnostique spécifique des ADHG pédiatriques [Louis *et al.*, 2014].

Le College of American Pathologists (CAP) recommande l'intégration des données moléculaires dans le diagnostic clinique de divers types de tumeurs solides. À titre d'exemple, pour les néoplasies du SNC, les mutations d'*IDH1* et d'*IDH2* sont recommandées pour la distinction des gliomes des glioses réactives. L'analyse du

gène *BRAF* est recommandée dans le diagnostic des astrocytomes pilocytiques et des xanthoastrocytomes pléomorphiques³⁵.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

8.1 Contexte

Les tumeurs cérébrales pédiatriques forment un groupe hétérogène et leur classification à l'intérieur d'entités définies par l'OMS demeure un défi. Le laboratoire requérant propose d'utiliser les mutations K27M et G34V/R du gène *H3F3A* ainsi que K27M du gène *HIST1H3B* comme outil diagnostique d'appoint afin de départager les ADHG pédiatriques de cinq autres diagnostics différentiels, soit le gangliome de grade I (GG), l'astrocytome pilocytaire de grade I (APC), le xanthoastrocytome pléomorphe de grade II (XAP), l'épendymome anaplasique de grade III (EA) ainsi que la tumeur neuroectodermique primitive de grade IV (PNET).

8.2 Valeur diagnostique

Les études répertoriées montrent que les mutations K27M et G34R/V des gènes *HIST1H3B* et *H3F3A* sont des marqueurs spécifiques des ADHG pédiatriques. La mutation K27M-H3.3 serait présente dans 19 à 71 % des ADHG pédiatriques, K27M-H3.1 dans 0 à 43 % et G34R/V dans 0 à 13 % de ces tumeurs. Ces trois mutations sont mutuellement exclusives dans une tumeur donnée. Analysées ensemble, elles seraient présentes dans 30 à 77 % des ADHG pédiatriques. De plus, la mutation G34R/V se trouverait dans ≤ 0,6 % des autres types de tumeurs cérébrales pédiatriques alors que les mutations K27M-H3.3 et K27M-H3.1 en seraient complètement absentes. Les mutations du gène *H3F3A* (K27M et G34R/V de l'histone H3.3) seraient présentes dans ≤ 3 % des ADHG chez l'adulte. Ces dernières observations permettent d'estimer que ces trois marqueurs confondus ont une sensibilité de 30 à 77 % et une spécificité de près de 97 % pour les ADHG pédiatriques.

L'analyse intégrée des caractères histopathologiques et moléculaires des tumeurs de statut G34R/V démontre qu'elles constituent un type de gliome de haut grade distinct qui inclurait des tumeurs présentant des caractéristiques microscopiques typiques à la fois des GBM et des PNET.

8.3 Validité analytique

La validation de l'analyse a été effectuée à l'aide de 23 échantillons dont 3 présentaient une mutation connue. Le processus de développement a suivi celui recommandé par des organisations professionnelles internationales comme le Canadian College of Medical Geneticists (CCMG). Le laboratoire se soumet aux épreuves de séquençage Sanger du College of American Pathologists (CAP). Des témoins positifs et négatifs dont le génotype est connu sont inclus dans l'analyse. Le séquençage est effectué de façon bidirectionnelle.

35. Information tirée du site officiel du College of American Pathologists (CAP). *Clinical solid tumor molecular oncology: Selected tests by tumor type*, disponible à : <http://www.cap.org/web/home/resources/genomics-molecular-medicine-education-resources/genomics-molecular-medicine-tools-resources>.

8.4 Position ou orientations d'autres organismes

L'International Society of Neuropathology (ISN) reconnaît la mutation K27M comme marqueur diagnostique spécifique des ADHG pédiatriques.

Le College of American Pathologists recommande l'intégration des données moléculaires dans le diagnostic clinique de divers types de tumeurs solides comprenant les néoplasies du SNC.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Recherche des mutations K27M et G34R/V dans les histones des tumeurs cérébrales pédiatriques comme marqueurs diagnostiques des astrocytomes diffus de haut grade

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ La rareté de la maladie explique le faible nombre d'échantillons disponibles pour effectuer une validation.
- ✓ Toutefois, si l'analyse n'est pas disponible, cela pourrait entraîner des répercussions négatives pour les patients atteints d'un astrocytome diffus de haut grade ou d'une tumeur cérébrale d'histologie similaire.

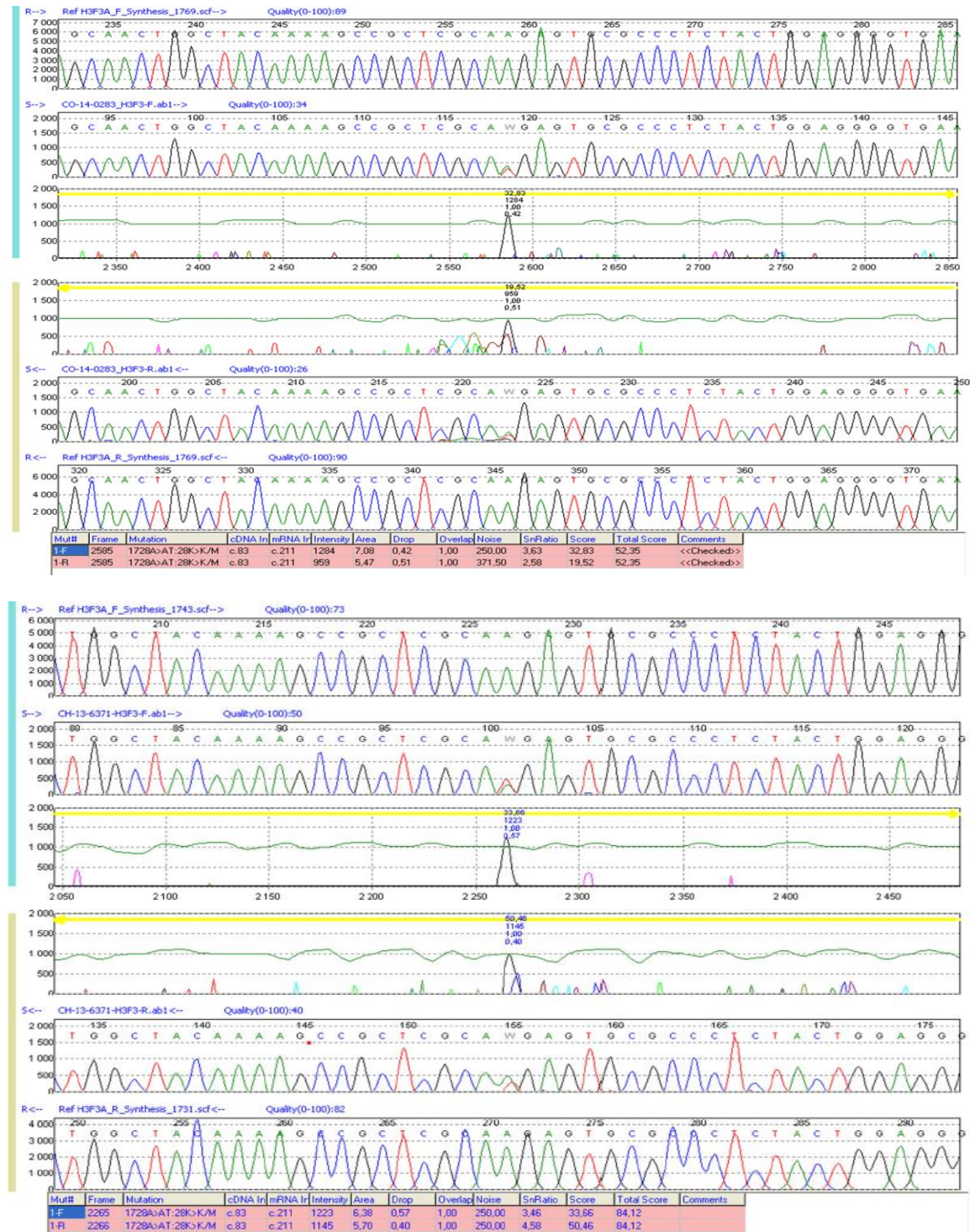
RÉFÉRENCES

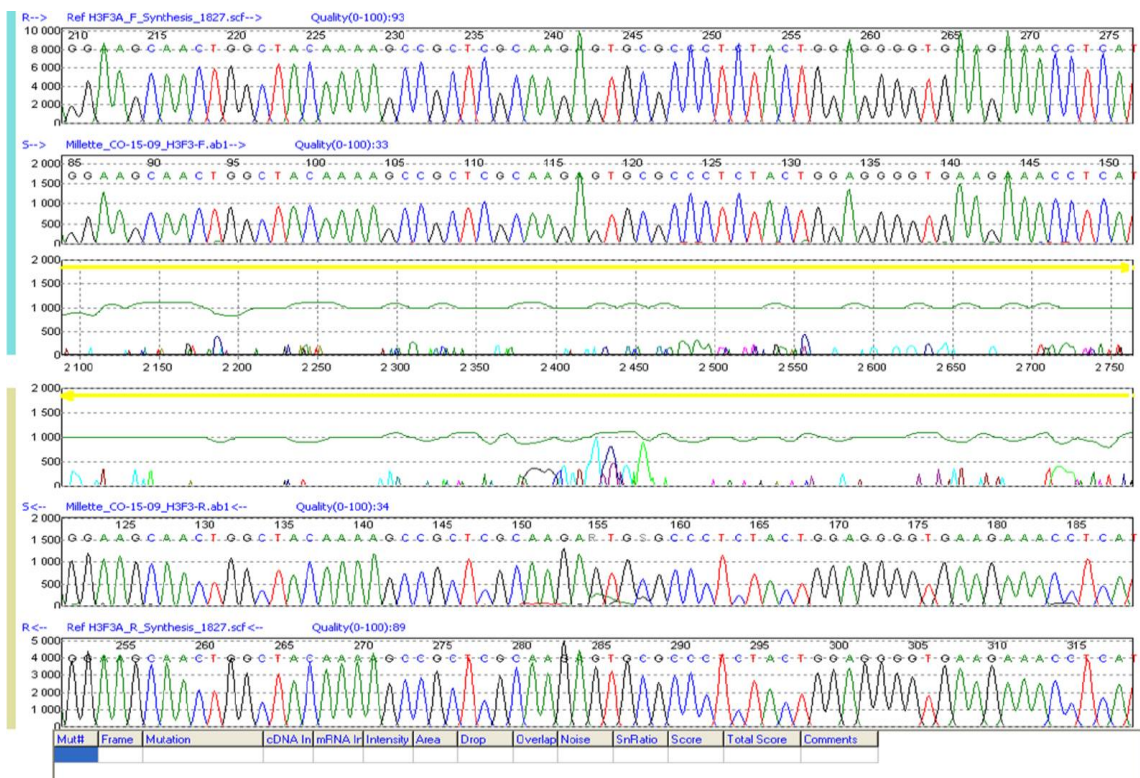
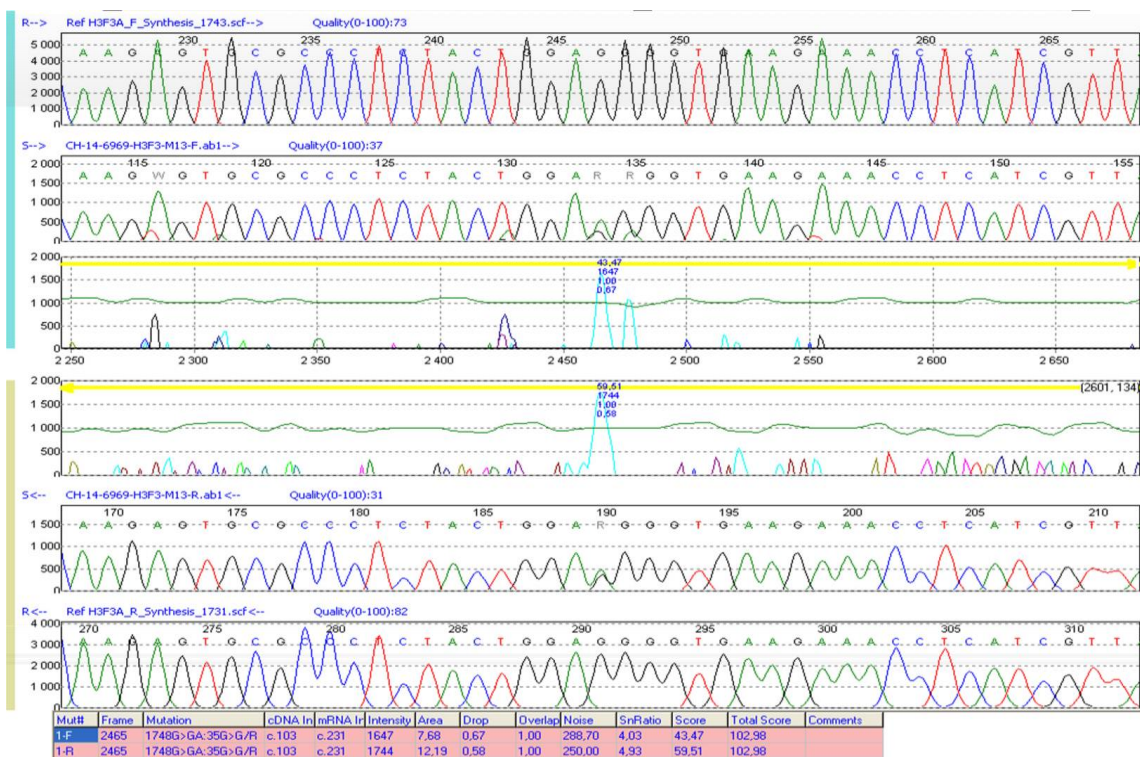
- Adamski J, Tabori U, Bouffet E. Advances in the management of paediatric high-grade glioma. *Curr Oncol Rep* 2014;16(12):414.
- Appin CL et Brat DJ. Molecular genetics of gliomas. *Cancer J* 2014;20(1):66-72.
- Frazier JL, Lee J, Thomale UW, Noggle JC, Cohen KJ, Jallo GI. Treatment of diffuse intrinsic brainstem gliomas: Failed approaches and future strategies. *J Neurosurg Pediatr* 2009;3(4):259-69.
- Gessi M, Gielen GH, Hammes J, Dorner E, Muhlen AZ, Waha A, Pietsch T. H3.3 G34R mutations in pediatric primitive neuroectodermal tumors of central nervous system (CNS-PNET) and pediatric glioblastomas: possible diagnostic and therapeutic implications? *J Neurooncol* 2013;112(1):67-72.
- Gielen GH, Gessi M, Hammes J, Kramm CM, Waha A, Pietsch T. H3F3A K27M mutation in pediatric CNS tumors: A marker for diffuse high-grade astrocytomas. *Am J Clin Pathol* 2013;139(3):345-9.
- Green AL et Kieran MW. Pediatric brainstem gliomas: New understanding leads to potential new treatments for two very different tumors. *Curr Oncol Rep* 2015;17(3):436.
- Greenberg MS. Astrocytoma. Dans : *Handbook of neurosurgery: Volume One*. 4^e éd. Lakeland, FL : Greenberg Graphics Inc.; 1997 : 244-56.
- Ichimura K, Nishikawa R, Matsutani M. Molecular markers in pediatric neuro-oncology. *Neuro Oncol* 2012;14(Suppl 4):iv90-9.
- Karajannis M, Allen JC, Newcomb EW. Treatment of pediatric brain tumors. *J Cell Physiol* 2008;217(3):584-9.
- Khuong-Quang DA, Buczkowicz P, Rakopoulos P, Liu XY, Fontebasso AM, Bouffet E, et al. K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas. *Acta Neuropathol* 2012;124(3):439-47.
- Korshunov A, Capper D, Reuss D, Schrimpf D, Ryzhova M, Hovestadt V, et al. Histologically distinct neuroepithelial tumors with histone 3 G34 mutation are molecularly similar and comprise a single nosologic entity. *Acta Neuropathol* 2016;131(1):137-46.
- Korshunov A, Ryzhova M, Hovestadt V, Bender S, Sturm D, Capper D, et al. Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers. *Acta Neuropathol* 2015;129(5):669-78.

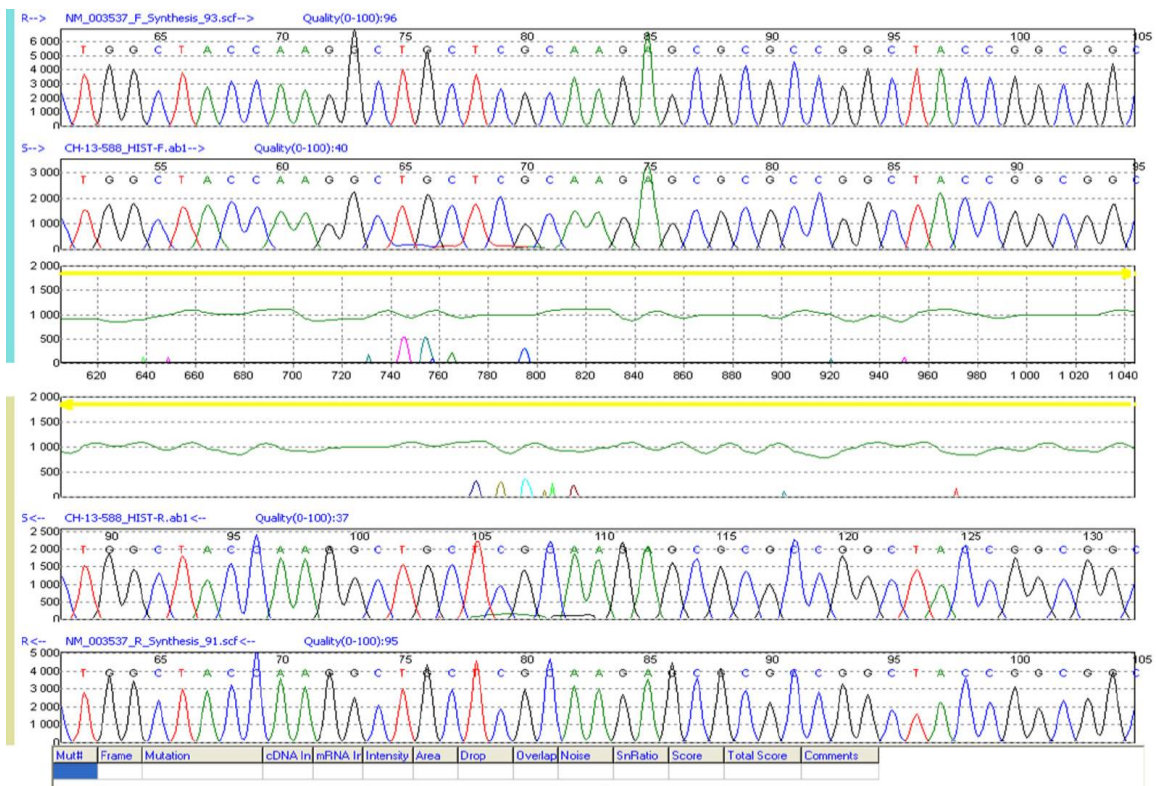
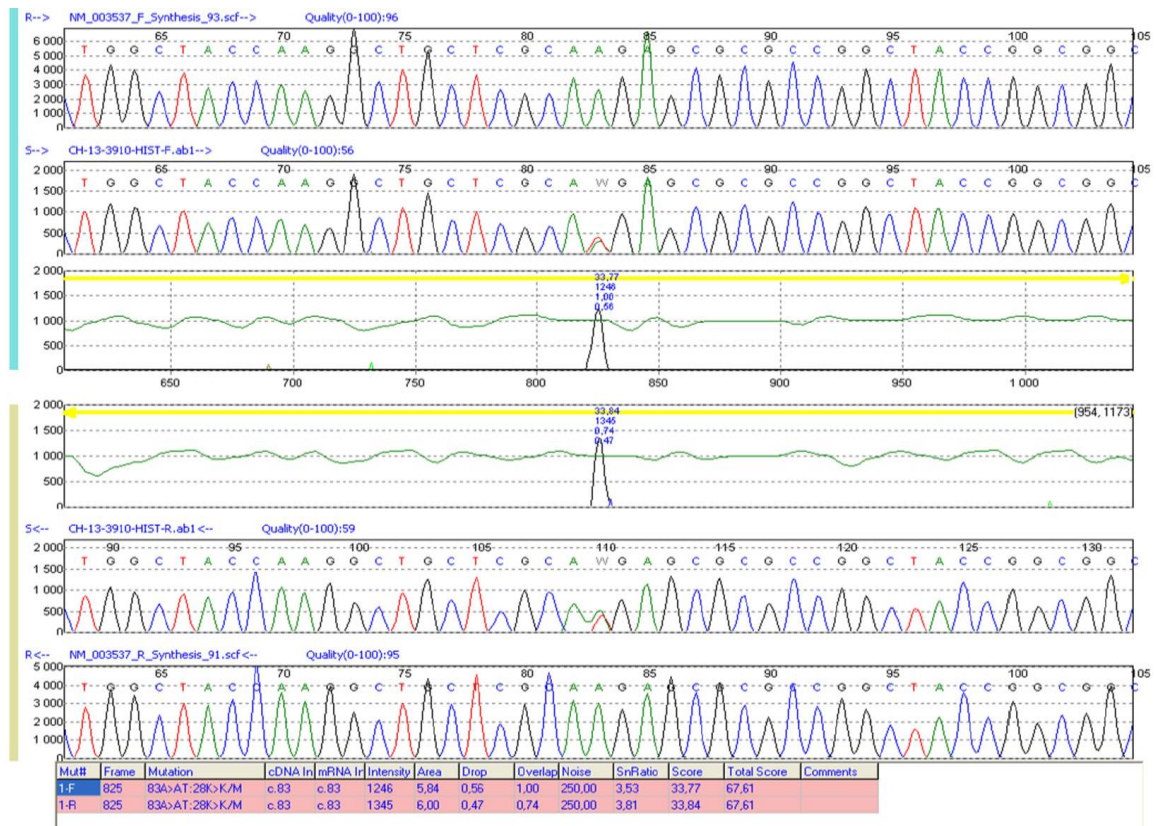
- Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, et al. International Society of Neuropathology—Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol* 2014;24(5):429-35.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114(2):97-109.
- Massimino M, Spreafico F, Biassoni V, Simonetti F, Riva D, Trecate G, et al. Diffuse pontine gliomas in children: Changing strategies, changing results? A mono-institutional 20-year experience. *J Neurooncol* 2008;87(3):355-61.
- Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, Ondracek A, Chen Y, Wolinsky Y, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neuro Oncol* 2013;15(Suppl 2):ii1-56.
- Pfister S, Hartmann C, Korshunov A. Histology and molecular pathology of pediatric brain tumors. *J Child Neurol* 2009;24(11):1375-86.
- Saratsis AM, Kambhampati M, Snyder K, Yadavilli S, Devaney JM, Harmon B, et al. Comparative multidimensional molecular analyses of pediatric diffuse intrinsic pontine glioma reveals distinct molecular subtypes. *Acta Neuropathol* 2014;127(6):881-95.
- Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DT, Pfaff E, Jacob K, et al. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature* 2012;482(7384):226-31.
- Sturm D, Witt H, Hovestadt V, Khuong-Quang DA, Jones DT, Konermann C, et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell* 2012;22(4):425-37.
- Venneti S, Garimella MT, Sullivan LM, Martinez D, Huse JT, Heguy A, et al. Evaluation of histone 3 lysine 27 trimethylation (H3K27me3) and enhancer of Zest 2 (EZH2) in pediatric glial and glioneuronal tumors shows decreased H3K27me3 in H3F3A K27M mutant glioblastomas. *Brain Pathol* 2013;23(5):558-64.
- Wilson TA, Karajannis MA, Harter DH. Glioblastoma multiforme: State of the art and future therapeutics. *Surg Neurol Int* 2014;5:64.
- Wolff JE, Rytting M, Vats T, Ater J, Mahajan A, Woo S, et al. Induction treatment for diffuse intrinsic pontine glioma, experience of M.D. Anderson Cancer Center. *Anticancer Res* 2011;31(6):2265-9.
- Wu G, Broniscer A, McEachron TA, Lu C, Paugh BS, Becksfort J, et al. Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet* 2012;44(3):251-3.

ANNEXE A

Séquences anonymisées des amplicons des gènes *H3F3A* (histone H3.3) et *HIST1H3B* (histone H3.1) contenant les mutations K27M et G34R/V







PANEL DE HUIT GÈNES - ANALYSE DE MUTATIONS SOMATIQUES PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION POUR LE TRAITEMENT PERSONNALISÉ DU CANCER (RÉFÉRENCE – 2015.02.03)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** Hôpital général juif de Montréal
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 23 décembre 2015
- 1.3 Date de publication de l'avis :** 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le Dr David Rosenblatt n'a pas participé aux délibérations et il s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Panel de 8 gènes – Analyse de mutations somatiques par séquençage de nouvelle génération pour le traitement personnalisé du cancer.

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) fait référence aux différentes plateformes de séquençage qui permettent d'obtenir la séquence de plusieurs gènes simultanément. Cette technologie est caractérisée par un rendement de lecture très élevé comparativement à la méthode de séquençage traditionnelle Sanger. Plusieurs plateformes SNG utilisant des technologies et des chimies différentes sont disponibles sur le marché.

Concernant la présente demande, la plateforme MiSeq^{MC} d'Illumina sera utilisée pour repérer des mutations somatiques observées dans les séquences codantes et adjacentes aux sites d'épissage de huit gènes présents dans divers cancers. Il s'agit d'un panel maison qui inclut les gènes *AKT1*, *BRAF*, *EGFR*, *KIT*, *KRAS*, *NRAS*, *PDGFR* et *PIK3CA*. Selon les spécifications du demandeur, la présence de ceux-ci est observée dans les cancers suivants : cancer colorectal métastatique (*KRAS*, *NRAS* et *BRAF*), cancer du poumon (*EGFR*), mélanome (*BRAF* et *NRAS*), tumeurs stromales gastro-

intestinales (*KIT* et *PDGFRA*), cancer de l'endomètre et des ovaires (*AKT1* et *PIK3CA*) et cancer de la thyroïde (*BRAF* et *NRAS*).

Essentiellement, le SNG est réalisé en trois étapes principales : 1- la préparation de l'ADN génomique et de la librairie (ADN fragmenté), 2- le séquençage et 3- l'analyse des variants. Lorsqu'une approche par panel de gènes est utilisée, un enrichissement des régions concernées est nécessaire avant de procéder au séquençage proprement dit.

Brièvement, à la suite de la fragmentation de l'ADN et de l'ajout d'oligonucléotides adaptateurs qui permettent le séquençage, un enrichissement des régions concernées est effectué par capture d'hybrides avec la trousse SeqCap Ez^{MC} de Nimblegen. Les oligonucléotides contenus dans la trousse sont choisis et synthétisés selon les spécifications du demandeur. Les fragments d'ADN sont ensuite séquencés selon un principe de base similaire à celui de l'approche de Sanger, c'est-à-dire que la séquence des nucléotides est observée au cours de la synthèse cyclique d'un brin complémentaire à la matrice en utilisant des nucléotides fluorescents. Cette réaction emploie en effet des nucléotides fluorescents pour permettre leur repérage et elle est effectuée sur la plateforme MiSeq d'Illumina. Contrairement au séquençage classique, le SNG réalise et déchiffre des millions de réactions simultanément. Finalement, les séquences obtenues sont assemblées et alignées sur une séquence servant de référence. Les variations sont observées et annotées de façon automatisée et manuelle.

L'analyse bioinformatique automatisée est faite à l'aide de logiciels basés sur les programmes NextGene et Geneticist Assistant de Soft Genetics ainsi que Variant Studio d'Illumina. Tous les variants reconnus sont ensuite confirmés par les méthodes couramment utilisées dans le laboratoire du demandeur. La plateforme MiSeq permet la lecture de plus de 95 % des séquences avec une qualité minimale acceptée lors du séquençage de Q30³⁶. Le seuil minimal pour la profondeur de lecture est de 400X. La signification clinique des variants est évaluée à l'aide des bases de données suivantes : Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC), The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP), cBioPortal for Cancer Genomics, Integrative Onco Genomics et The Cancer Genome Atlas (TCGA). Les variants sont rapportés à l'aide d'un système maison basé sur le niveau de preuve du biomarqueur en accord avec les lignes directrices de la Human Genome Variation Society (HGVS) et ils incluent la fréquence allélique (VAF) et la pathogénicité (annexe A).

2.3 Modalités d'administration du test

Les blocs de tissus fixés à la paraformaldéhyde et enrobés de paraffine ou les tissus congelés proviennent des laboratoires de pathologie de plusieurs hôpitaux du Québec. Ils sont acheminés par courrier au laboratoire du centre de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif de Montréal où l'ADN est extrait et le séquençage est effectué. L'analyse est réalisée par une technologiste médicale qui détient un certificat Fundamentals of Molecular Pathology Certificate, programme de

36. Il s'agit d'une mesure logarithmique de la probabilité d'erreur dans l'appel des bases. Dans le cas présent, lorsque le logiciel Illumina donne un Q-Score de 30 (Q30), cela signifie que 1 appel de base sur 1 000 pourrait être incorrect. Cela signifie aussi que l'efficacité dans l'appel des bases est de 99,9 %. Un faible Q-Score peut mener à une augmentation des faux positifs (*Understanding Illumina quality scores*, disponible à : http://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/technote/technote_understanding_quality_scores.pdf (consulté le 22 octobre 2015)).

l'American Association of Clinical Chemists. Le temps de réponse attendu est de 10 jours ouvrables.

2.4 Société ou développeur

MiSeq d'Illumina (trousse et plateforme de séquençage)

SeqCap EZ de Roche Nimblegen (trousse d'enrichissement d'ADN)

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Les produits et technologies utilisés pour effectuer cette analyse n'ont pas fait l'objet d'une homologation par Santé Canada ou la FDA.

2.6 Valeur pondérée : 350,25

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients qui pourraient bénéficier d'un traitement par thérapie ciblée disponible pour l'un des cancers suivants : cancer colorectal métastatique, cancer du poumon, mélanome, tumeurs stromales gastro-intestinales, cancer de l'endomètre et des ovaires et cancer de la thyroïde.

3.2 Description de la maladie visée

Le traitement ciblé du cancer a recours à des médicaments qui visent des molécules spécifiques comme des protéines situées à la surface ou à l'intérieur des cellules cancéreuses. Ces molécules contribuent à l'envoi de signaux qui indiquent aux cellules de croître ou de se diviser. En ciblant ces molécules, les médicaments interrompent la croissance et la propagation des cellules cancéreuses tout en limitant les dommages aux cellules normales³⁷.

Les cancers visés par le demandeur sont les suivants : cancer du côlon métastatique, cancer du poumon, mélanome, tumeurs stromales gastro-intestinales, cancer de l'endomètre et des ovaires et cancer de la thyroïde. Une brève description des huit gènes visés dans le panel du demandeur et dont la présence est observée dans ces cancers est présentée ci-dessous. Le spectre des mutations détectables par SNG comprend les mutations faux sens et non-sens, des insertions et des délétions et celles qui modifient les sites d'épissage. Les mutations CNV (variations du nombre de copies) ne sont pas détectables par le test. Le demandeur spécifie que la plupart des mutations somatiques du panel ne sont pas dans ce type de mutation. Les régions codantes des gènes du panel du demandeur ont une couverture de 100 %. Une description détaillée des séquences couvertes pour ces huit gènes est présentée à l'annexe B.

AKT1

Ce gène code pour la protéine AKT1 qui interagit avec plusieurs médiateurs qui favorisent plusieurs processus oncogéniques, y compris la survie cellulaire, la croissance, la prolifération et l'angiogénèse [Bellacosa *et al.*, 2005; Brodbeck *et al.*,

37. Société canadienne du cancer. Traitement ciblé [site Web]. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/diagnosis-and-treatment/chemotherapy-and-other-drug-therapies/targeted-therapy/?region=on> (consulté le 11 novembre 2015).

1999]. Une des principales fonctions d'AKT1 est de promouvoir la signalisation de mTOR qui peut influencer sur la taille des cellules, la synthèse des protéines, la prolifération et la survie cellulaire [Bellacosa *et al.*, 2005; Brodbeck *et al.*, 1999]. AKT1 est souvent plus active dans les cellules cancéreuses et elle a émergé comme cible potentielle pour le traitement du cancer. Cependant, parce que la signalisation AKT1 touche de nombreuses voies, comme le métabolisme du glucose, son ciblage thérapeutique est complexe.

BRAF

Ce gène code pour la protéine BRAF qui, lorsqu'elle est activée par RAS, phosphoryle et active MEK1 et MEK2 pour favoriser la prolifération cellulaire, la survie, la migration et la différenciation [Martinez-Quintana et Rodriguez-Gonzalez, 2012]. La substitution BRAF V600E compte pour 80 % des mutations; elle serait impliquée dans 66 % des mélanomes malins et, à moindre échelle, dans plusieurs autres cancers dont les carcinomes colorectaux [Rajagopalan *et al.*, 2002] et papillaires de la thyroïde [Kimura *et al.*, 2003].

EGFR

Ce gène code pour le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) qui, lorsqu'il est activé, enclenche plusieurs voies de signalisation dont RAS/RAF/MAPK, PI3K/AKT/mTOR et STAT, ce qui mène à une augmentation de la prolifération cellulaire, de la migration ainsi que de la différenciation et réduit la mort cellulaire. Une délétion sans altération du cadre de lecture dans l'exon 19 et une mutation somatique ponctuelle au codon 858 (L858R) de l'exon 21 du gène *EGFR* ont été observées, et ce, particulièrement chez les patients non fumeurs atteints d'un cancer du poumon. Ceux-ci sont hautement sensibles au géfitinib et à l'erlotinib, deux inhibiteurs de la tyrosine kinase [Lynch *et al.*, 2004; Paez *et al.*, 2004; Pao *et al.*, 2004].

KIT

Ce gène code pour le récepteur tyrosine kinase KIT qui, une fois activé, amorce plusieurs cascades de signalisation intracellulaire dont les voies MAPK/MEK, PI3K/AKT, JAK/STAT et PKC, ce qui mène à la prolifération, au suivi et à la migration cellulaire. [Hirota *et al.*, 1998] ont démontré la présence de KIT chez des patients atteints de tumeurs stromales gastro-intestinales.

KRAS et NRAS

Le génome humain contient trois gènes *RAS* homologues, mais fonctionnellement distincts (*KRAS*, *NRAS* et *HRAS*). Des mutations oncogéniques touchant un des gènes *RAS* sont observées dans environ 30 % des cancers humains. *KRAS* est davantage présent dans les tumeurs colorectales, de l'endomètre, du pancréas, des voies biliaires, du poumon et du col de l'utérus. Les mutations somatiques activatrices du gène *NRAS* sont plus fréquentes chez les patients atteints de mélanome et de leucémie myéloïde [Schubbert *et al.*, 2007]. Plusieurs études ont démontré que 40 % des cancers colorectaux affichent des mutations somatiques aux codons 12 et 13 du gène *KRAS*.

PDGFRA

Ce gène code pour le récepteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR α) dont l'activation mène à l'autophosphorylation du domaine tyrosine

kinase, ce qui amorce plusieurs cascades de signalisation dont RAS/MAPK, PI3K et PLC-γ. L'altération du gène *PDGFRA* observable dans plusieurs cancers entraîne l'activation constitutive du récepteur PDGFRα, ce qui se traduit par l'augmentation de la prolifération et de la survie cellulaires ainsi que par divers processus oncogéniques. Des mutations somatiques du gène *PDGFRA* ont été observées chez des patients atteints de tumeurs stromales gastro-intestinales [Heinrich *et al.*, 2003].

PIK3CA

Ce gène code pour la sous-unité catalytique p110α de la PI3K, molécule de signalisation intracellulaire des voies de signalisation de l'EGFR et de HER2/ERbb2 menant à une augmentation de la phosphorylation AKT et de mTOR. La voie PI3K/AKT/mTOR stimule la tumorigénèse en régulant plusieurs fonctions dont la prolifération cellulaire, la survie, le métabolisme et la réorganisation du cytosquelette. La présence de mutations somatiques dans le gène *PIK3CA* a été observée chez plusieurs patients atteints d'un cancer colorectal [Samuels *et al.*, 2004].

Tableau 1 Sommaire des thérapies ciblées approuvées et remboursées en fonction des gènes du panel du demandeur

Cible	Thérapie	Approbation FDA	Approuvé Santé Canada	Remboursement RAMQ
AKT	ND	s.o.	s.o.	s.o.
BRAF	dabrafenib (Tafinlar ^{MC})	En monothérapie et en association pour le traitement du mélanome avec une mutation BRAF V600		En monothérapie pour le traitement du mélanome non résecable ou métastatique présentant une mutation BRAF V600
	trametinib (Mekinist ^{MC}) <i>MEK inhibiteur</i>			
	vemurafenib (Zelboraf ^{MC})	En monothérapie pour le traitement du mélanome exprimant une mutation BRAF V600		
NRAS	Voir EGFR	s.o.	s.o.	s.o.
KRAS	Voir EGFR	s.o.	s.o.	s.o.
PIK3Cα	ND	s.o.	s.o.	s.o.
PDGFRα	ND	s.o.	s.o.	s.o.
PDGFRα et β	imatinib (Gleevec ^{MC})	1- GIST (KIT ⁺ par IHC), 2- Dermatofibrosarcome protubérant, 3- Multiples tumeurs hématologiques dont LMC (Ph+) et LLA (Ph+) ainsi que 4- SMD/SMP associées à des réarrangements du gène du PDGFR		1- GIST (KIT ⁺), 2- LMC, 3- LLA Ph ⁺
	pazopanib (Votrient ^{MC})	1- Adénocarcinome rénal 2- Sarcome des tissus mous	1- Adénocarcinome rénal 2- Sarcome des tissus mous	Adénocarcinome rénal
	sunitinib (Sutent ^{MC})	1- GIST, 2- adénocarcinome rénal 3- TNE pancréatiques	1- GIST 2- adénocarcinome rénal 3- TNE pancréatiques	GIST
	regorafenib (Stivarga ^{MC})	1- CCR et 2- GIST	1- CCR qui ont déjà reçu une chimiothérapie et un anti-VEGF et, chez les porteurs d'un gène <i>KRAS</i> sauvage, un anti-EGFR et 2- GIST	Non remboursé
PDGFRβ	sorafenib (Nexavar ^{MC})	1- Carcinome hépatocellulaire 2- Adénocarcinome rénal 3- Carcinome thyroïde	1- Carcinome hépatocellulaire 2- Hypernéphrome 3- Cancer différencié de la thyroïde	Non remboursé
c-KIT	axitinib (Inlyta ^{MC})	Adénocarcinome rénal	Adénocarcinome rénal	Adénocarcinome rénal
	cabozantinib (Cometriq ^{MC})	Cancer médullaire de la thyroïde	Non approuvé	s.o.
	dasatinib (Sprycel ^{MC})	LMC et LLA Ph ⁺	LMC et LLA Ph ⁺	LMC
	imatinib (Gleevec ^{MC})	1- GIST (KIT ⁺ par IHC), 2- Dermatofibrosarcome protubérant, 3- Multiples tumeurs hématologiques LMC (Ph+) et LLA (Ph+) ainsi que 4- SMD/SMP associés à des réarrangements du gène du PDGFR		1- GIST (KIT ⁺) 2- LMC 3- LLA Ph ⁺

	pazopanib (Votrient ^{MC})	Adénocarcinome rénal	Adénocarcinome rénal	Adénocarcinome rénal
	regorafenib (Stivarga ^{MC})	1- CCR et 2- GIST	1- CCR qui ont déjà reçu une chimiothérapie et un anti-VEGF et, chez les porteurs d'un gène <i>KRAS</i> sauvage, un anti-EGFR et 2- GIST	Non remboursé
	sorafenib (Nexavar ^{MC})	1- Carcinome hépatocellulaire 2- Adénocarcinome rénal 3- Carcinome thyroïde	1- Carcinome hépatocellulaire 2- Hypernéphrome 3- Cancer différencié de la thyroïde	Non remboursé
	sunitinib (Sutent ^{MC})	1- GIST, 2- adénocarcinome rénal 3- TNE pancréatiques	1- GIST 2- adénocarcinome rénal 3- TNE pancréatiques	GIST
EGFR	afatinib (Giotrif ^{MC})	CPNPC avec délétion exon 19 et substitution (L858R) exon 21 de l'EGFR	Adénocarcinome du poumon métastatique avec délétion exon 19 et substitution (L858R) exon 21 de l'EGFR (méthode de détection non spécifiée)	Non remboursé
	erlotinib (Tarceva ^{MC})	1- CPNPC avec délétion exon 19 et substitution (L858R) exon 21 de l'EGFR et 2- Cancer pancréatique	CPNPC EGFR ⁺ (par IHC)	CPNPC – pas de précision du statut mutationnel demandée
	gefitinib (Iressa ^{MC})	CPNPC avec délétion exon 19 et substitution (L858R) exon 21 de l'EGFR	CPNPC avec mutations activatrices de la tyrosine kinase de l'EGFR (méthode de détection non spécifiée)	CPNPC avec mutations activatrices de la tyrosine kinase de l'EGFR
	lapatinib (Tykerb ^{MC})	Cancer du sein HER2 ⁺	Cancer du sein HER2 ⁺ (par IHC)	Cancer du sein HER2 ⁺
	vandetanib (Caprelsa ^{MC})	Monothérapie cancer médullaire de la thyroïde	Monothérapie cancer médullaire de la thyroïde	Non remboursé
	cetuximab (Erbix ^{MC})	1- CCRm (<i>KRAS</i> sauvage) 2- Carcinome épidermoïde de la tête et du cou	CCRm EGFR ⁺ (par IHC) avec <i>KRAS</i> sauvage	CCRm EGFR ⁺ avec <i>KRAS</i> sauvage
	panitumumab (Vectibix ^{MC})	CCRm (<i>KRAS</i> sauvage)		

Sigles et abréviations : CCR : cancer colorectal; CCRm : cancer colorectal métastatique; CPNPC : cancer du poumon non à petites cellules; FDA : Food and Drug Administration; GIST : *gastrointestinal stromal tumor*; IHC : immunohistochimie; LLA : leucémie lymphoblastique aiguë; LMC : leucémie myéloïde chronique; Ph+ : positif pour le chromosome de Philadelphie; SMD/SMP : syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs; TNE : tumeur neuroendocrine.

Sources : My Cancer Genome, disponible à : <http://www.mycancergenome.org/content/molecular-medicine/anticancer-agents/>; American Cancer Society, disponible à : <http://www.cancer.org/>; Food and Drug Administration, disponible à : <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/>; et Santé Canada, disponible à : <http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/index-fra.jsp>. Liste des médicaments (mise à jour le 1^{er} octobre 2015), disponible à : https://www.prod.ramq.gouv.qc.ca/DPI/PO/Commun/PDF/Liste_Med/Liste_Med/liste_med_cor1_2015_10_01_fr.pdf (documents consultés le 27 octobre 2015).

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

À l'échelle provinciale, le nombre de tests estimé annuellement par le demandeur est de : 1 400, 1 540 et 1 694 pour les trois prochaines années.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hémato-oncologie, oncologie médicale et chirurgie-oncologique

3.5 Brève description de la situation actuelle

L'analyse du statut mutationnel des gènes présents dans le panel du demandeur n'est pas effectuée hors Québec. La présente analyse pourrait regrouper les analyses des mutations des gènes *BRAF*, *EGFR*, *KRAS* et *KIT/PDGFR* qui sont déjà dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Le centre demandeur est déjà désigné pour effectuer l'analyse des mutations des gènes *KRAS*, *EGFR* et *BRAF* pour le traitement du cancer colorectal, du poumon et du mélanome, respectivement.

3.6 Données médico-administratives

L'évaluation du statut mutationnel de certains gènes inclus dans le panel proposé par le demandeur figure déjà au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Les données du ministère de la Santé et des Services sociaux concernant les valeurs pondérées et les volumes d'activité pour ces analyses sont présentées au tableau 2.

Tableau 2 Données médico-administratives (2014-2015)

MÉTHODE	GÈNE	CODE	DÉSIGNATION*	VP	VOLUME ANNUEL [†]	TOTAL (\$)
Test d'amplification des acides nucléiques (TAAN)	<i>BRAF</i> (V600E)	60034	CHUM, CHU de Québec, HGJ et HMR	65	885	57 525
	<i>EGFR</i> (exons 18-21)	50092	CHUM, CUSM, HGJ, HL et HMR	158	2 725	430 550
	<i>KRAS</i>	60152	CHUM	56	347	19 432
		20067	CHUM et CHU de Québec et HGJ	224	1 308	292 992
Séquençage de type Sanger	<i>KIT</i> et <i>PDGFRA</i>	20065	CHUM et CHU de Québec	383	70	26 810

Sigles et abréviations : CHU : centre hospitalier universitaire; CHUM : Centre hospitalier de l'Université de Montréal; CUSM : Centre universitaire de santé McGill; IUCPQ : Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec; HGJ : Hôpital général juif; HMR : Hôpital Maisonneuve-Rosemont; VP : valeur pondérée.

* Tous les centres ont une désignation de type suprarégionale.

[†] Somme des volumes annuels d'activité des centres hospitaliers qui utilisent ce code d'analyse.

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permettrait de préciser simultanément le statut mutationnel de huit gènes visés par une thérapie ciblée utilisée pour traiter différents types de cancer, ce qui simplifierait l'organisation du travail et amènerait un gain concernant le temps de réponse ainsi que des économies importantes en matière d'analyses pour le Québec. Il serait primordial de connaître dans les meilleurs délais le statut mutationnel des patients pour commencer un traitement ciblé le plus rapidement possible. Cette analyse permettrait d'avoir une vue d'ensemble de plusieurs biomarqueurs observés dans des voies métaboliques différentes. Les médecins auraient plus d'options en ce qui concerne les traitements à prescrire.

3.8 Assurance qualité

Contrôle interne de la qualité

Plusieurs mesures permettant d'assurer la qualité de l'analyse sont prévues à différentes étapes du processus, dont la mesure des concentrations d'ADN et l'évaluation de potentielles contaminations. De plus, à chaque étape, la concentration d'ADN sera mesurée de façon précise. Enfin, une librairie témoin PhiX est incluse pour surveiller la performance du séquençage.

Contrôle externe de la qualité

Le centre demandeur participe aux enquêtes du College of American Pathologists (CAP) portant sur les analyses de mutations par SNG. Il s'agit de tests de compétence

basés sur les méthodes (*Methods-based proficiency test*, MBPT) plutôt que sur chaque analyte évalué. Cela inclut toutes les étapes du processus, soit l'échantillonnage, l'appel des variants et la façon dont ils sont rapportés.

Le centre demandeur participe également aux travaux de l'European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) Scheme for Oncogene Panel testing, qui inclut les gènes *BRAF*, *KIT*, *EGFR*, *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*, *PIK3CA* et *TP53*.

Dans le cadre de sa participation à SPECTAMel, la plateforme de SNG paneuropéenne établie par l'Organisation européenne pour la recherche et le traitement du cancer (EORTC), le centre demandeur fait régulièrement la contre-vérification de ses échantillons avec la plateforme MG14 (Wellcome Trust Sanger Institute, UK). Le laboratoire collabore aussi au développement d'un programme canadien d'assurance qualité pour SNG avec le Groupe des essais cliniques de l'Institut national du cancer du Canada (INCC).

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplacerait pas un test déjà inscrit au répertoire. Elle pourrait cependant regrouper les analyses des mutations des gènes *KRAS*, *BRAF* et *EGFR* qui figurent déjà au répertoire, comme détaillé à la section 3.6.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic.

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement de l'état de santé des patients.

4.3 Valeur thérapeutique

Afin d'apprécier l'utilité clinique du SNG d'un panel de mutations somatiques pour orienter une thérapie ciblée chez les patients atteints de divers cancer, quatre études ont été retenues [Jones *et al.*, 2015; Schwaederle *et al.*, 2015; Johnson *et al.*, 2014; Tran *et al.*, 2013]. Parmi celles-ci, deux études ont utilisé le panel de 236 gènes de FoundationOne (Foundation Medecine) [Schwaederle *et al.*, 2015; Johnson *et al.*, 2014], une étude a utilisé un panel de gènes correspondant aux 19 gènes d'OncoCarta Panel v1.0 [Tran *et al.*, 2013] et une étude a développé un panel de 111 gènes [Jones *et al.*, 2015]. Les huit gènes du panel faisant l'objet de la présente évaluation sont couverts par les panels des études retenues. Le tableau 3, ci-dessous, présente les caractéristiques méthodologiques principales de ces études alors que le tableau 4 contient un résumé des résultats de SNG réalisés chez des patients atteints de divers cancers.

Tableau 3 Caractéristiques méthodologiques des études évaluées

ÉTUDE (PAYS)	MÉTHODE (PLATEFORME)	POPULATION (ÂGE MÉDIAN)	SITES/TYPES TUMORAUX	THÉRAPIE PRÉALABLE	ECOG	TYPE D'ÉCHANTILLON
Schwaerderle, 2015 (É.-U.)	Panel de 236 gènes de FoundationOne, Foundation Medecine (HiSeq Illumina)	439 patients (54 ans (53-56 ans))	Tractus gastro-intestinal : 25 % Sein : 19 % Cerveau : 14 % Autres : 42 %	ND	ND	Biopsie et FFPE
Johnson, 2014 (É.-U.)	Panel de 236 gènes de FoundationOne, Foundation Medecine (HiSeq Illumina)	103 patients (53 ans (20-81 ans))	Sein : 26 % Tête et cou : 23 % Mélanome : 10 % Autres : 41 %	Médiane : 1 (0-8)*	0-1	Biopsie et FFPE
Tran, 2013 (CAN)	Panel de 19 gènes basé sur OncoCarta Panel v1.0 (PacBio RS Pacific Biosciences)	50 patients (57 ans (44-74 ans))	Colorectal : 18 % Sein : 16 % Ovaires : 16 % CPNPC : 10 % Autres : 40 %	Médiane : 3 (0-8)	0-1	FFPE et tissus congelés
Jones, 2015 (É.-U.)	Panel de 111 gènes (HiSeq et MiSeq Illumina)	815 patients (ND)	Cerveau : 22 %, Colorectal : 21 % Œsophage : 15 % Pancréas : 10 % Autres : 32 %	ND	ND	FFPE et tissus congelés

Sigles et abréviations : CAN : Canada; CPNPC : cancer du poumon non à petites cellules; É.-U. : États-Unis; FFPE : *formalin-fixed paraffin embedded*; ECOG : statut de performance du Eastern Cooperative Oncology Group; ND : non disponible.

*Un grand nombre de patients avaient été prétraités et avaient reçu jusqu'à 8 lignes de traitement. Toutefois, le nombre médian de thérapies préalables est 1, puisqu'un grand nombre de patients ont reçu le séquençage peu de temps après le diagnostic initial. L'ECOG était mesuré au moment du test.

La première étude [Schwaederle *et al.*, 2015] est un essai rétrospectif dont l'objectif était de déterminer la proportion de patients présentant des mutations somatiques pouvant être l'objet de thérapies ciblées. Pour ce faire, le dossier médical de 439 patients atteints de divers cancers a été revu. Les biopsies utilisées pour l'analyse moléculaire provenaient principalement de tumeurs primaires (58 %), soit gastro-intestinales, du sein et du cerveau, plutôt que de métastases. Les principaux résultats sont les suivants :

Au total, 1 813 mutations de 207 gènes distincts ont été observées chez 420 patients. Les trois gènes dont les mutations étaient les plus fréquentes étaient *TP53* (44 %), *KRAS* (16 %) et *PIK3CA* (12 %). Concernant les gènes présents sur le panel du demandeur, ceux-ci avaient subi une mutation dans les proportions suivantes : *AKT1* (≤ 4 %), *BRAF* (5 %), *EGFR* (8 %), *KIT* (≤ 4 %), *KRAS* (16 %), *NRAS* (≤ 4 %), *PDGFRA* (≤ 4 %) et *PIK3CA* (12 %).

- Parmi les 439 échantillons tumoraux de patients :
 - 420 (96 %) présentaient au moins une mutation et 372 (85 %) en avaient deux et plus. Le nombre médian de mutations par patient était de 3 (0 à 16).
 - 393 (90 %) présentaient au moins une mutation potentiellement actionnable par un ou plusieurs médicaments expérimentaux. Le nombre médian de mutations potentiellement actionnables par patient était de 2 (0 à 8).
 - 307 (70 %) présentaient une mutation actionnable par un médicament approuvé par la Food and Drug Administration (FDA).
 - 296 (67 %) recevaient au moins un médicament approuvé pour une autre indication (*off label*) et 89 patients (20 %) pouvaient recevoir au moins un ou plusieurs médicaments approuvés et utilisés selon l'indication reconnue (*on label*).
- En priorisant les traitements possibles pour un même patient en fonction des indications reconnues, 11 patients seraient admissibles pour recevoir uniquement un médicament approuvé et utilisé selon l'indication reconnue, 218 patients auraient un médicament approuvé hors indication et 78 patients auraient à la fois un médicament approuvé et utilisé selon l'indication reconnue et un médicament approuvé hors indication.
- Les patientes et les patients atteints de cancer du sein et de mélanome étaient les plus susceptibles de recevoir une thérapie ciblée selon l'indication reconnue :
 - 47 (57 %) des 83 patientes atteintes d'un cancer du sein ($p < 0,0001$). L'option de traitement la plus souvent reconnue pour ces patientes était les inhibiteurs de mTOR et d'*ERBB2*.
 - 15 (47 %) des 32 patients atteints de mélanome ($p = 0,0002$). L'option de traitement la plus souvent reconnue pour ces patients était les inhibiteurs RAS/RAF/MEK.
- Les inhibiteurs de mTOR, évérolimus et temsirolimus, visant les mutations de la voie PI3K/AKT/mTOR, seraient les médicaments les plus fréquemment utilisés (38 %, 151/393 patients) suivis du tramétinib, un inhibiteur des MAP kinases MEK1/MEK2 (26 %, 101/393 patients).
- Chez les patients atteints des cancers les plus fréquents, la présence de mutations concomitantes a pu être observée. Chez les patients atteints d'un cancer gastro-

intestinal, les mutations du gène *KRAS* ont été observées concomitamment avec celles d'*APC* (14 patients) ou de *PIK3CA* (6 patients).

Les auteurs concluent que la grande majorité des patients (90 %) ont théoriquement des mutations actionnables. En effet, il n'est pas déterminé si les patients à qui on attribue un médicament ciblant une mutation auraient répondu à ce dernier. Le profil mutationnel de presque tous les patients est unique. En effet, seulement 1,6 % des patients présentent les mêmes mutations. Cette observation suggère que l'individualisation de la thérapie est essentielle, quoique, selon les auteurs, des défis demeurent, notamment au regard de l'usage hors indication des médicaments.

La deuxième étude [Johnson *et al.*, 2014] est un essai rétrospectif dont l'objectif principal était de déterminer si le profil moléculaire obtenu par SNG permettait de repérer des mutations somatiques potentiellement actionnables et subséquemment d'influer sur la sélection d'une thérapie ciblée. Le dossier médical de 103 patients atteints de divers cancers avancés (85 % en stade IV) et potentiellement admissibles à une thérapie ciblée en essai clinique a été revu. Les principaux résultats sont les suivants :

- Parmi les échantillons tumoraux analysés de ces 103 patients :
 - 97 (94 %) présentaient au moins une mutation. Le nombre médian de mutations par tumeur était de 3 (0-13). Les gènes les plus fréquemment mutés étaient ceux associés au cycle cellulaire (44 %), *TP53* (32 %) et ceux impliqués dans les voies *MAPK* et *PIK3-AKT*.
 - 86 (83 %) présentaient au moins une mutation potentiellement actionnable. La plupart des échantillons présentaient une (n = 25) ou deux (n = 26) mutations actionnables alors que 3 mutations actionnables et plus ont été détectés dans 34 tumeurs. Le nombre médian de mutations actionnables par patient était de 2 (0-10). Des mutations actionnables ont été observées dans tous les types tumoraux.
 - 22 patients (21 %) présentaient des mutations pouvant être la cible de thérapies déjà approuvées par la FDA selon l'indication reconnue.
 - 15 patients (15 %) présentaient des mutations pouvant être la cible de thérapies approuvées par la FDA, mais pour une autre indication.
 - 44 patients (43 %) étaient des candidats potentiels pour une thérapie expérimentale ayant démontré des preuves d'efficacité lors d'essais cliniques.
- 18 patients (17 %) ont reçu une thérapie ciblée en fonction du statut mutationnel de leur tumeur. Parmi eux, 7 ont reçu des agents cliniquement disponibles. Une réponse partielle au traitement a été observée chez 3 patients. Il n'est pas détaillé dans l'étude s'il s'agissait de médicaments approuvés utilisés selon l'indication ou hors indication. Les 11 patients restants ont été recrutés dans le cadre d'essais cliniques.

Les auteurs concluent que l'analyse de mutations somatiques par SNG favoriserait la détermination de potentielles thérapies ciblées, permettant ainsi de recruter en essais cliniques des patients sans option de traitement. Inversement, même l'obtention d'information de séquençage « négative » pourrait être cliniquement utile pour orienter les patients vers des essais cliniques portant sur des thérapies non ciblées en fonction du génotype ou même vers le choix de ne donner aucun traitement supplémentaire.

Ils conviennent aussi que le SNG permettrait de découvrir de nouvelles cibles menant à des études précliniques et cliniques, de définir le pronostic et les caractéristiques pathologiques d'une cohorte et de rechercher des réponses non attendues dans des études cliniques à des fins de recherche.

La troisième étude [Tran *et al.*, 2013] est un essai rétrospectif multicentrique qui avait pour objectif d'évaluer la faisabilité d'effectuer le profilage moléculaire de tumeurs solides de stade avancé à l'aide de deux technologies, soit par SNG et par génotypage à haut débit (OncoCarta). Toutes les mutations observées ont été confirmées par séquençage Sanger ou par une autre technologie validée. Les principaux résultats sont les suivants :

- Au total, le SNG a permis d'observer, chez 16 des 50 patients évalués (32 %), 19 mutations, dont 5 non couvertes par le panel OncoCarta. Les gènes le plus fréquemment objets de mutations étaient : *KRAS* (6/19), *EGFR* (5/19), *PIK3CA* (4/19), *AKT* (1/19), *KIT* (1/19), *RET* (1/19) et *PDGFRA* (1/19).
- Parmi ces 16 patients, 6 ont reçu une thérapie ciblée en fonction des mutations actionnables exprimées. La moitié ont reçu une thérapie approuvée par la FDA et l'autre moitié a reçu un médicament en essai clinique. Après un suivi de 3 mois, 3 réponses partielles ont été enregistrées, dont 2 à un traitement approuvé. Parmi les 10 patients restants, 6 patients avaient des mutations déjà observées auparavant par d'autres analyses moléculaires, 3 patients n'étaient pas admissibles à la thérapie ciblée et 1 patient a poursuivi son traitement standard.

La quatrième étude [Jones *et al.*, 2015], un essai rétrospectif, avait notamment pour objectif de repérer des mutations cliniquement actionnables par SNG. Le séquençage a été réalisé à la fois sur l'exome entier et par l'intermédiaire d'un panel de 111 gènes (Agilent) chez 815 patients. Les principaux résultats sont les suivants :

- Les trois gènes qui avaient le plus fréquemment muté étaient *TP53* (50 %), *KRAS* (12 %) et *PIK3CA* (8 %). Concernant les gènes présents sur le panel du demandeur, ceux-ci avaient muté dans les proportions suivantes : *KRAS* (12 %), *PIK3CA* (8 %), *EGFR* (4,5 %), *BRAF* (4 %), *NRAS* (2 %), *KIT* (1 %), *AKT1* (< 1 %), *PDGFRA* (?).
- Chez les 753 patients qui ont fait l'objet de l'analyse, 580 présentaient des mutations somatiques actionnables (77 %). Celles-ci étaient plus fréquentes en cas de cancer colorectal et de mélanome.
- Les mutations actionnables étaient liées à des thérapies faisant l'objet d'essais cliniques, publiés ou en cours (66 %), plutôt qu'à des thérapies approuvées par la FDA selon l'indication ou hors indication (11 %).

Tableau 4 Principaux résultats des études retenues pour apprécier la pertinence d'une approche par panel relativement à l'orientation d'une thérapie ciblée

ÉTUDES (PAYS)	PATIENTS AVEC ≥ 1 MUTATION (DISTRIBUTION PAR PATIENT)	GÈNES (FRÉQUENCE)	DÉFINITION MUTATION ACTIONNABLE	PATIENTS AVEC ≥ 1 MUTATION ACTIONNABLES (MÉDIANE)	PATIENTS AVEC DES MUTATIONS			
					MUTATIONS ACTIONNABLES			NON ACTIONNABLES n (%)
					INDICATION n (%)*	HORS INDICATION n (%)*	THÉRAPIE EXPÉRIMENTALE n (%)	
Schwaerderle, 2015 (É.-U.)	420/439 (96 %) Médiane 3, (0-8)	<i>TP53</i> (44 %), <i>KRAS</i> (16 %), <i>PIK3CA</i> (12 %), <i>EGFR</i> (8 %), <i>BRAF</i> (5 %), <i>AKT1</i> (≤ 4 %), <i>KIT</i> (≤ 4 %), <i>NRAS</i> (≤ 4 %) et <i>PDGFRA</i> (≤ 4 %)	Mutation qui est soit la cible directe ou un composant de la voie de signalisation visée par au moins un médicament approuvé par la FDA ou un médicament expérimental	393/439 (90 %) [‡] [2/pt, (0-8)]	89 (20 %)	218 (50 %)	86 (20 %)	46 (10 %)
Johnson, 2014 (É.-U.)	97/103 (94 %) (Médiane 3, (0-13))	Cycle cellulaire (44 %) <i>TP53</i> (32 %) Voies <i>MAPK</i> et <i>PI3K/AKT</i>	Mutation susceptible d'être sensible à une thérapie ciblée approuvée par la FDA ou en cours d'essai clinique	86/103 (83 %) [2/pt, (0-10)]	22 (21 %)	15 (15 %)	49 (48 %)	17 (17 %)
Tran, 2013 (CAN)	16/50 (32 %) (ND)	<i>KRAS</i> (12 %) <i>EGFR</i> (8 %) <i>PIK3CA</i> (6 %) <i>AKT</i> (2 %), <i>KIT</i> (2 %), <i>RET</i> (2 %) et <i>PDGFRA</i> (2 %)	Mutation ayant le potentiel de modifier la prise en charge du patient sur la base d'implications pronostiques, prédictives ou diagnostiques	14/50 (28 %) (ND)	ND		3 (6 %)	2 (4 %)
Jones, 2015 (É.-U.)	ND Moyenne : 4,34 (0-29)	<i>TP53</i> (50 %), <i>KRAS</i> (12 %), <i>PIK3CA</i> (8 %), <i>EGFR</i> (4,5 %), <i>BRAF</i> (4 %), <i>NRAS</i> (2 %), <i>KIT</i> (1 %), <i>AKT1</i> (< 1 %), <i>PDGFRA</i> (?)	Mutation visée par une thérapie approuvée par la FDA ou expérimentale	580/753 (77 %) (ND)	30 (4 %)	56 (7 %)	494 (66 %)	173 (23 %)

Sigles et abréviations : CAN : Canada; É.-U. : États-Unis; ND : non disponible, pt : patient

* Selon la Food and Drug Administration (FDA)

[‡] L'ensemble des patients avec des mutations actionnables recevaient minimalement des thérapies ciblées expérimentales.

† Les résultats sont rapportés chez 753 patients parmi les 815 patients inclus dans l'étude. Aucune explication de l'auteur à ce sujet.

4.4 Validité analytique

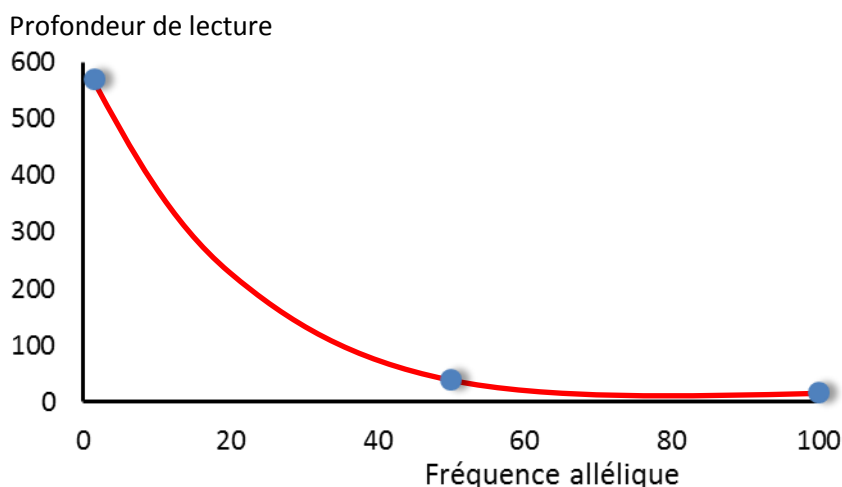
4.5 Données fournies par le demandeur

Contrôle de la qualité

Q-score

Une fois le séquençage réalisé, la mesure du Q-Score est effectuée. En plus du Q-Score, la couverture par nucléotide est évaluée. Pour s'assurer à 95 % que la détection d'un variant rare (1 %) est vraie en tenant compte d'un taux d'erreur de 0,095/100 pb, chaque nucléotide doit être séquencé 573 fois. Conformément aux lignes directrices du College of American Pathologists (CAP), chaque nucléotide est détecté dans au moins 400 lectures uniques. Statistiquement, cela permet une limite de détection d'environ 5 %. La profondeur de lecture est liée à la fréquence allélique des variants tel qu'illustré à la figure 1.

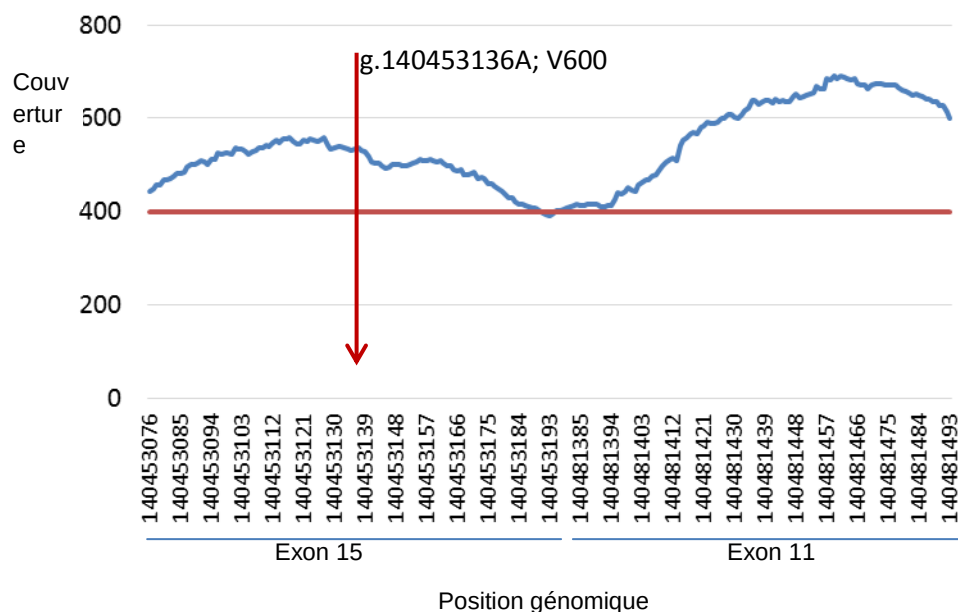
Figure 1 : Fréquence allélique en fonction de la profondeur de lecture



Couverture

Après l'élimination des doublons de lecture, le nombre de fois que chaque nucléotide a été séquencé est présenté en fonction de sa position génomique pour visualiser la couverture de lecture. Un exemple du gène *BRAF* est donné à la figure 2. Seules les séquences avec une couverture minimale de 400X sont par la suite analysées.

Figure 2 : Profondeur de lecture du gène *BRAF*



Évaluation des variants

Deux plateformes d'analyse sont utilisées pour l'appel des variants.

Illumina VariantStudio est un logiciel développé par le fournisseur du matériel de séquençage et il permet l'interprétation des données de séquençage avec divers renseignements comme ceux provenant de la base de données dbSNP et ceux issus d'algorithmes de prédiction de l'effet d'une mutation sur la fonction de la protéine.

Les données de séquençage sont aussi analysées avec NEXTGene, logiciel d'analyse des données de SNG de SoftGenerics.

Par ailleurs, l'accès aux bases de données suivantes permet de déterminer si une mutation donnée a déjà été observée et rapportée : COSMIC, dbSNP, cBioPortal for Cancer Genomics, Integrative Onco Genomics et The Cancer Genome Atlas (TCGA).

Classification des variants

Les variants sont rapportés à l'aide d'un système basé sur le niveau de preuve du biomarqueur en accord avec les lignes directrices de la Human Genome Variation Society (HGVS), qui inclut la fréquence allélique des variants et la pathogénicité (annexe A).

Le rapport contient l'information sur le contrôle de la qualité : pourcentage de lecture $\geq$ Q30, profondeur de lecture moyenne et pourcentage de nucléotides avec un seuil de lecture minimal de 400x.

Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité du panel maison ont été validées pour les gènes *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *PIK3CA* et *EGFR* en utilisant un test développé dans le laboratoire ou un test approuvé par la FDA. Il en ressort que tous les échantillons satisfaisaient aux critères de qualité préétablis ($95\% \geq$ Q 30 et profondeur de lecture $\geq$ 400x). La sensibilité analytique a

été établie à 99 % (84 mutations positives testées et 83 reconnues par SNG) et la spécificité analytique à 99 % (126 échantillons négatifs répertoriés dans le laboratoire du demandeur et 125 sont négatifs d'après le SNG) (annexe C).

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

N'ont pas été évalués.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les données cliniques actuelles ne permettent pas de confirmer l'utilité clinique d'effectuer une analyse de mutations somatiques par SNG afin d'orienter de façon convenable une thérapie ciblée. Selon Marrone et ses collègues [2014], bien que le SNG permette de déterminer simultanément le statut mutationnel tumoral de plusieurs gènes cliniquement actionnables, certaines étapes demeurent à franchir pour justifier son utilisation, dont les suivantes :

1. Évaluer objectivement la réponse au traitement découlant d'une association entre les mutations somatiques détectées par SNG et la thérapie ciblée associée.
2. Évaluer l'efficacité et l'innocuité de la thérapie ciblée déjà établie dans un contexte clinique donné, notamment au regard du site et du type de tumeur.
3. Standardiser la façon d'interpréter et de rapporter la signification clinique des variants reconnus par SNG afin d'en établir l'utilité clinique.
4. Préciser des algorithmes de traitement lorsqu'une tumeur présente plusieurs mutations somatiques pouvant faire l'objet de diverses thérapies ciblées simultanément.
5. Considérer le ratio coût-avantage découlant de l'usage de thérapies ciblées coûteuses utilisées hors indication et ayant des effets indésirables bien caractérisés.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

Selon l'American Society of Clinical Oncology (ASCO), l'analyse SNG utilisant un panel de gènes peut éventuellement entraîner des effets néfastes pour le patient, y compris la possibilité d'une intervention médicale inappropriée et le stress psychologique qui en découle, notamment si une mutation est découverte fortuitement, mais non suggérée par l'histoire familiale. En outre, l'ASCO propose de favoriser le développement de lignes directrices fondées sur les données probantes pour préciser l'usage de ces tests [Robson *et al.*, 2015].

Par ailleurs, les compagnies d'assurance américaines en soins de santé telles que Regence Blue Shield, First Choice, Healthcare Management Administrators (HMA), CIGNA, Blue Cross Blue Shield of Kansas, Federal Blue Cross et Aetna ne remboursent pas les analyses par panel de gènes. Elles considèrent que les preuves sont actuellement insuffisantes pour établir l'utilité clinique de ces analyses et les jugent plutôt comme étant de nature expérimentale³⁸.

38. Information tirée d'Aetna, Genetic testing [site Web], disponible à : http://www.aetna.com/cpb/medical/data/100_199/0140.html, et de Regence, Evaluating the utility of genetic panels, disponible à : <http://blue.regence.com/trgmedpol/geneticTesting/gt64.pdf> (consultés le 5 novembre 2015).

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

L'analyse proposée par le demandeur concerne l'usage du SNG pour détecter la présence de mutations somatiques dans les gènes *AKT1*, *BRAF*, *EGFR*, *KIT*, *KRAS*, *NRAS*, *PDGFRA* et *PIK3CA* chez des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*), d'un cancer du poumon (*EGFR*), d'un mélanome (*BRAF* et *NRAS*), de tumeurs stromales gastro-intestinales (*KIT* et *PDGFRA*), d'un cancer de la thyroïde (*BRAF* et *NRAS*) ou d'un cancer de l'endomètre et des ovaires (*AKT1* et *PIK3CA*). Selon le demandeur, cette analyse permettrait d'orienter une thérapie ciblée en précisant simultanément le statut mutationnel de gènes liés à différents types de cancer. Les médecins auraient alors plus d'options en ce qui concerne les traitements à prescrire. L'analyse proposée simplifierait l'organisation du travail, amènerait un gain quant au temps de réponse et des économies importantes pour la province en matière d'analyses en plus de permettre de traiter les patients plus rapidement.

Quatre études rétrospectives réalisées avec des patients atteints de divers cancers et dans lesquelles le SNG a été utilisé pour détecter des mutations somatiques à l'aide d'un panel de gènes ont été retenues. Il en ressort que peu (entre 11 % et 70 %) de thérapies approuvées par la FDA pourraient être utilisées pour cibler les mutations somatiques reconnues comme étant actionnables. Parmi celles-ci, un nombre encore plus limité pourraient être utilisées selon l'indication de traitement (4 % à 20 %), alors que la majorité seraient employées hors indication. Enfin, deux des quatre études retenues ont suivi, sur une courte période, quelques patients ayant reçu une thérapie ciblée, approuvée ou non, et les résultats cliniques sont mitigés.

Enfin, selon l'ASCO, il est suggéré de favoriser l'élaboration de lignes directrices fondées sur les données probantes pour préciser l'usage de ces tests [Robson *et al.*, 2015].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Panel de huit gènes - Analyse de mutations somatiques par séquençage de nouvelle génération pour le traitement personnalisé du cancer

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ L'American Society of Clinical Oncology (ASCO) mentionne que l'analyse SNG utilisant un panel de gènes peut entraîner des effets néfastes pour le patient, y compris celui d'une intervention médicale inappropriée et le stress psychologique qui en découle, notamment si une mutation est découverte fortuitement alors qu'elle n'était pas suggérée par l'histoire familiale.
- ✓ Certaines compagnies d'assurance ne remboursent pas les analyses par panel de gènes. Elles considèrent qu'actuellement les preuves sont insuffisantes pour établir l'utilité clinique de ces analyses et les jugent plutôt comme étant de nature expérimentale.
- ✓ Des incertitudes existent concernant l'accès à la thérapie ciblée approuvée (certains traitements offerts en fonction des gènes du panel du demandeur ne sont pas approuvés par Santé Canada et ne sont pas remboursés par la RAMQ).
- ✓ L'utilité clinique du test n'est pas démontrée :
 - aucun algorithme de traitement n'est disponible;
 - le positionnement du test (c.-à-d. l'utilisation des résultats) est questionné.

ANNEXE A

Système mis en place par le demandeur pour rapporter les variants

Tier	Description	LoE	Examples
1	Evidence-based recommendation on clinical utility	1	BRAF p.V600E NRAS p.Q61R
2	Promising but no definitive information on clinical utility (in the tested tumor type). Mutations may be used as an actionable biomarker in ongoing clinical trials. Informed decision making.	2	PIK3CA p.H1047R
3	Little information on clinical utility, but with pre-clinical evidence of biological activity	3	BRAF p.G465E
4	Not previously described in relevant databases such as COSMIC, dbSNP, or described without biological activity		

ANNEXE B

Sommaire des exons couverts par le panel – données fournies par le demandeur

CHROMOSOME	START	END	TOTAL	STRAND	GENE_exon	NM	
7	55 086 794	55 087 058	264	+	EGFR_x1	NM_005228	
7	55 209 979	55 210 130	151	+	EGFR_x2	NM_005228	
7	55210998	55211181	183	+	EGFR_x3	NM_005228	
7	55 214 299	55 214 433	134	+	EGFR_x4	NM_005228	
7	55 218 987	55 219 055	68	+	EGFR_x5	NM_005228	
7	55 220 239	55 220 357	118	+	EGFR_x6	NM_005228	
7	55221704	55221845	141	+	EGFR_x7	NM_005228	
7	55 223 523	55 223 639	116	+	EGFR_x8	NM_005228	
7	55232973	55233130	157	+	EGFR_x15	NM_005228	
7	55241614	55241736	122	+	EGFR_x18	NM_005228	
7	55242415	55242513	98	+	EGFR_x19	NM_005228	
7	55248986	55249171	185	+	EGFR_x20	NM_005228	
7	55 259 412	55 259 567	156	+	EGFR_x21	NM_005228	
12	25378548	25378707	159	-	KRAS_x4	NM_033360	
12	25380168	25380346	178	-	KRAS_x3	NM_033360	
12	25398208	25398318	110	-	KRAS_x2	NM_033360	
14	105246425	105246553	128	-	AKT1_x3	NM_005163	
3	178916614	178916965	351	+	PIK3CA_x2	NM_006218	
3	178921332	178921577	245	+	PIK3CA_x5	NM_006218	
3	178927974	178928126	152	+	PIK3CA_x8	NM_006218	
3	178935998	178936122	124	+	PIK3CA_x10	NM_006218	
3	178938774	178938945	171	+	PIK3CA_x14	NM_006218	
3	178951882	178952152	270	+	PIK3CA_x21	NM_006218	
7	140453075	140453193	118	-	BRAF_x15	NM_004333	
7	140481376	140481493	117	-	BRAF_x11	NM_004333	
1	115252190	115252349	159	-	NRAS_x4	NM_002524	
1	115256421	115256599	178	-	NRAS_x3	NM_002524	
1	115258671	115258781	110	-	NRAS_x2	NM_002524	
4	55561678	55561947	269	+	KIT_x2	NM_001093772	
4	55592023	55592216	193	+	KIT_x9	NM_001093772	
4	55593384	55593490	106	+	KIT_x10	NM_001093772	
4	55593582	55593708	126	+	KIT_x11	NM_001093772	
4	55594177	55594287	110	+	KIT_x13	NM_001093772	
4	55595501	55595651	150	+	KIT_x14	NM_001093772	
4	55597494	55597585	91	+	KIT_x15	NM_001093772	
4	55599236	55599358	122	+	KIT_x17	NM_001093772	
4	55602664	55602775	111	+	KIT_x18	NM_001093772	
4	55140698	55140792	94	+	PDGFRA_x11	NM_006206	
4	55141008	55141140	132	+	PDGFRA_x12	NM_006206	
4	55144063	55144173	110	+	PDGFRA_x14	NM_006206	
4	55144529	55144682	153	+	PDGFRA_x15	NM_006206	
4	55152008	55152130	122	+	PDGFRA_x18	NM_006206	

ANNEXE C

Validation de la sensibilité et de la spécificité du panel – données fournies par le demandeur

Sensitivity and Specificity of JGH Somatic Mutations Panel by NGS

The sensitivity and specificity of NGS sequencing was determined for previously validated mutation in BRAF, KRAS, NRAS, PIK3CA and EGFR using a laboratory developed test (LDT) or FDA-approved test. Post run quality control metrics of all samples met our predefined criteria (95 % $\geq$ Q30, $\geq$ 400x coverage).

	Sample with confirmed BRAF mutation	
	Wild Type	Mutant
NGS result Mutant	0	30
NGS result Wild Type	25	1
	Specificity: 100 % (83-100)	Sensitivity: 97 % (82-100 %)

	Sample with confirmed KRAS mutation	
	Wild Type	Mutant
NGS result Mutant	0	25
NGS result Wild Type	40	0
	Specificity: 100 % (89-100)	Sensitivity: 100 % (83-100 %)

	Sample with confirmed NRAS mutation	
	Wild Type	Mutant
NGS result Mutant	0	5
NGS result Wild Type	20	0
	Specificity: 100 % (80-100)	Sensitivity: 100 % (46-100 %)

	Sample with confirmed PIK3CA mutation	
	Wild Type	Mutant
NGS result Mutant	0	3
NGS result Wild Type	20	0
	Specificity: 100 % (80-100)	Sensitivity: 100 % (31-100 %)

	Sample with confirmed EGFR mutation	
	Wild Type	Mutant
NGS result Mutant	1	20
NGS result Wild Type	20	0
	Specificity: 95 % (74-100)	Sensitivity: 100 % (80-100 %)

	Sample with confirmed BRAF, KRAS, NRAS, PIK3CA, or EGFR mutation	
	Wild Type	Mutant
NGS result Mutant	1	83
NGS result Wild Type	125	1
	Specificity: 99 % (95-100)	Sensitivity: 99 % (93-100 %)

RÉFÉRENCES

- Bellacosa A, Kumar CC, Di Cristofano A, Testa JR. Activation of AKT kinases in cancer: Implications for therapeutic targeting. *Adv Cancer Res* 2005;94:29-86.
- Brodbeck D, Cron P, Hemmings BA. A human protein kinase Bgamma with regulatory phosphorylation sites in the activation loop and in the C-terminal hydrophobic domain. *J Biol Chem* 1999;274(14):9133-6.
- Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, McGreevey L, Chen CJ, Joseph N, et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 2003;299(5607):708-10.
- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998;279(5350):577-80.
- Johnson DB, Dahlman KH, Knol J, Gilbert J, Puzanov I, Means-Powell J, et al. Enabling a genetically informed approach to cancer medicine: A retrospective evaluation of the impact of comprehensive tumor profiling using a targeted next-generation sequencing panel. *Oncologist* 2014;19(6):616-22.
- Jones S, Anagnostou V, Lytle K, Parpart-Li S, Nesselbush M, Riley DR, et al. Personalized genomic analyses for cancer mutation discovery and interpretation. *Sci Transl Med* 2015;7(283):283ra53.
- Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: Genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2003;63(7):1454-7.
- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350(21):2129-39.
- Marrone M, Filipinski KK, Gillanders EM, Schully SD, Freedman AN. Multi-marker solid tumor panels using next-generation sequencing to direct molecularly targeted therapies. *PLoS Curr* 2014;6.
- Martinez-Quintana E et Rodriguez-Gonzalez F. LEOPARD syndrome: Clinical features and gene mutations. *Mol Syndromol* 2012;3(4):145-57.
- Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: Correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304(5676):1497-500.
- Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(36):13306-11.

- Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002;418(6901):934.
- Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American Society of Clinical Oncology policy statement update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2015;33(31):3660-7.
- Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004;304(5670):554.
- Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer* 2007;7(4):295-308.
- Schwaederle M, Daniels GA, Piccioni DE, Fanta PT, Schwab RB, Shimabukuro KA, et al. On the road to precision cancer medicine: Analysis of genomic biomarker actionability in 439 patients. *Mol Cancer Ther* 2015;14(6):1488-94.
- Tran B, Brown AM, Bedard PL, Winquist E, Goss GD, Hotte SJ, et al. Feasibility of real time next generation sequencing of cancer genes linked to drug response: Results from a clinical trial. *Int J Cancer* 2013;132(7):1547-55.

DOSAGE DU (1-3)- β -D-GLUCANE SÉRIQUE (RÉFÉRENCE – 2015.02.04)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : CHU de Québec – Hôtel-Dieu de Québec
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 23 décembre 2015
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r François Rousseau et la D^{re} Annie-Claude Labbé n'ont pas participé aux délibérations et ils se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, l'expert consulté est le D^r Claude Lemieux, microbiologiste-infectiologue à l'Hôpital Notre-Dame du CHUM.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique (Essai Fungitell^{MD})

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

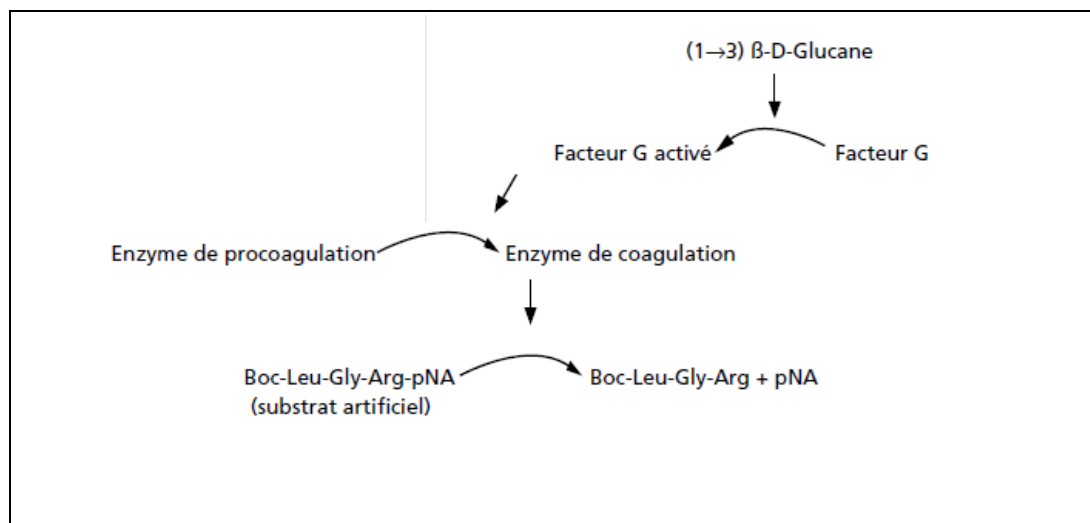
La molécule (1-3)- β -D-glucane (BDG) est un composant de la paroi cellulaire de plusieurs champignons. Le dosage quantitatif du BDG est basé sur une modification du mécanisme du lysat d'amibocyte du limule. Les amibocytes du limule ont la propriété de libérer des facteurs de coagulation lorsqu'ils sont en présence de BDG.

Le BDG active une protéase spécifique à la sérine (facteur G). Le facteur G activé convertit l'enzyme de procoagulation en enzyme de coagulation active qui clive le p-nitroaniline (pNA) d'un substrat peptidique artificiel. La quantité de pNA ainsi libérée est mesurée par son absorbance à 405 nm (figure 1). La concentration en BDG est extrapolée à partir d'une

courbe standard. L'essai Fungitell^{MD} est réalisé dans des microplaques sans étapes de lavage. Les valeurs de BDG obtenues sont interprétées comme suit [ACCI, 2011] :

- < 60 pg/ml : négatif;
- 60 à 79 pg/ml : indéterminé;
- ≥ 80 pg/ml : positif.

Figure 1 Mécanisme du lysat d'amibocyte



Source : Dépliant de la trousse Fungitell^{MD} [ACCI, 2011].

2.3 Modalités d'administration du test

Les prélèvements sanguins sont stabilisés par centrifugation puis les sérums sont acheminés au laboratoire de microbiologie de l'Hôtel-Dieu du CHU de Québec. Les prélèvements doivent être accompagnés d'une description des manifestations cliniques suggestives d'infections fongiques profondes et des conditions prédisposantes du patient.

Il s'agit d'une analyse dite de « court délai » qui sera faite dans les 3 à 4 jours ouvrables.

2.4 Société ou développeur

La trousse Fungitell^{MD} a été développée par Associates of Cape Cod, Inc. (ACCI).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Santé Canada : 82 148, délivré le 2 mars 2010

FDA : 866.3050, délivré le 22 mars 2004

2.6 Valeur pondérée : 197,14

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients gravement malades et immunosupprimés qui risquent de développer des infections fongiques invasives (IFI) telles que l'aspergillose, la candidose et la pneumocystose et qui présentent des symptômes compatibles.

3.2 Description des maladies visées

Candidose invasive

Au Canada, des mycètes du genre *Candida* sont observés dans 85 % des cas d'IFI [Haider *et al.*, 2014]. Au Québec, 453 cas de candidose invasive (CI) ont été répertoriés entre 2003 et 2005, soit un taux d'incidence annuel équivalant à 3 cas par 100 000 habitants [St-Germain *et al.*, 2008]. Le diagnostic différentiel de la CI constitue un défi clinique important, puisque la majorité des symptômes sont non spécifiques. Les premières manifestations sont celles de la septicémie et les cultures peuvent se révéler positives tardivement en cours d'infection [Enoch *et al.*, 2006]. Suivant un diagnostic de CI, la probabilité de survie à 90 jours est de 59 % [Haider *et al.*, 2014].

Aspergillose invasive

Des *Aspergillus* sont observés dans 14,4 % des cas d'IFI au Canada [Haider *et al.*, 2014]. L'aspergillose pulmonaire invasive est la principale manifestation de l'infection par des *Aspergillus spp.* chez des patients immunovulnérables. Elle se manifeste par une invasion du parenchyme pulmonaire et de l'inflammation, et elle peut se répandre par voie hématogène [Barnes et Marr, 2006]. La vitesse de progression de l'infection et l'évidence des symptômes varient selon le niveau d'immunosuppression. En effet, jusqu'à un tiers des cas d'aspergillose invasive (AI) peuvent être asymptomatiques, ce qui rend le diagnostic différentiel plus complexe [Enoch *et al.*, 2006]. Suivant un diagnostic d'AI, la probabilité de survie à 90 jours est de 66 % [Haider *et al.*, 2014].

Pneumocystose

Pneumocystis jirovecii est observé dans 4,9 % des IFI au Canada [Haider *et al.*, 2014]. La pneumocystose est une infection respiratoire opportuniste sévère. Le début de l'infection peut être insidieux et se dérouler sur plusieurs semaines ou être fulminant et progresser rapidement en quelques jours. Les principaux symptômes de la pneumocystose sont l'hypoxie, la fièvre, une toux sèche et des difficultés respiratoires [Gigliotti *et al.*, 2014]. Lorsque l'état de santé se dégrade au point de nécessiter une admission aux soins intensifs et une assistance ventilatoire, le taux de mortalité devient supérieur à 80 % [Tellez *et al.*, 2008].

3.3 Nombre de patients visés

Aucun nombre n'a été avancé par le demandeur. Toutefois, ce dernier a constaté que le recours à cette analyse a augmenté de 150 % à 200 % annuellement au cours des trois dernières années pour atteindre 440 demandes en 2014-2015.

3.4 Spécialités médicales concernées

Infectiologie, hémato-oncologie, pneumologie, soins intensifs, médecine interne

3.5 Données médico-administratives

Selon les données du ministère de la Santé et des Services sociaux, 186 analyses de dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique ont été effectuées en 2013-2014 et 440 en 2014-2015. Ces analyses ont été réparties entre deux laboratoires américains : Beacon Diagnostics

Laboratory et Mira Vista Diagnostics (tableau 1³⁹). Les deux laboratoires utilisent la trousse Fungitell^{MD} pour doser le BDG.

Tableau 1 Envois hors réseau relativement au dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique

ANNÉE	BEACON DIAGNOSTICS			MIRA VISTA			MONTANT GLOBAL (\$)
	VOLUME ANNUEL	COÛT UNITAIRE (\$)	COÛT TOTAL (\$)	VOLUME ANNUEL	COÛT UNITAIRE (\$)	COÛT TOTAL (\$)	
2012-2013	138	120	17 267	-	-	-	17 267
2013-2014	173	128,62 à 136,25	22 546	16	97,84 à 118,44	1 833	24 379

La recherche de l'antigène d'*Aspergillus*, galacto-mannane, et la recherche en immunofluorescence de *Pneumocystis jirovecii* ont respectivement été réalisées à 9 616 et 2 788 reprises pendant l'année financière 2014-2015 au Québec (tableau 2⁴⁰).

Tableau 2 Données médico-administratives québécoises d'analyses reliées au (1-3)- β -D-glucane pour la période 2014-2015

ANALYSE	CODE	VALEUR PONDÉRÉE (UNITÉS)	VOLUME	VALEUR ANNUELLE (\$)
Galacto-mannane	41001	31	9616	298 096
Pneumocystis immunofluorescence	41154	61	2788	170 068

3.6 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic de la candidose invasive repose actuellement sur la prise d'hémocultures dont la sensibilité est limitée (50 %), ce qui engendre des faux négatifs [Clancy et Nguyen, 2013]. Pour cette raison, les patients présentant des symptômes compatibles avec la CI sont traités avec des antifongiques sans attendre le résultat des hémocultures⁴¹.

Pour l'aspergillose invasive, le diagnostic repose sur la tomодensitométrie (présence de nodules pulmonaires), la recherche de galacto-mannane et l'isolement d'un *Aspergillus* à partir d'une culture de liquide broncho-alvéolaire. La sensibilité de la culture et de l'analyse en microscopie est d'environ 50 % [Schelenz *et al.*, 2015].

Pour la pneumocystose, le diagnostic repose sur la tomодensitométrie (opacité pulmonaire typique) et la mise en évidence de kystes de *P. jirovecii* par microscopie en immunofluorescence sur un liquide broncho-alvéolaire [Huang *et al.*, 2011].

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Selon le centre demandeur, le test proposé permettra de confirmer ou d'infirmer la présence d'une infection fongique profonde suspectée.

Le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique (BDG) est utile en dépistage de la pneumocystose, puisqu'il est à la fois non effractif et suffisamment sensible pour permettre d'écarter un diagnostic de pneumocystose sans procédures effractives [Onishi *et al.*, 2012].

39. Information fournie par le ministère de la Santé et des Services sociaux.

40. Information fournie par le ministère de la Santé et des Services sociaux.

41. Communications personnelles avec le D^r Claude Lemieux, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Notre-Dame du CHUM (10 septembre 2015).

Le dosage combiné du BDG et du galacto-mannane est utile pour confirmer un diagnostic d'aspergillose invasive [Lu *et al.*, 2011].

L'obtention de deux résultats positifs consécutifs pour un patient chez qui on suspecte une infection fongique invasive permet de confirmer le diagnostic [Lamoth *et al.*, 2012].

Le dosage du BDG est un test permettant de poser un diagnostic d'IFI plus rapidement qu'avec les méthodes diagnostiques conventionnelles. Son dosage répété chez des patients à risque de développer une IFI permet de déceler des preuves de celle-ci jusqu'à 25 jours précédant l'apparition de la fièvre [Senn *et al.*, 2008].

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

La revue des écrits a permis de repérer cinq méta-analyses concernant la performance du dosage du BDG relativement au diagnostic des IFI et de la pneumocystose. Un tableau-synthèse du devis des méta-analyses est présenté à l'annexe A.

Les publications retenues relativement au diagnostic des IFI sont les suivantes :

- Hou et ses collègues [2015] (11 études de cohorte prospective);
- Onishi et ses collègues [2012] (31 études traitant seulement des infections invasives à *Candida* et à *Aspergillus*);
- Lamoth et ses collègues [2012] (6 études de cohorte incluant plus de 50 % de patients en hémato-oncologie et à risque de développer une IFI);
- Lu et ses collègues [2011] (13 études incluant des patients immunosupprimés ou à risque de développer une IFI).

Les publications retenues relativement au diagnostic de la pneumocystose sont les suivantes :

- Karageorgopoulos et ses collègues [2013] (14 études);
- Onishi et ses collègues [2012] (12 études).

Les méta-analyses traitant du diagnostic des IFI ont toutes utilisé les critères de l'EORTC/MSG comme référence diagnostique (annexe B). De plus, d'autres comparateurs ont pu être employés, tels que les résultats d'autopsie (Lu, Hou et Karageorgopoulos), d'hémocultures, de cultures de matériel stérile (Hou), d'examens histopathologiques (Hou et Karageorgopoulos), de cytologie ou de microscopie (Onishi et Karageorgopoulos) et de PCR (Karageorgopoulos).

Pour certaines méta-analyses, l'admissibilité des études reposait également sur la présence d'une variété d'agents pathogènes ou, au contraire, sur la présence de pathogènes spécifiques. Afin de ne pas surestimer la spécificité du test pour déceler le BDG, les études primaires ayant recruté des patients sains comme témoins n'ont été retenues dans aucune méta-analyse, à l'exception de celle d'Onishi et ses collègues [2012]. Une analyse de sous-groupe de laquelle les témoins sains ont été exclus a toutefois été réalisée.

Infections fongiques invasives (performances globales)

Les données de performance globale sont présentées au tableau 3. De façon générale, le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique relativement au diagnostic des infections fongiques invasives présente les données de performance suivantes :

- Sensibilité de 61,5 % à 80 %;
- Spécificité de 82 % à 90,8 %;
- Aire sous la courbe ROC de 0,85 à 0,89. Hou et ses collègues [2015] précisent qu'une aire sous la courbe ROC entre 0,80 et 0,90 indique que l'analyse présente une bonne performance. Quant à Onishi, il conclut que la performance diagnostique du BDG pour les IFI est modérée;
- Rapport de cotes diagnostiques de 16,3 à 25,7.

Une hétérogénéité significative était observable entre les résultats des études incluses dans trois des méta-analyses ($I^2 = 71,6 \%$, 79% et $74,35 \%$) [Hou *et al.*, 2015; Lamoth *et al.*, 2012; Onishi *et al.*, 2012]. Quant à la quatrième, une hétérogénéité élevée a été remarquée sur tous les indices (données non fournies) [Lu *et al.*, 2011].

Tableau 3 Performance globale du BDG pour détecter les infections fongiques invasives

ÉTUDE (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	RAPPORT DE COTES [IC95 %]	AIRE SOUS LA COURBE ROC [IC95 %]	HÉTÉROGÉNÉITÉ ENTRE LES ÉTUDES
Hou, 2015 (11)	75 [63-84]	87 [81-92]	19,53 [11,16-34,18]	0,89 [0,86-0,91]	$I^2 = 74,35 \%$
Onishi, 2012 (31)	80 [77-82]	82 [81-83]	25,7 [15,0-44,1]	0,88 [0,82-0,93]	Q = 144,33 P < 0,001 $I^2 = 79 \%$
Lamoth, 2012* (5)	61,5 [48,3-73,2]	90,8 [83,4-95,1]	16,30 [6,52-40,76]	ND	P=0,007 $I^2 = 71,6 \%$
Lu, 2011 (13)	76 [67-83]	85 [73-92]	18,04 ⁴²	0,85 [0,81-0,88]	Hétérogénéité élevée notée sur tous les indices (données non fournies)

Sigles : ND : non déterminé; RC : rapport de cotes.

*Les analyses ont été réalisées selon que la définition d'un positif est l'obtention d'un seul résultat ou de deux résultats consécutifs au-dessus de la valeur seuil. Les données de l'étude de Lamoth qui ont été retenues par l'INESSS pour l'analyse sont celles basées sur l'obtention d'un seul résultat.

42. Le rapport de cotes diagnostiques a été calculé par l'INESSS en divisant le rapport de vraisemblance positif ($LR+ = 5,05$) par le rapport de vraisemblance négatif ($LR- = 0,28$) : $RC = LR+/LR-$.

Analyses de sous-groupes

1. Performances du test pour détecter le BDG relativement au diagnostic de l'AI et de la CI

Les valeurs de sensibilité et de spécificité établies pour le diagnostic de l'AI et de la CI individuellement sont semblables pour les deux types d'infection et entre les méta-analyses (sensibilité : 57 % à 81 % et spécificité : 77 % à 83 %), à l'exception de celles déterminées par Lamoth (AI et CI : spécificité 97 %) (tableaux 4 et 5).

Tableau 4 Performances du BDG pour la candidose invasive

ÉTUDE (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	RAPPORT DE COTES [IC95 %]	AIRE SOUS LA COURBE ROC [IC95 %]
Hou, 2015 (4)	80 [67-90]	77 [67-89]	25,43 [13,10-49,86]	0,88 [0,83-0,98]
Onishi, 2012 (19)	81 [77-85]	81 [80-83]	25,7 [12,9-51,2]	0,90 [0,85-0,95]
Lamoth, 2012 (2)	73 [57-85]	97 [95-98]	177,6 [16,1-1954,2]	ND
Lu, 2011 (8)	77,9 [ND]	ND	ND	ND

Tableau 5 Performances du BDG pour l'aspergillose invasive

ÉTUDE (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	RAPPORT DE COTES [IC95 %]	AIRE SOUS LA COURBE ROC [IC95 %]
Hou, 2015 (6)	73 [62-86]	81 [64-85]	23,15 [10,40-58,90]	0,85 [0,70-0,95]
Onishi, 2012 (17)	77 [71-82]	83 [82-85]	23,2 [9,9-54,4]	0,86 [0,77-0,94]
Lamoth, 2012 (4)	57 [33-83]	97 [96-98]	79,1 [21,0-298,6]	ND
Lu, 2011 (11)	76,8 [ND]	ND	ND	ND

En combinant l'usage du BDG et du galacto-mannane pour confirmer les cas d'aspergillose invasive, la sensibilité diminuait à 55 % alors que la spécificité augmentait à 98 % [IC95 % : 95-99] (tableau 6) [Lu *et al.*, 2011].

Tableau 6 Performances du BDG combiné au galacto-mannane pour l'aspergillose invasive

ÉTUDE (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	RAPPORT DE COTES [IC95 %]	AIRE SOUS LA COURBE ROC [IC95 %]
Lu, 2011 (7)	55 [44-61]	98 [95-99]	58,29 ⁴³	0,80 [0,76-0,83]

2. Performances du test pour détecter le BDG relativement à la trousse Fungitell^{MD}

Les données de performance combinées de la trousse Fungitell^{MD} pour le diagnostic des IFI sont présentées au tableau 7. Globalement, la trousse présente une sensibilité de 70 % à 82 %, une spécificité de 77 % à 86 %, un rapport de cotes de 11,22 à 26,52 et une aire sous la courbe ROC de 0,80 à 0,90. Lu et ses collègues ont noté que la trousse offrant la plus grande sensibilité était Fungitec^{MD} (86 %) et que celle offrant la plus grande spécificité était Wako^{MD} (97 %). Lamoth conclut que les différentes trousse présentent une performance diagnostique similaire. Par contre, dans l'analyse d'Onishi, la performance diagnostique de Fungitell^{MD} est statistiquement plus faible que celle de Fungitec G^{MD} et de Wako^{MD} (valeurs p non fournies).

43. Le rapport de cotes diagnostiques a été calculé par l'INESSS en divisant le rapport de vraisemblance positif (LR+ = 27,98) par le rapport de vraisemblance négatif (LR- = 0,48) : RC = LR+/LR-.

Tableau 7 Performance des différentes trousse de dosage du (1-3)- β -D-glucane pour le diagnostic des infections fongiques invasives

ÉTUDE (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	RAPPORT DE COTES [IC95 %]	AIRE SOUS LA COURBE ROC [IC95 %]
Hou, 2015 Fungitel ^{MD} (6)	82 [68-90]	86 [77-92]	26,52 [11,72-60,07]	0,90 [0,88-0,93]
Onishi, 2012 Fungitel ^{MD} (15) Fungitec ^{MD} (7) Wako ^{MD} (5)	75 [71-79] 89 [83-93] 84 [77-90]	77 [75-79] 90 [88-92] 90 [87-92]	12,0 [6,1-23,7] 100,7 [23,2-437,6] 60,1 [11,2-321,3]	0,86 [0,79-0,93] 0,96 [0,96-1,00] 0,94 [0,86-1,00]
Lamoth, 2012 Fungitel ^{MD} (4) Wako ^{MD} et Maruha ^{MD} (2)	70 [ND] 76 [ND]	81 [ND] 77 [ND]	ND ND	0,8002 [ND] 0,8448 [ND]
Lu, 2011 Fungitel ^{MD} (8) Fungitec ^{MD} (ND) Wako ^{MD} (ND)	75 [67-82] 86 [ND] 63 [ND]	79 [61-90] ND 97 [ND]	11,22 ⁴⁴ ND ND	0,80 [0,76-0,83] ND ND

3. Performances du test pour déceler le BDG relativement aux caractéristiques de la population cible

La performance de l'analyse en fonction de différentes populations a également été évaluée par Lu et ses collègues (tableau 8). Globalement, le test pour déceler le BDG présente de meilleures données de performance relativement au diagnostic d'une IFI chez les patients atteints de désordres hématologiques comparativement à ceux qui ont reçu une greffe d'organe (sensibilité : 76 % contre 66 %, spécificité : 95 % contre 45 %). Toutefois, cette conclusion devrait être interprétée avec précaution, puisqu'une hétérogénéité significative existe entre les données présentées pour les différentes populations (données non fournies).

Tableau 8 Performances diagnostiques du BDG chez des patients présentant différents facteurs de risque

PARAMÈTRES (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]
Désordres hématologiques (5)	76 [63-89]	95 [90-99]
Patients admis aux soins intensifs (2)	82 [63-100]	67 [26-100]
Receveurs d'une greffe d'organe (2)	66 [42-90]	45 [3-86]

Pneumocystose (performances globales)

Les méta-analyses traitant spécifiquement du diagnostic de la pneumocystose par le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique présentent respectivement les données de performance suivantes [Karageorgopoulos *et al.*, 2013; Onishi *et al.*, 2012] :

- Sensibilité de 94,8 et 96 %;
- Spécificité de 84 et 86,3 %;
- Aire sous la courbe ROC de 0,96 et 0,965;

44. Le rapport de cotes diagnostiques a été calculé par l'INESSS en divisant le rapport de vraisemblance positif (LR+ = 3,59) par le rapport de vraisemblance négatif (LR- = 0,32) : RC = LR+/LR-.

- Rapport de cotes diagnostique de 102,3 et 113,7. L'hétérogénéité des résultats obtenus selon les diverses études retenues de ces deux méta-analyses n'était pas significative.

Karageorgopoulos et ses collègues [2013] ont déterminé que le BDG a une sensibilité de 94,8 % et une spécificité de 86,3 % pour le diagnostic de la pneumocystose chez des patients porteurs du VIH ainsi que chez ceux présentant des hémopathies malignes ou d'autres facteurs de risque sous-jacents. Ils ajoutent que le rapport de vraisemblance négatif (*negative likelihood ratio*) de 0,06 [IC95 % : 0,03-0,11] indique qu'il est peu probable d'obtenir un résultat négatif chez un patient atteint de pneumocystose. Finalement, l'aire sous la courbe ROC > 0,90 indique une précision diagnostique très élevée du BDG pour le diagnostic de la pneumocystose.

Tous deux concluent que la sensibilité observée du BDG permet son utilisation comme test de dépistage de la pneumocystose [Karageorgopoulos *et al.*, 2013; Onishi *et al.*, 2012] (tableau 9).

Tableau 9 Performance globale du dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique pour le dépistage de la pneumocystose

MÉTA-ANALYSE (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	RAPPORT DE COTES [IC95 %]	AIRE SOUS LA COURBE ROC [IC95 %]	HÉTÉROGÉNÉITÉ ENTRE LES ÉTUDES
Karageorgopoulos, 2013 (14)	94,8 [90,8-97,1]	86,3 [81,7-89,9]	113,7 [55,7-232,3]	0,965 [0,945-0,978]	Q = ND P = 0,31 I ² = ND
Onishi, 2012 (12)	96 [92-98]	84 [83-86]	102,3 [59,2-176,6]	0,96 [0,94-0,99]	Q = 7,24 P = 0,77 I ² = 0 %

Abréviation : ND : non déterminé.

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la recherche du (1-3)- β -D-glucane sérique n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de l'infection fongique.

4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la recherche du (1-3)- β -D-glucane sérique n'a pas pour objectif d'orienter ou de modifier les choix de traitement.

4.4 Validité analytique

Données de la trousse Fungitell^{MD}

Pour la détection des IFI (y inclus la cryptococcose), les données de validation apparaissant dans la monographie de la trousse Fungitell^{MD} présentent une sensibilité de 65,0 % [IC95 % : 60,1-70,0] et une spécificité de 81,1 % [IC95 % : 77,1-85,2]. La sensibilité de la trousse était de 69,5 % [IC95 % : 61,2-77,8] chez les patients recevant un traitement antifongique et de 75,0 % [IC95 % : 57,7-92,3] chez ceux qui n'en recevaient pas [ACCI, 2011].

Pour la détection de la CI, la trousse Fungitell^{MD} a présenté une sensibilité de 82,9 % sur une sérothèque de 175 échantillons [ACCI, 2011].

La répétabilité de la trousse Fungitell^{MD} a été déterminée par la reprise de 6 spécimens par 3 centres médicaux à 3 jours différents. Les variations intraessais et interessais ont respectivement été de 0,9 à 28,9 % et de 3,9 à 23,8 %. La comparaison des résultats de 285 spécimens testés par le fabricant et quatre centres hospitaliers a donné lieu à une reproductibilité intercentres de 96,4 % [ACCI, 2011].

Limites du test :

- *Cryptococcus spp.* produit de faibles taux de BDG;
- Les zygomycètes, dont *Absidia spp.*, *Mucor spp.* et *Rhizopus spp.*, ne sont pas connus pour produire du BDG;
- *Blastomyces dermatitidis* en phase de levure produit peu de BDG;
- Certains individus ont des taux de BDG qui tombent dans la zone indéterminée.

Les conditions suivantes spécifiques aux échantillons peuvent créer une interférence avec un résultat précis de dosage Fungitell^{MD} :

- Hémolyse
- Lipémie
- Présence de bilirubine
- Sérum trouble

Validation externe de la trousse Fungitell^{MD}

L'Associated Regional University Pathologists Inc. (ARUP) a réalisé une étude de validation de la trousse Fungitell^{MD} pour contribuer au diagnostic des IFI [Pickering, 2005]. Le dosage du BDG a été réalisé sur des échantillons sériques provenant de donneurs sains (36), d'hémocultures positives à levures (15) et à bactéries (25) et de patients chez qui on suspectait l'histoplasmosse (16) ou l'aspergillose (64). Les résultats obtenus ont été interprétés en fonction des valeurs seuils recommandées de la trousse Fungitell^{MD}. Celle-ci a présenté une sensibilité de 93,3 % et une spécificité de 77,2 %.

Afin de vérifier la reproductibilité de la trousse entre les divers laboratoires, l'ARUP a effectué une mesure du BDG sur 49 spécimens et les a acheminés au fabricant pour comparaison. Neuf (9) échantillons ont présenté des résultats discordants entre les 2 centres. Un coefficient de corrélation (R^2) de 0,9892 a été calculé [Pickering *et al.*, 2005].

La reproductibilité interessai du test pour détecter le BDG a été mesurée pendant 3 jours à partir de 15 sérums de concentration variant de 85 pg/ml à 2197 pg/ml. Le coefficient de variation (CV) maximal enregistré était de 16,8 %, et ce, pour un spécimen d'une concentration de 85 pg/ml de BDG. La reproductibilité intraessai a été analysée avec quatre sérums testés en triplicate lors d'un même essai. Un CV maximal de 4,8 % a été obtenu avec un spécimen d'une concentration de 181 pg/ml de BDG [Pickering *et al.*, 2005].

Les bactéries *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Nocardia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus spp.* peuvent générer des résultats faux positifs au dosage du BDG [Koncan *et al.*, 2015; Worasilchai *et al.*, 2015].

Des faux positifs au dosage du BDG peuvent survenir lorsque les antibiotiques suivants sont utilisés : colistine, ertapénem, céfazoline, triméthoprime-sulfaméthoxazole, céfotaxime, céfépime et ampicilline-sulbactam [Marty *et al.*, 2006], pipéracilline-tazobactam, amoxicilline et amoxicilline-clavulanate [Sulahian *et al.*, 2014].

Des membranes de cellulose utilisées en hémodialyse peuvent engendrer des résultats faux positifs au dosage du BDG [Kanda *et al.*, 2001]. L'usage de membranes de cellulose lors de la production de produits sanguins fractionnés (facteurs de coagulation, albumine, immunoglobulines) peut également causer des faux positifs [Nagasawa *et al.*, 2003; Usami *et al.*, 2002].

Des spécimens lipémiques peuvent engendrer des résultats faux négatifs alors que des spécimens hémolysés peuvent provoquer des résultats faux positifs [Pickering *et al.*, 2005].

4.5 Données fournies par le demandeur

Aucune donnée de validation locale n'est disponible, puisque l'analyse est effectuée par des laboratoires hors réseau.

Le demandeur envisage d'effectuer des contrôles internes pour chaque analyse. Les analyses seront menées en duplicata et les résultats discordants feront l'objet d'une reprise. À titre de contrôle externe, le laboratoire du demandeur compte participer à un programme d'échange de spécimens avec des centres hospitaliers européens⁴⁵.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

N'ont pas été analysés.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

N'ont pas été analysés.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

L'Infectious Diseases Society of America (IDSA) et l'American Society for Microbiology (ASM) recommandent le dosage du BDG sérique pour le diagnostic de l'aspergillose dans les situations suivantes :

- Hôte immunocompromis;
- Infection du liquide pleural;
- Pneumonie nosocomiale;
- Pneumonie associée à la ventilation mécanique [Baron *et al.*, 2013].

L'Association pour la microbiologie médicale et l'infectiologie Canada (AMMI Canada) décrit le dosage du BDG sérique comme un test prometteur (2010) et elle le mentionne à titre de test utilisé pour prédire un diagnostic de candidémie ou de candidose invasive dans les unités de soins intensifs [Bow *et al.*, 2010].

Dans la version 1.2013 des lignes directrices du National Comprehensive Cancer Network (NCCN) concernant la prévention et le traitement des infections associées au cancer, on indique que le dosage du BDG est une analyse recommandée pour l'évaluation de patients à risque de développer des infections fongiques et qui présentent des infiltrats pulmonaires. Dans ce cas, un résultat positif au test pour déceler le BDG suggère la présence d'une pneumonie fongique [NCCN, 2013].

Les recommandations de la British Society for Medical Mycology (BSMM), publiées en 2015, mentionnent que le dosage du BDG est indiqué pour établir le diagnostic présomptif d'IFI.

45. Communication personnelle avec le D^r René Pelletier, microbiologiste-infectiologue, Hôtel-Dieu de Québec (15 octobre 2015).

On indique également que l'analyse est très utile pour formuler le diagnostic de la pneumocystose, et ce, particulièrement lorsqu'un spécimen des voies respiratoires inférieures ne peut être prélevé. Le dosage du BDG sérique chez des patients à haut risque d'être atteints d'une IFI devrait être considéré; un résultat négatif permet d'exclure une IFI [Schelenz *et al.*, 2015].

Le dosage du BDG sérique a été recommandé par un comité d'experts de l'European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) [2012] pour établir le diagnostic de la candidémie, de la candidose invasive et de la candidose disséminée chronique [Cuenca-Estrella *et al.*, 2012].

L'European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group et le National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) ont révisé le critère diagnostique d'une infection fongique invasive en 2008 et ils y ont inclus le dosage du BDG sérique [De Pauw *et al.*, 2008].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique contribue au diagnostic de l'aspergillose invasive, de la candidose invasive ainsi que de la pneumocystose. Ces infections présentent généralement des symptômes non spécifiques et surviennent chez des patients affaiblis et présentant des facteurs de risque. Les outils diagnostiques actuellement disponibles sont limités, peu sensibles, les délais peuvent être importants avant d'obtenir les résultats et certains sont effractifs.

Les avantages de l'analyse sont :

- La détection des principaux agents causant des infections fongiques invasives par un test non effractif;
- Une plus grande sensibilité que l'hémoculture pour diagnostiquer la candidose invasive (sensibilité : 73 à 80 %);
- Une sensibilité de 96 % pour dépister la pneumocystose permet d'écarter l'infection en présence d'un résultat négatif et d'éviter des prélèvements effractifs chez ces patients;
- En association avec la détection du galacto-mannane, permet de confirmer l'aspergillose invasive (spécificité : 98 %);
- L'analyse du BDG chez des patients à risque d'IFI permet de diagnostiquer l'infection plus rapidement qu'avec les méthodes diagnostiques conventionnelles.

Les groupes suivants recommandent le dosage du BDG :

- L'Infectious Diseases Society of America et l'American Society for Microbiology, pour le diagnostic de l'aspergillose;
- La British Society for Medical Mycology, pour le diagnostic présomptif de la pneumocystose;
- L'European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, pour le diagnostic de la candidémie et de la candidose disséminée chronique;
- Le National Comprehensive Cancer Network, pour l'évaluation des patients à risque de développer des infections fongiques;
- L'European Organization for Research and Treatment of Cancer et le Mycoses Study Group, pour la présence probable d'une IFI.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Aucune stratégie n'est mise en place par le laboratoire demandeur pour réduire les variations intraessais et interessais (respectivement de 0,9 à 28,9 % et de 3,9 à 23,8 %).
- ✓ Aucun algorithme clinique n'est joint à la demande.
- ✓ La population ciblée par l'analyse devrait être mieux circonscrite.
- ✓ Aucune donnée de validation locale obtenue par le laboratoire demandeur n'est présentée avec la trousse.
- ✓ Considérant l'importance de ne pas pénaliser les patients qui ont besoin de ce test, le comité recommande au MSSS de maintenir la possibilité que cette analyse soit disponible hors Québec.

RÉFÉRENCES

- Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: An international consensus. *Clin Infect Dis* 2002;34(1):7-14.
- Associates of Cape Cod Incorporated (ACCI). Fungitell – Dosage de (1->3)- β -D-Glucane sérique. Falmouth, MA : ACCI; 2011. Disponible à : http://www.acciusa.com/pdfs/accProduct/Fungitell_multilang_pisheets/Fungitell%20Insert%20FR.pdf.
- Barnes PD et Marr KA. Aspergillosis: Spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20(3):545-61, vi.
- Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB Jr, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57(4):e22-e121.
- Bow EJ, Evans G, Fuller J, Laverdiere M, Rotstein C, Rennie R, et al. Canadian clinical practice guidelines for invasive candidiasis in adults. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2010;21(4):e122-50.
- Clancy CJ et Nguyen MH. Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: How nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis* 2013;56(9):1284-92.
- Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: Diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(Suppl 7):9-18.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008;46(12):1813-21.
- Enoch DA, Ludlam HA, Brown NM. Invasive fungal infections: A review of epidemiology and management options. *J Med Microbiol* 2006;55(Pt 7):809-18.
- Gigliotti F, Limper AH, Wright T. *Pneumocystis*. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014;4(12):a019828.
- Haider S, Rotstein C, Horn D, Laverdiere M, Azie N. The Prospective Antifungal Therapy Alliance® registry: A two-centre Canadian experience. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2014;25(1):17-23.

- Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The screening performance of serum 1,3-beta-D-glucan in patients with invasive fungal diseases: A meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS One* 2015;10(7):e0131602.
- Huang L, Cattamanchi A, Davis JL, den Boon S, Kovacs J, Meshnick S, et al. HIV-associated *Pneumocystis pneumonia*. *Proc Am Thorac Soc* 2011;8(3):294-300.
- Kanda H, Kubo K, Hamasaki K, Kanda Y, Nakao A, Kitamura T, et al. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1->3)-beta-D-glucan level. *Kidney Int* 2001;60(1):319-23.
- Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of beta-D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: A meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2013;19(1):39-49.
- Koncan R, Favuzzi V, Ligozzi M, Sorrentino A, Cornaglia G, Cascio GL. Cross-reactivity of *Nocardia* spp. in the fungal (1-3)-beta-D-glucan assay performed on cerebral spinal fluid. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015;81(2):94-5.
- Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β -glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: A systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis* 2012;54(5):633-43.
- Lu Y, Chen YQ, Guo YL, Qin SM, Wu C, Wang K. Diagnosis of invasive fungal disease using serum (1->3)-beta-D-glucan: A bivariate meta-analysis. *Intern Med* 2011;50(22):2783-91.
- Marty FM, Lowry CM, Lempitski SJ, Kubiak DW, Finkelman MA, Baden LR. Reactivity of (1->3)-beta-D-glucan assay with commonly used intravenous antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(10):3450-3.
- Nagasawa K, Yano T, Kitabayashi G, Morimoto H, Yamada Y, Ohata A, et al. Experimental proof of contamination of blood components by (1->3)-beta-D-glucan caused by filtration with cellulose filters in the manufacturing process. *J Artif Organs* 2003;6(1):49-54.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Clinical practice guidelines in oncology – Version 1.2013: Prevention and treatment of cancer-related infections. Fort Washington, PA : NCCN; 2013. Disponible à : http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, et al. Diagnostic accuracy of serum 1,3-beta-D-glucan for *pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2012;50(1):7-15.
- Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2005;43(12):5957-62.
- Schelenz S, Barnes RA, Barton RC, Cleverley JR, Lucas SB, Kibbler CC, Denning DW. British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases. *Lancet Infect Dis* 2015;15(4):461-74.

- Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M, Asahi N, Satomura S, et al. 1,3-beta-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis* 2008;46(6):878-85.
- St-Germain G, Laverdière M, Pelletier R, René P, Bourgault AM, Lemieux C, Libman M. Epidemiology and antifungal susceptibility of bloodstream *Candida* isolates in Quebec: Report on 453 cases between 2003 and 2005. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2008;19(1):55-62.
- Sulahian A, Porcher R, Bergeron A, Touratier S, Raffoux E, Menotti J, et al. Use and limits of (1-3)-beta-D-glucan assay (Fungitell), compared to galactomannan determination (Platelia *Aspergillus*), for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2014;52(7):2328-33.
- Tellez I, Barragan M, Franco-Paredes C, Petraro P, Nelson K, Del Rio C. *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in patients with AIDS in the inner city: A persistent and deadly opportunistic infection. *Am J Med Sci* 2008;335(3):192-7.
- Usami M, Ohata A, Horiuchi T, Nagasawa K, Wakabayashi T, Tanaka S. Positive (1->3)-beta-D-glucan in blood components and release of (1->3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters for blood processing. *Transfusion* 2002;42(9):1189-95.
- Worasilchai N, Leelahavanichkul A, Kanjanabuch T, Thongbor N, Lorvinitnun P, Sukhontasing K, et al. (1->3)-beta-D-glucan and galactomannan testing for the diagnosis of fungal peritonitis in peritoneal dialysis patients, a pilot study. *Med Mycol* 2015;53(4):338-46.

ANNEXE A

Description du devis des méta-analyses évaluant la performance du dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique

MÉTA-ANALYSES	TESTS	PATIENTS	N ÉTUDES (N PATIENTS)	ANNÉE DES ÉTUDES	TYPES D'INFECTION	COMPARATEURS		
						EORTC/MSG		AUTRES
						POSITIFS	NÉGATIFS	
Lu, 2011	Fungitell ^{MD} , Fungitec ^{MD} , Wako ^{MD}	HM, GOS, SI	13 (1708)	2004-2010	IFI	Démontrées et probables	Possibles et exempts	Autopsie
Lamoth, 2012	Fungitell ^{MD} , Fungitec ^{MD} , Wako ^{MD} , Maruha ^{MD}	HM, RCS	6 (1771)	2000-2008	IFI	Démontrées et probables	Possibles et exempts	-
Hou, 2015	Fungitell ^{MD} , Fungitec ^{MD} , Wako ^{MD} , GKT-25M ^{MD}	HM, GOS, divers	11 (1068)	2004-2011	IFI (AI, CI)	Démontrées et probables	Possibles et exempts	Hémoculture, culture de matériel stérile, autopsie ou examen histopathologique
Onishi, 2012	Fungitell ^{MD} , Fungitec ^{MD} , Wako ^{MD} , GKT-25M ^{MD}	HM, VIH, SI, GOS	36 (5453)	1995-2011	AI, CI	Démontrées et probables	Possibles et exempts	-
					P	-	-	Cytologie, examen direct des expectorations ou d'un liquide broncho-alvéolaire
Karageorgopoulos, 2013	Fungitell ^{MD} , Fungitec ^{MD} , Wako ^{MD}	HM, VIH, RCS, GOS	14 (2800)	1996-2010	P	-	-	Microscopie sur des expectorations ou sur un liquide broncho-alvéolaire

Sigles et abréviations : AI : aspergillose invasive; CI : candidose invasive; HM : hémopathies malignes; RCS : receveur de cellules souches; IFI : infections fongiques invasives;

P : pneumocystose; SI : soins intensifs; GOS : greffés d'organe solide.

Les méta-analyses de Lamoth et Hou ont utilisé les valeurs seuils recommandées pour les différentes trousse. Celles de Lu et de Karageorgopoulos ont utilisé les valeurs seuils se rapprochant le plus de celles recommandées si plus d'une valeur seuil était utilisée dans les études. Onishi a plutôt employé la valeur seuil offrant la meilleure performance dans les études lorsqu'elles en utilisaient plus d'une.

ANNEXE B

Les critères EORTC/MSG

L'European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group (EORTC) et le National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (MSG - États-Unis) ont publié en 2002 des définitions standardisées des infections fongiques invasives, destinées à la recherche clinique et épidémiologique (critères EORTC/MSG) [Ascioglu *et al.*, 2002]. Ces critères classaient les patients en trois niveaux de probabilité d'un diagnostic d'IFI qui se développe soit chez un patient immunosupprimé, un patient qui a un cancer ou chez des greffés de cellules souches. Ces groupes comprenaient les IFI démontrées (*proven*), probables ou possibles.

Une infection démontrée requerrait seulement qu'un champignon soit détecté par analyse histologique ou par culture d'un spécimen de tissu d'un site infecté. Par opposition, les infections probables et possibles reposaient sur trois conditions :

1. un facteur propre à l'hôte, qui le rend à risque;
2. des signes et symptômes correspondant à la présence d'une IFI;
3. des preuves d'IFI obtenues autrement que par la culture ou la microscopie, mais qui sont indirectes comme la détection d'un antigène.

En 2008, les critères ont été réévalués afin de corriger certaines limites en plus d'incorporer les nouvelles méthodes d'imagerie et de nouveaux tests de laboratoire (dont le dosage du BDG) [De Pauw *et al.*, 2008].

ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE *CSF3R* (RÉCEPTEUR DU G-CSF)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Hôpital Maisonneuve-Rosemont

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 23 décembre 2015

1.3 Date de publication de l'avis : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r Lambert Busque et la D^{re} Annie-Claude Labbé n'ont pas participé aux délibérations et ils se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, l'expert consulté est le D^r Olivier Larochelle, hémato-oncologue au CHU de Québec.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Analyse mutationnelle du gène codant pour le récepteur du G-CSF (*G-CSFR*, *granulocyte colony-stimulating factor receptor*⁴⁶) par séquençage direct de type Sanger.

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

La recherche de mutations du gène codant pour le récepteur du G-CSF (*CSF3R*) permettra de confirmer le diagnostic de leucémie neutrophilique chronique (LNC) et de leucémie myéloïde chronique atypique (LMCa). Elle permettra également d'orienter le traitement en fonction des mutations détectées. Dans le cas de la neutropénie congénitale sévère (NCS), la détection de mutations du gène *CSF3R* permettra de reconnaître les patients à risque de transformation leucémique.

46. Le gène codant pour le récepteur du G-CSF est aussi appelé *CSF3R* (*colony-stimulating factor 3 receptor*).

La recherche de mutations sera réalisée à l'aide de la méthode de séquençage Sanger [Sanger *et al.*, 1977]. Le principe de cette méthode de séquençage dite par terminaison de chaîne consiste à engager la polymérisation de l'ADN à l'aide d'une amorce complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer préalablement amplifié par PCR. L'élongation de l'amorce est réalisée par un ADN polymérase en présence des quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) ainsi que d'une faible concentration de didésoxyribonucléotides marqués d'un fluorochrome unique (ddNTP*) : ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP. L'incorporation aléatoire d'un ddNTP* en cours d'élongation provoque l'arrêt de la polymérisation du nouveau brin. Il en résulte un mélange de fragments d'ADN de tailles variables qui se terminent tous par un nucléotide marqué. Les fragments sont ensuite séparés en fonction de leur taille par électrophorèse capillaire, puis détectés au moyen d'un laser qui excite le fluorochrome du ddNTP terminal. La séquence des fluorochromes, analysée par ordinateur, correspond à celle des bases de l'ADN original.

Plus précisément, le centre demandeur utilisera la trousse Qiaquick de Qiagen pour la purification des produits PCR, la trousse Big Dye 3.1 (Applied Biosystems, Life Technologies) pour la réaction de séquençage et la trousse DyeEx de Qiagen pour la purification des produits de séquençage. La séquence sera résolue sur le séquenceur ABI 3130XL puis analysée avec le logiciel Sequencher v.4.9. Les amorces utilisées pour les réactions de PCR et de séquençage ont été conçues par le demandeur.

Les réactions de séquençage seront effectuées dans les directions sens et antisens puis comparées entre elles. Si les séquences diffèrent, l'analyse sera reprise. Par ailleurs, les séquences obtenues seront comparées à la séquence de référence. Les mutations détectées seront confirmées en reprenant le séquençage à partir de nouveaux produits de PCR.

Le séquençage du gène *CSF3R* permettra de détecter deux types de mutations : les mutations juxtamembranaires (extracellulaires) et les mutations de la région C-terminale (intracellulaires) [Tefferi *et al.*, 2015; Maxson *et al.*, 2014]. Ces mutations, respectivement trouvées dans les exons 14 et 17 du gène *CSF3R*, touchent différentes voies de signalisation pouvant être ciblées par divers inhibiteurs de la tyrosine kinase.

Les mutations juxtamembranaires (surtout faux sens) ont la capacité d'induire la signalisation intracellulaire en l'absence du ligand G-CSF [Maxson *et al.*, 2014]. La plus prévalente est la mutation T618I [Maxson *et al.*, 2013]. Les mutations intracellulaires (surtout non-sens ou de décalage du cadre de lecture) résultent en la troncation de la portion cytoplasmique du récepteur, induisant sa surexpression et une hypersensibilité au ligand [Maxson *et al.*, 2014].

2.3 Modalités d'administration du test

Cette analyse utilise l'ADN génomique extrait d'échantillons de sang ou de moelle osseuse comme matériel de départ.

Pour les neutropénies congénitales, le test sera fait à la demande d'un hématologue, avec les renseignements cliniques indiquant le diagnostic de neutropénie congénitale idiopathique.

Pour la LNC et la LMC atypique, l'investigation sera faite pour des patients avec leucocytose et dont le bilan est négatif pour le BCR-ABL1 et JAK2V617F.

Le temps de réponse (phase analytique) de cette analyse est de 15 jours ouvrables.

La validation finale du séquençage est effectuée par le directeur médical du laboratoire de diagnostic moléculaire dans un délai maximal de 30 jours postprélèvement.

2.4 Société ou développeur

Protocole maison

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Cette analyse et les technologies utilisées n'ont fait l'objet d'aucune homologation par Santé Canada ou la FDA.

2.6 Valeur pondérée : 170,00

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les indications cliniques ciblées sont la leucémie neutrophilique chronique (LNC), la leucémie myéloïde chronique atypique (LMCa) et la neutropénie congénitale sévère (NCS).

3.2 Description des maladies visées

Le récepteur du G-CSF joue un rôle prépondérant dans la croissance et la différenciation des granulocytes [Beekman et Touw, 2010]. Des mutations du gène *CSF3R* ont été décrites chez les patients atteints de neutropénie congénitale sévère [Germeshausen *et al.*, 2007], de leucémie neutrophilique chronique et de leucémie myéloïde chronique atypique [Meggendorfer *et al.*, 2014; Maxson *et al.*, 2013]. Les principales caractéristiques de ces trois maladies sont décrites au tableau 1. Dans le cas de la leucémie neutrophilique chronique et de la leucémie myéloïde chronique atypique, l'information présentée est basée sur les critères diagnostiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) version 2008 [Tefferi *et al.*, 2014].

1. Leucémie neutrophilique chronique et leucémie myéloïde chronique atypique

La leucémie neutrophilique chronique et la leucémie myéloïde chronique atypique sont des cancers hématologiques rares caractérisés par l'hypercellularité de la moelle osseuse et une leucocytose constituée en majorité de granulocytes [Maxson *et al.*, 2013]. L'absence du chromosome de Philadelphie avec translocation t(9;22) (BCR-ABL1) est également caractéristique et elle permet d'exclure un diagnostic de leucémie myéloïde chronique [Elliott et Tefferi, 2014a].

La LNC est caractérisée par une prolifération des granulocytes neutrophiles (segmentés et immatures) dans le sang et la moelle osseuse, pouvant atteindre plus de 80 % des leucocytes totaux [Maxson *et al.*, 2013]. Le diagnostic différentiel de la LNC inclut la granulocytose réactive ou secondaire et d'autres cancers myéloïdes tels que la LMCa et la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) [Tefferi *et al.*, 2015]. On distingue la LMCa par une dysplasie des granulocytes⁴⁷ et une augmentation (supérieure ou égale à 10 %) des granulocytes neutrophiles immatures dans le sang et la moelle osseuse [Maxson *et al.*, 2013].

L'hydroxyurée par voie orale est couramment utilisée en première intention pour le traitement de la LNC et de la LMCa [Elliott et Tefferi, 2014b; Elliott *et al.*, 2005]. La greffe allogénique de cellules souches représente une option de remplacement dans les cas de

47. La dysplasie des granulocytes ou dysgranulopoïèse est définie comme suit : des granulocytes matures avec un noyau hyposégmenté, un cytoplasme hypogranulaire ou les deux. Information tirée de « Diagnostic significance of detecting dysgranulopoiesis in chronic myeloid leukemia » [site Web de Medscape], disponible à : http://www.medscape.com/viewarticle/463870_2 (consulté le 13 octobre 2015).

neutrophilie réfractaire et de transformation blastique [Elliott et Tefferi, 2014b]. Quant aux inhibiteurs de la tyrosine kinase (Ruxolitinib, Dasatinib), ils constituent des options de traitement supplémentaires associées à la détection de mutations du gène *CSF3R* (voir section 4.3).

2. Neutropénie congénitale sévère

La neutropénie congénitale sévère (NCS) est une maladie dont l'incidence annuelle est de 4,7 cas par million de naissances [Tsangaris *et al.*, 2011]. Il s'agit d'un syndrome hétérogène d'aplasie médullaire caractérisé par un arrêt de maturation en myélopoïèse au stade promyélocyte / myélocyte. Cet arrêt résulte en une neutropénie sévère chronique associée à des infections bactériennes sévères récurrentes [Triot *et al.*, 2014; Zeidler *et al.*, 2009]. Le traitement standard consiste à administrer du G-CSF afin d'augmenter le nombre de neutrophiles et de prévenir les septicémies [Dale *et al.*, 1993]. La greffe de cellules souches demeure le seul traitement pour les patients réfractaires au G-CSF et les patients dont l'état a évolué vers le syndrome myélodysplasique ou la leucémie [Zeidler *et al.*, 2000].

Tableau 1 Principales caractéristiques de la LNC, la LMCA et la NCS (information tirée de Tefferi *et al.*, 2015; Maxson *et al.*, 2013; Donadieu *et al.*, 2011)

MALADIE	BCR-ABL1	DYSPLASIE DES GRANULOCYTES	LEUCOCYTES TOTAUX	GRANULOCYTES NEUTROPHILES	NEUTROPHILES IMMATURES
LNC	négatif	non	$\geq 25 \times 10^9/L$	> 80 %	< 10 %
LMCA	négatif	oui	$\geq 13 \times 10^9/L$	↑	$\geq 10 \%$
NCS	négatif	non	---	Compte absolu $< 0,5 \times 10^9/L$	---

Sigles : LMCA : leucémie myéloïde chronique atypique; LNC : leucémie neutrophilique chronique; NCS : neutropénie congénitale sévère; PMN : polymorphonucléaire neutrophile.

3.3 Nombre d'analyses anticipées et de patients visés

Le volume provincial attendu est de 10 à 20 analyses par année.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hématologie, génétique, hémato-oncologie

3.5 Données médico-administratives

Analyse non incluse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* et aucun envoi hors Québec.

3.6 Brève description de la situation actuelle

Bien que la LNC et la LMCA soient définies par l'OMS comme étant deux cancers distincts, le diagnostic de ces deux entités est basé sur l'exclusion à l'aide des critères diagnostiques de l'OMS version 2008 [Tefferi *et al.*, 2014]. Actuellement, la distinction entre ces deux entités repose en partie sur des seuils arbitraires pour le compte total de leucocytes, le pourcentage de neutrophiles immatures et la présence ou l'absence de dysgranulopoïèse (tableau 1) [Maxson *et al.*, 2013]. L'absence de BCR-ABL1 (chromosome de Philadelphie) exclut la leucémie myéloïde chronique (LMC) [Elliott et Tefferi, 2014a]. L'absence de

mutations du gène *JAK2* (V617F), non spécifiques d'une néoplasie myéloproliférative en particulier, indique que la prolifération cellulaire est clonale et elle exclut la possibilité d'une cause réactionnelle (réaction inflammatoire ou infectieuse, tumeur solide, néoplasme des plasmocytes) [Elliott et Tefferi, 2014b; Vardiman *et al.*, 2009].

Les critères diagnostiques de l'OMS pour la LNC, la LMCa et la LMMC sont les suivants [Tefferi *et al.*, 2014] :

- l'absence de BCR-ABL1 et de mutations des gènes *PDGFRA* / *PDGFRB* / *FGFR1*;
- l'absence de conditions réactionnelles pouvant être associées à une granulocytose ou une monocytose;
- le diagnostic de LNC requiert l'absence de dysgranulopoïèse (caractéristique de la LMCa);
- le compte de monocytes est supérieur à $1 \times 10^9/L$ (requis pour le diagnostic de la LMMC);
- le compte de leucocytes est d'au moins $25 \times 10^9/L$ (diminue la possibilité de granulocytose réactionnelle);
- plus de 80 % de neutrophiles segmentés ou immatures;
- moins de 10 % de cellules myéloïdes immatures (réduit la possibilité de LMCa ou d'autres cancers myéloïdes telle la myélofibrose).

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

La détection de mutations du gène *CSF3R* permettrait de confirmer le diagnostic de LNC et de LMCa et d'orienter le traitement des patients en fonction du type des mutations détectées.

Selon le demandeur, cette analyse apportera des modifications à l'algorithme de traitement des patients atteints de LNC. Ces patients sont actuellement non traités ou traités avec des traitements palliatifs (HYDREA, hydroxyurée). Selon le demandeur, il sera possible (par l'intermédiaire du programme « patients d'exception » de la RAMQ) d'obtenir soit du Ruxolitinib ou du Dasatinib pour ces patients.

De plus, cette analyse permettrait de reconnaître les individus atteints de NCS afin de leur offrir un suivi plus étroit compte tenu du risque de progression vers une leucémie aiguë.

L'analyse mutationnelle du gène *CSF3R* est une nouvelle analyse; elle ne remplace donc aucune autre analyse incluse au répertoire.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Quatre études portant sur l'identification des mutations du gène *CSF3R* et sur leur association avec la LNC et la LMCa ont été retenues. Le tableau 2 présente un résumé des fréquences mutationnelles du gène *CSF3R*.

En 2013, l'étude de Maxson et ses collègues avait pour objectif d'identifier les gènes pouvant contribuer à la progression de la LNC et de la LMCa. Le séquençage de 1862 gènes codant pour des kinases, des phosphatases, des facteurs de croissance et des récepteurs de cytokines a été effectué par NGS. Des mutations du gène *CSF3R* ont été observées chez 16 des 27 patients (59 %) atteints de LNC ou de LMCa. Les mutations juxtamembranaires (T615A et T618I) ainsi que différentes mutations non-sens ou de décalage du cadre de lecture menant à la troncation de la portion cytoplasmique du récepteur du gène *CSF3R* ont

été détectées. Cette étude constitue la première observation de l'association de mutations du gène *CSF3R* avec la LNC et la LMCa. Les auteurs concluent que les mutations du gène *CSF3R* sont communes chez les patients atteints de LNC ou de LMCa et qu'elles constituent un critère diagnostique potentiellement utile concernant ces cancers [Maxson *et al.*, 2013].

Une étude réalisée par une équipe de la clinique Mayo aux États-Unis avait pour but de déterminer la fréquence et la spécificité des mutations du gène *CSF3R* chez une cohorte constituée de 54 patients chez qui on suspectait la LNC (35⁴⁸) et la LMCa (19) [Pardanani *et al.*, 2013]. Parmi ceux-ci, 12 cas de LNC et 9 cas de LMCa satisfaisaient aux critères diagnostiques de l'OMS (LNC-OMS et LMCa-OMS respectivement). Tous les cas de LNC-OMS avaient une mutation du gène *CSF3R* (12/12), en majorité la T618I (83,3 %), contrairement aux cas pour qui la LNC était suspectée et qui ne satisfaisaient pas aux critères de l'OMS (1/17). Aucune mutation du gène *CSF3R* n'a par ailleurs été détectée dans les cas de LMCa-OMS (0/9) ni dans les cas possibles de LMCa ne satisfaisant pas aux critères de l'OMS (0/10). Cette étude représente la première confirmation de l'existence d'une association entre les mutations du gène *CSF3R* (dont la T618I) et la LNC-OMS. Les auteurs concluent que la mutation T618I est un marqueur moléculaire hautement sensible (83,3 %) et spécifique pour la LNC définie par les critères de l'OMS (LNC-OMS) et ils suggèrent qu'elle soit incorporée dans les critères diagnostiques de l'OMS [Pardanani *et al.*, 2013]. Selon Tefferi et ses collègues [2015], la discordance entre les résultats de fréquence mutationnelle du gène *CSF3R* pour la LMCa (44,4 % selon Maxson versus 0 % selon Pardanani) vient probablement de différences dans l'attribution morphologique des cas de LNC et de LMCa [Tefferi *et al.*, 2015].

Une étude de cohorte multicentrique rétrospective a produit des résultats similaires à ceux de l'étude de Pardanani et ses collègues en confirmant, entre autres, l'absence de mutations du gène *CSF3R* (T618I) pour les 27 cas de LMCa-OMS analysés [Wang *et al.*, 2014]. Selon les auteurs, la présence d'une mutation juxtamembranaire du gène *CSF3R* chez un patient avec néoplasie myéloproliférative à prédominance neutrophilique devrait être considérée comme une LNC, ce qui exclut essentiellement un diagnostic de LMCa [Wang *et al.*, 2014].

Une étude de prévalence basée sur 218 patients pour qui le diagnostic avait été établi selon les critères de l'OMS avait pour objectif de déterminer la fréquence des mutations dans divers gènes, dont le *CSF3R*, afin de tracer le profil moléculaire de la LNC, de la LMCa et de la LMMC. De façon similaire aux études de Pardanani et de Wang, les mutations du gène *CSF3R* ont été significativement associées à la LNC ($p < 0,001$) [Megendorfer *et al.*, 2014].

48. Les 35 cas de LNC incluent 12 cas de LNC-OMS, 17 cas de LNC non définie par les critères de l'OMS et 6 cas de LNC avec gammopathie monoclonale.

Tableau 2 Fréquence mutationnelle du gène *CSF3R* dans la leucémie neutrophilique chronique (LNC) et la leucémie myéloïde chronique atypique (LMCa)

ÉTUDE COHORTE MÉTHODE	N : DIAGNOSTIC	FRÉQUENCE MUTATION <i>CSF3R</i> N (%)	FRÉQUENCE T618I+ N (%)	MUTATIONS <i>CSF3R</i> (N)
Maxson <i>et al.</i> , 2013	9 : LNC	8 (89 %)	7 (77,7 %)	T618I (5) T618I + D771fs (1) T618I + E808K (1) T715A + S783fs (1)
N = 27 Séquençage NGS	18 : LMCa ou LMCa suspecté †	8 (44,4 %)	5 (27,7 %)	T618I (4) D771fs (1) G683R (1) T618I + W791* (1) T615A + Y752* (1)
Pardanani <i>et al.</i> , 2013	12 : LNC-OMS 17 : LNC	LNC-OMS : 12 (100 %) LNC : 1 (6 %)	LNC-OMS: 10 (83,3 %)	<u>LNC-OMS</u> : T618I (9) T618I + 2341_2342insC exon 17 (1) I598I (1) M696T (1) <u>LNC</u> : M696T (1)
N = 54 LNC-LMCa suspectés Séquençage Sanger	9 : LMCa-OMS 10 : LMCa	LMCa-OMS : 0 (0 %) LMCa : 0 (0 %)	LMCa-OMS : 0 (0 %)	aucune
Wang <i>et al.</i> , 2014	65 : LMCa-OMS ‡	ND	0/27 analysés (0 %)	G683R (1) exon 17 §
N = 134 (7 centres) Séquençage Sanger				
Meggendorfer <i>et al.</i> , 2014	14 : LNC-OMS	6 (43 %)	5 (35,7 %)	T618I (2) T618I + Y787*(1) T618I + W791* (2) Q754*(1)
N = 218 Séquençage Sanger	58 : LMCa-OMS	2 (3 %)	1 (1,7 %)	T618I (1) T615A + W791* (1)

Sigles et acronymes : fs : *frame shift* (décalage du cadre de lecture); LMCa : leucémie myéloïde chronique atypique; LMCa-OMS : LMCa satisfaisant aux critères diagnostiques de l'OMS; LNC : leucémie neutrophilique chronique; LNC-OMS : LNC satisfaisant aux critères diagnostiques de l'OMS; ND : non déterminé; OMS : Organisation mondiale de la santé.

* Mutation non-sens (induisant un codon stop) qui mène à la troncation de l'extrémité carboxy-terminale du récepteur G-CSF.

† LMCa favorisée par rapport à la LNC en raison de la présence de dysplasie granulocytaire et/ou du compte différentiel de leucocytes comprenant plus de 10 % de cellules immatures.

‡ Ces patients satisfont aux trois critères de l'OMS suivants et ils ont donc été classés LMCa : leucocytes totaux supérieurs ou égaux à $13 \times 10^9/L$, supérieurs ou égaux à 10 % de cellules immatures, dysgranulopoïèse (10 % ou plus de granulocytes).

§ La mutation G683R serait possiblement un polymorphisme germlinal selon ce qui est rapporté dans la base de données SNP (*Single nucleotide polymorphism*) (SNP ID : rs3918001). Toutefois, l'ADN génomique n'était pas disponible pour le confirmer [Wang *et al.*, 2014].

4.2 Valeur pronostique

La neutropénie congénitale sévère (NCS) est un syndrome préleucémique avec risque élevé de progression en SMD ou en LMA [Rosenberg *et al.*, 2010]. La détection de mutations dans le gène *CSF3R* serait utile pour déterminer le risque de transformation leucémique et ainsi offrir une autre option thérapeutique aux patients qui ne répondent que peu ou pas au traitement standard (G-CSF) [Zeidler *et al.*, 2009]. Par ailleurs, le temps entre la détection des mutations du gène *CSF3R* et la transformation leucémique peut varier considérablement. Quelques mois, quelques années voire des décennies peuvent s'écouler après la détection des clones initiaux [Skokowa *et al.*, 2014; Beekman et Touw, 2010].

Le risque de transformation leucémique associé à la présence de mutations du gène *CSF3R* a été démontré chez une cohorte de 148 patients avec NCS [Germeshausen *et al.*, 2007]. Des mutations non-sens du gène *CSF3R*, induisant la troncation de la portion C-terminale du récepteur, ont été détectées dans 41 % (61/148) des cas de NCS et 15,5 % (23/148) ont évolué en leucémie⁴⁹, en SMD ou en monosomie 7⁵⁰ (tableau 3).

Parmi ceux qui ne présentaient pas de signes de transformation leucémique (125/148; 84,5 %), l'incidence des mutations du gène *CSF3R* était de 34 % (43/125) comparativement à 78 % (18/23) pour ceux ayant évolué en leucémie. La corrélation entre les mutations du gène *CSF3R* et le développement d'un cancer secondaire s'est avérée hautement significative (chi carré de Pearson, $p = 8,6 \times 10^{-5}$) [Germeshausen *et al.*, 2007].

Parmi les cas ayant évolué en leucémie, aucune mutation du gène *CSF3R* n'a été détectée dans 22 % (5/23) des cas de NCS.

Tableau 3 Fréquence des mutations du gène *CSF3R* et développement d'un cancer secondaire chez les patients atteints de NCS

GROUPE	SANS MUTATION <i>CSF3R</i> , N (%)	AVEC MUTATION <i>CSF3R</i> , N (%)	TOTAL
NCS sans Mo7/SMD/leucémie	82 (66)	43 (34)	125
NCS avec Mo7/SMD/leucémie	5 (22)	18 (78)	23
NCS/Mo7	0	2	2
NCS/SMD	1	4	5
NCS/LMA	4	9	13
NCS/LLA	0	2	2
NCS/LMMC	0	1	1
Total	87 (59)	61 (41)	148

Source : Germeshausen *et al.*, 2007.

Sigles : LLA : leucémie lymphoïde aiguë; LMA : leucémie myéloïde aiguë; LMMC : leucémie myéломonocytaire chronique; NCS : neutropénie congénitale sévère; Mo7 : monosomie 7; SMD : syndrome myélodysplasique.

Ainsi, selon les auteurs de cette étude, l'occurrence des mutations du gène *CSF3R* contribuerait significativement à la leucémogénèse, mais elle ne serait pas un prérequis. Par ailleurs, le risque de développer un cancer secondaire à la NCS est 7 fois plus élevé chez les

49. Les types de leucémies observées à la suite de la NCS étaient la LMA, la LLA ou la LMMC.

50. La monosomie 7 renvoie à la présence d'un seul chromosome 7.

patients avec mutations du gène *CSF3R* comparativement à ceux qui en sont dépourvus (OR 6,9; IC95 % : 2,4 - 19,8) [Germeshausen *et al.*, 2007].

Plus récemment, une étude de cohorte constituée de 31 patients atteints de NCS avait pour objectif d'identifier le profil d'acquisition des mutations associées à la leucémie par séquençage NGS [Skokowa *et al.*, 2014]. Parmi ces 31 patients, 21 ont développé une leucémie et l'état de 10 d'entre eux a évolué vers un SMD. Des mutations du gène *RUNX1* ont été détectées chez 64,5 % (20/31) des patients et, de ceux-ci, 85 % (17/20) avaient aussi des mutations tronquantes du gène *CSF3R* (*RUNX1+ CSF3R+*). Parmi les cas *RUNX1+ CSF3R+*, 11 (64,7 %) ont développé une leucémie et 6 (35,3 %) un SMD. Afin de déterminer la séquence d'acquisition des mutations des gènes *RUNX1* et *CSF3R*, l'analyse mutationnelle des cellules de la moelle osseuse de 10 patients consécutifs atteints de NCS à différents moments avant le début de la leucémie a été effectuée. Chez 6 de ces 10 patients, une mutation du gène *CSF3R* était présente avant l'apparition des mutations du gène *RUNX1*. Les résultats indiquent qu'une mutation du gène *CSF3R* constitue un événement précoce dans la leucémogénèse à la suite de la NCS [Skokowa *et al.*, 2014]. Les auteurs concluent que les patients chez qui on a observé *RUNX1+ CSF3R+* seraient à haut risque d'une évolution rapide vers la leucémie et qu'ils devraient être considérés comme candidats à une greffe de cellules souches.

4.3 Valeur thérapeutique

Le Ruxolitinib (Jakavi^{MC}, Novartis) est présentement indiqué pour le traitement de la splénomégalie associée à la myélofibrose primitive, à la myélofibrose consécutive à une polycythémie vraie ou à une thrombocythémie essentielle⁵¹. Le Dasatinib (Sprycel^{MC}, B.M.S.) est actuellement indiqué pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en phase chronique ou en phase accélérée chez les adultes ou pour le traitement en première intention de la LMC en phase chronique chez les adultes présentant une contre-indication sérieuse à l'imatinib et au nilotinib⁵¹. Relativement au traitement de la LNC ou de la LMCA, le Ruxolitinib et le Dasatinib ne sont pas reconnus par la RAMQ, ni par Santé Canada⁵², ni par la FDA⁵³.

Aucune étude de cohorte prospective ou rétrospective n'a démontré l'efficacité du Ruxolitinib et du Dasatinib relativement au statut mutationnel du gène *CSF3R*. Toutefois, il a été démontré *in vitro* que la présence de mutations juxtamembranaires (domaine extracellulaire) du récepteur du G-CSF conférait une sensibilité aux inhibiteurs de kinase JAK (p. ex. Ruxolitinib), et les mutations tronquantes (domaine intracellulaire) une sensibilité accrue aux inhibiteurs de kinases SRC (p. ex. Dasatinib) [Maxson *et al.*, 2013].

51. Information tirée de la Liste des médicaments (mise à jour du 1^{er} octobre 2015), disponible à : https://www.prod.ramq.gouv.qc.ca/DPI/PO/Commun/PDF/Liste_Med/Liste_Med/liste_med_cor1_2015_10_01_fr.pdf (consulté le 21 octobre 2015).

52. La monographie de Jakavi^{MC} est disponible en accédant à la Base de données sur les produits pharmaceutiques de Santé Canada (<http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/info.do?code=87357&lang=fra>) (consulté le 21 octobre 2015). La monographie de Sprycel^{MC} est disponible en accédant à la Base de données sur les produits pharmaceutiques de Santé Canada (<http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/info.do?code=77850&lang=fra>) (consulté le 21 octobre 2015).

53. La monographie de Jakavi^{MC} est disponible en accédant à la base de données des médicaments approuvés par la FDA Drugs@FDA (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Overview&DrugName=JAKAFI>) (consulté le 21 octobre 2015). La monographie de Sprycel^{MC} est disponible en accédant à la base de données des médicaments approuvés par la FDA Drugs@FDA (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Overview&DrugName=SPRYCEL>) (consulté le 21 octobre 2015).

Par ailleurs, une étude clinique portant sur le Ruxolitinib (NCT02092324)⁵⁴ est en période de recrutement. Cette étude a pour objectif principal de déterminer la proportion de patients atteints de LNC ou de LMCA ayant une réponse hématologique partielle ou complète. Parmi les objectifs secondaires, on cherchera à déterminer si les réponses hématologiques peuvent être corrélées avec certains types de mutations du gène *CSF3R* et la réduction du nombre de cellules avec mutations dans le sang périphérique.

Le tableau 4 présente les quelques études de cas repérées portant sur la réponse au Ruxolitinib chez des patients atteints de LNC ou de LMCA avec mutations du gène *CSF3R*.

Tableau 4 Valeur thérapeutique de la détection de mutations dans le gène *CSF3R*

ÉTUDE	CAS (SEXE, ÂGE)	DIAGNOSTIC	GÈNE (MUTATION)	TRAITEMENT	RÉPONSE
Maxson <i>et al.</i> , 2013	♂ 53 ans	LNC	<i>CSF3R</i> (T618I)	Ruxolitinib 10 mg bid	↓ leucocytes totaux * ↓ compte absolu de neutrophiles*
Dao <i>et al.</i> , 2014	♂ 75 ans	LMCa	<i>CSF3R</i> (T618I)	Hydroxyurée	Échec
				Ruxolitinib 20 mg bid	↓ graduelle sur 3 mois leucocytes totaux *
Lasho <i>et al.</i> , 2014	♀ 66 ans	LNC	<i>CSF3R</i> (T618I) <i>SETBP1</i> (D868N)	Hydroxyurée	Échec
				Ruxolitinib 10, 15 et 20 mg bid	Échec
Ammatuna <i>et al.</i> , 2015	♂ 57 ans	LMCa-OMS	<i>CSF3R</i> (T618I) <i>SETBP1</i> (G870S)	Hydroxyurée et Ruxolitinib 15 mg bid	Échec

Sigles et acronymes : bid : deux fois par jour; LMCA : leucémie myéloïde chronique atypique; LMCA-OMS : leucémie myéloïde chronique atypique satisfaisant aux critères diagnostiques de l'OMS; LNC : leucémie neutrophilique chronique; mg : milligramme; ♂ : homme; ♀ : femme.

* Les valeurs et statistiques associées ne sont pas mentionnées par les auteurs.

Un patient atteint de LNC chez qui on a détecté une mutation du gène *CSF3R* activatrice de la voie de signalisation JAK (T618I) a été traité avec le Ruxolitinib. Une diminution marquée du nombre total de leucocytes et du compte absolu de neutrophiles a été mesurée chez ce patient [Maxson *et al.*, 2013]. Des résultats similaires ont été obtenus chez un patient atteint de LMCA après l'échec d'un traitement à l'hydroxyurée [Dao *et al.*, 2014], traitement le plus couramment utilisé en première ligne [Elliott *et al.*, 2005].

On a par ailleurs constaté que des mutations du gène *SETBP1* étaient présentes chez 33 % des cas de LNC (parmi lesquels 40 % (4/10) étaient *CSF3RT618I+ SETBP1+* [Pardanani *et al.*, 2013]) et chez 24,3 % des cas de LMCA [Piazza *et al.*, 2013]. La présence de mutations du gène *SETBP1* pourrait avoir un effet sur la réponse au Ruxolitinib, comme le démontrent deux études de cas [Ammatuna *et al.*, 2015; Lasho *et al.*, 2014]. Un cas de LNC présentant à la fois une mutation des gènes *CSF3R* et *SETBP1* n'a pas répondu au Ruxolitinib après un échec avec l'hydroxyurée, et ce, même à une dose quotidienne élevée. Selon les auteurs, la contribution de la coexpression de la mutation du gène *SETBP1* à l'inefficacité du traitement au Ruxolitinib n'est toutefois pas connue [Lasho *et al.*, 2014]. De façon similaire au cas de LNC décrit par Lasho et ses collègues, un cas de LMCA répondant aux critères diagnostiques de l'OMS avec mutations concomitantes des gènes *CSF3R* et *SETBP1* s'est montré réfractaire au Ruxolitinib [Ammatuna *et al.*, 2015] contrairement au cas de LMCA sans mutation du gène *SETBP1* [Dao *et al.*, 2014].

54. Des renseignements supplémentaires au sujet de cette étude sont disponibles sur le site Web ClinicalTrials.gov à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02092324> (consulté le 20 octobre 2015).

4.4 Validité analytique

Dans les cas de cancer, la détection de mutations somatiques impose des défis techniques uniques comparativement à la détection de mutations germinales [Spencer *et al.*, 2014]. Outre l'hétérogénéité génétique caractéristique des cellules cancéreuses, la présence concomitante de cellules saines et de cellules cancéreuses dans un échantillon clinique fait en sorte que la fréquence des mutations somatiques détectées est variable (effet de dilution) [Spencer *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2012]. Puisque la proportion d'allèles non mutés excède souvent la proportion d'allèles mutés, la détection et le repérage de mutations peu fréquentes peuvent être ardues et dépendre de la sensibilité de la méthode utilisée [Jiang *et al.*, 2012].

Le séquençage direct de type Sanger permet la détection de mutations somatiques avec un niveau de sensibilité (limite de détection) de 15 % à 25 % comparativement à d'autres technologies plus sensibles comme le dHPLC (0,1 % à 10 %) et le PCR allèle-spécifique (AS-PCR) (0,01 %) [Hughes *et al.*, 2006]. Ainsi, les mutations présentes dans certains clones mineurs peuvent ne pas être détectées par séquençage direct [Beekman et Touw, 2010].

Aucune étude évaluant la performance du séquençage direct de type Sanger pour la détection de mutations somatiques à faible fréquence allélique du gène *CSF3R* dans les cas de NCS, LCN et LMCa n'a été repérée.

4.5 Données fournies par le demandeur

L'analyse proposée permet la lecture de chacun des nucléotides de l'exon 14 du gène *CSF3R* de même que celle de l'exon 17, régions où les différentes mutations ayant une incidence sur le diagnostic ou l'évolution de l'état du patient ont été rapportées. Chaque spécimen à analyser est traité en duplicata et chaque produit de PCR est séquençé dans les deux directions. Lors de chaque analyse, l'ADN d'un patient sain est utilisé comme témoin négatif.

Selon le demandeur, la sensibilité de la technique de séquençage Sanger est d'environ 15 %. Comme il s'agit de mutations somatiques, uniquement celles qui auront une fréquence allélique supérieure à 15 % seront rapportées. La spécificité de l'essai est basée sur l'utilisation d'amorces d'ADN spécifiques situées dans l'exon 14 du gène *CSF3R* et l'intron entre les exons 16 et 17 pour le premier amplicon, et de part et d'autre de l'exon 17 pour le second amplicon. Le second amplicon permet le séquençage jusqu'à l'extrémité C-terminale de la protéine codante. La taille des produits d'amplification est de 810 et 950 paires de bases pour les amplicons n° 1 et n° 2, respectivement. Le séquençage de ces régions permet de couvrir toutes les régions susceptibles de contenir des mutations fonctionnelles.

Validation du séquençage du gène *CSF3R*

L'étude de validation du séquençage du récepteur du gène G-CSF (*CSF3R*) a été réalisée en 2014 et 2015 à partir de 35 échantillons issus de 30 patients. Le séquençage a été un succès pour 33 échantillons sur 35.

À la suite des deux réactions d'amplification par PCR réalisées avec les deux paires d'amorces spécifiques, une analyse sur gel d'agarose a été effectuée pour évaluer la qualité et la spécificité (annexe A). Des bandes spécifiques de 810 et 950 paires de bases étaient présentes pour les puits contenant de l'ADN et aucune bande n'était visible pour le témoin négatif sans ADN. Pour tous les spécimens étudiés (patients et témoin négatif), la spécificité d'amplification a été confirmée par la présence, dans tous les cas, de bandes de 810 et 950 paires de bases. Chaque produit d'amplification (4 par

échantillon, 2 amplicons à 2 reprises) était ensuite séquencé à l'aide d'amorces spécifiques. Après la réaction de séquençage, chacune des séquences était alignée avec la séquence obtenue pour le patient sain. Pour chacun des patients, les séquences sens et antisens ont confirmé la présence ou l'absence d'une mutation (annexe B).

Les résultats de séquençage ont révélé la présence d'au moins une mutation chez 10 % (3/30) des patients qui ont subi le test. Chez ces trois patients positifs, deux présentaient la mutation T618I et un la mutation E835K (annexe C). Pour un des patients porteurs de la mutation T618I, une mutation tronquante (W818*) a aussi été détectée. La mutation T618I a été rapportée dans la littérature comme étant un critère diagnostique majeur pour la LNC. La mutation E835K a été répertoriée dans la base de données COSMIC (COSM4172010). Toutes les mutations détectées ont été lues sur deux produits de PCR différents, de même que dans les deux directions.

Contrôle externe de la qualité

Puisqu'aucun contrôle externe de la qualité n'est disponible pour cette analyse précise, les contrôles de la qualité de l'American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI) seront utilisés pour le séquençage.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

Les conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois n'ont pas été analysées.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La confirmation du diagnostic de LNC à la suite de la détection de mutations du gène *CSF3R* ouvre la possibilité d'un traitement de remplacement par rapport au traitement standard à l'hydroxyurée. Ainsi, il pourrait être possible pour les patients atteints de LNC ou de LMCA d'avoir accès au Ruxolitinib ou au Dasatinib par l'intermédiaire du programme « patients d'exception » de la RAMQ.

Dans les cas de NCS, la détection de telles mutations permettra d'évaluer le pronostic des patients en termes de risque d'évolution vers une leucémie aiguë. Ainsi, une greffe de cellules souches pourrait être envisagée lorsque les chances de réussite seraient encore bonnes.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

Aucune position ou orientation concernant l'analyse mutationnelle du gène *CSF3R* n'a été repérée.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

L'analyse mutationnelle du gène *CSF3R* (récepteur du G-CSF) permettrait de confirmer le diagnostic de LNC et de LMCa, d'orienter le traitement en fonction des mutations détectées et de reconnaître les patients atteints de NCS à risque de transformation leucémique.

Actuellement, après l'exclusion des causes réactionnelles, le diagnostic de la LNC et de la LMCa repose sur les critères de l'OMS basés principalement sur le compte des leucocytes totaux, le pourcentage de granulocytes neutrophiles immatures, l'absence de BCR-ABL1 et la présence de dysgranulopoïèse (pour la LMCa).

Valeur diagnostique

En 2013, une étude a révélé l'existence de mutations du gène *CSF3R* (principalement la T618I) dans 89 % cas de LNC et 44,4 % des cas de LMCa. Cette étude représente la première observation de l'association de mutations du gène *CSF3R* avec la LNC et la LMCa. Par la suite, trois études ont confirmé l'association quasi exclusive de ces mêmes mutations avec la LNC et leur absence dans la LMCa chez des patients dont le diagnostic était basé sur les critères de l'OMS. Des mutations du gène *CSF3R* n'ont été détectées que dans 0 % à 3 % des cas de LMCa-OMS.

Valeur pronostique

Une seule étude évaluant le risque de transformation leucémique associée à la présence de mutations du gène *CSF3R* a été repérée. L'état des patients atteints de NCS et qui ont des mutations du gène *CSF3R* a 7 fois plus de risques d'évoluer vers une leucémie. Des mutations non-sens du gène *CSF3R* ont été détectées chez 41 % des patients atteints de NCS, et l'état de 15,5 % d'entre eux a évolué en leucémie, en SMD ou en monosomie 7. Une autre étude a révélé que les mutations du gène *CSF3R* seraient un signe précoce de la leucémogénèse, mais ne seraient pas un prérequis. Chez 60 % des patients atteints de NCS, une mutation du gène *CSF3R* était présente avant l'apparition de mutations du gène *RUNX1*. L'état des patients chez qui on a observé la présence du gène *CSF3R*+ avec mutations de *RUNX1* présenterait un risque élevé d'évolution rapide vers la leucémie, et ces patients devraient être considérés comme candidats à une greffe de cellules souches.

Valeur thérapeutique

Seulement deux cas de LNC et deux cas de LMCa avec mutations du gène *CSF3R* traités avec le Ruxolitinib ont été répertoriés. Ces données montrent que le Ruxolitinib permet de réduire le compte de leucocytes totaux et de neutrophiles. Toutefois, pour deux de ces cas, un effet délétère en réponse à ce médicament a été observé en présence de mutations du gène *SETBP1*. Par ailleurs, le Ruxolitinib et le Dasatinib ne sont pas reconnus par la RAMQ, Santé Canada et la FDA pour le traitement de la LNC et de la LMCa.

Validité analytique

Aucune donnée analytique repérée.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse mutationnelle du gène *CSF3R* (récepteur du G-CSF)

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

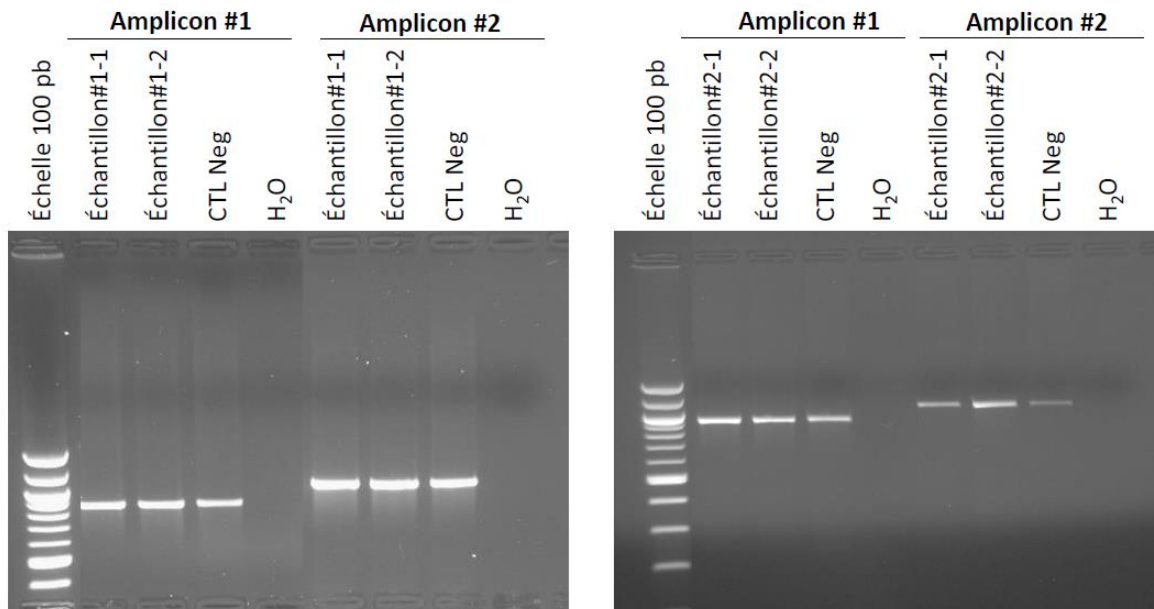
Précisions additionnelles :

- ✓ L'utilité clinique n'est pas clairement démontrée.
- ✓ Les données probantes ont été jugées insuffisantes pour recommander une introduction.
 - données de validation clinique limitées
 - aucune position ou orientation concernant l'analyse mutationnelle du gène *CSF3R* provenant d'autres organisations n'a été repérée.
- ✓ Par ailleurs, le Ruxolitinib et le Dasatinib ne sont pas reconnus par la RAMQ, Santé Canada et la FDA pour le traitement de la LNC et de la LMCa.

ANNEXE A

Résultats de validation locale – exemples de gels d'agarose des produits d'amplification du gène *CSF3R*

Visualisation sur gel d'agarose des produits d'amplification (*CSF3R*) effectués par PCR

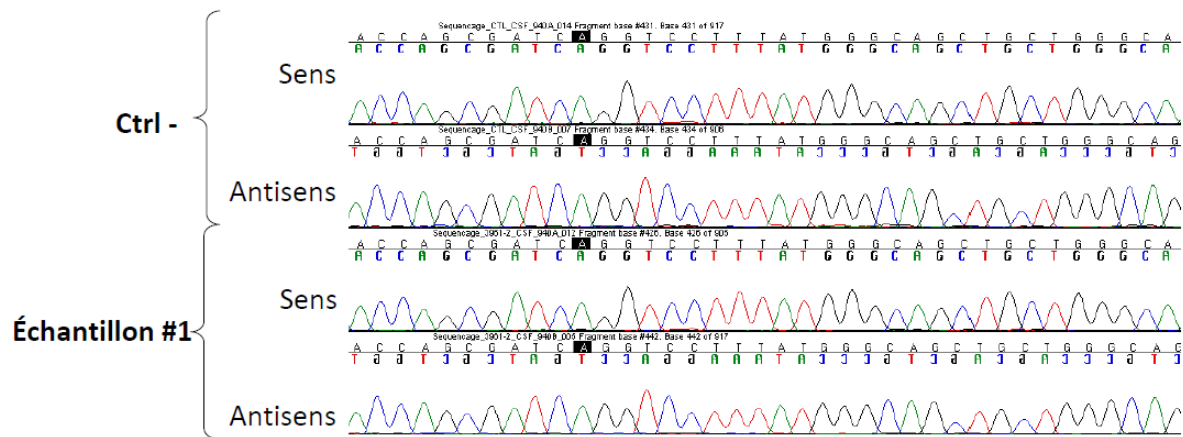


Le contrôle négatif (CTL Neg) représente un individu sain.

ANNEXE B

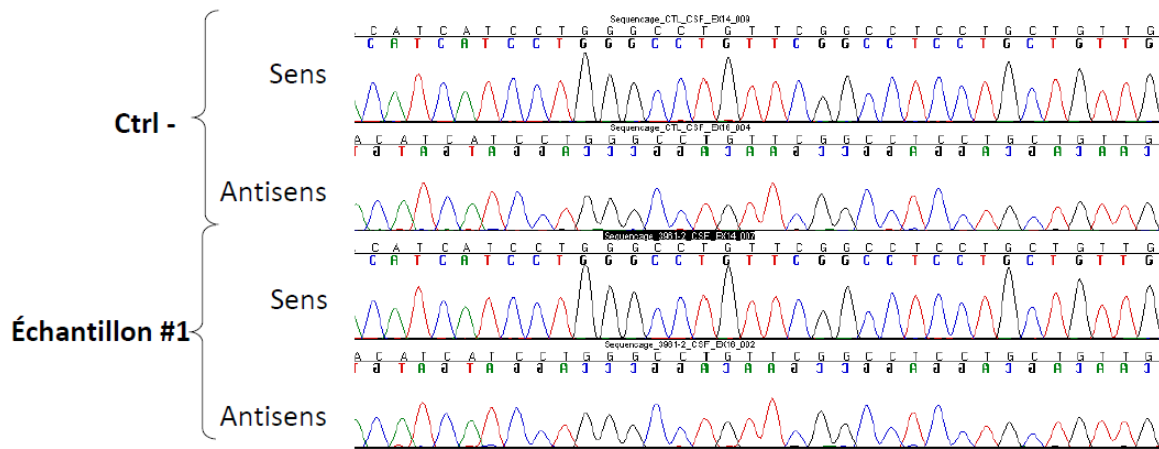
Résultats de validation locale – exemples d'électrophérogrammes

Exemples d'électrophérogrammes obtenus pour l'échantillon #1 et le contrôle négatif afin de séquencer l'amplicon #1.



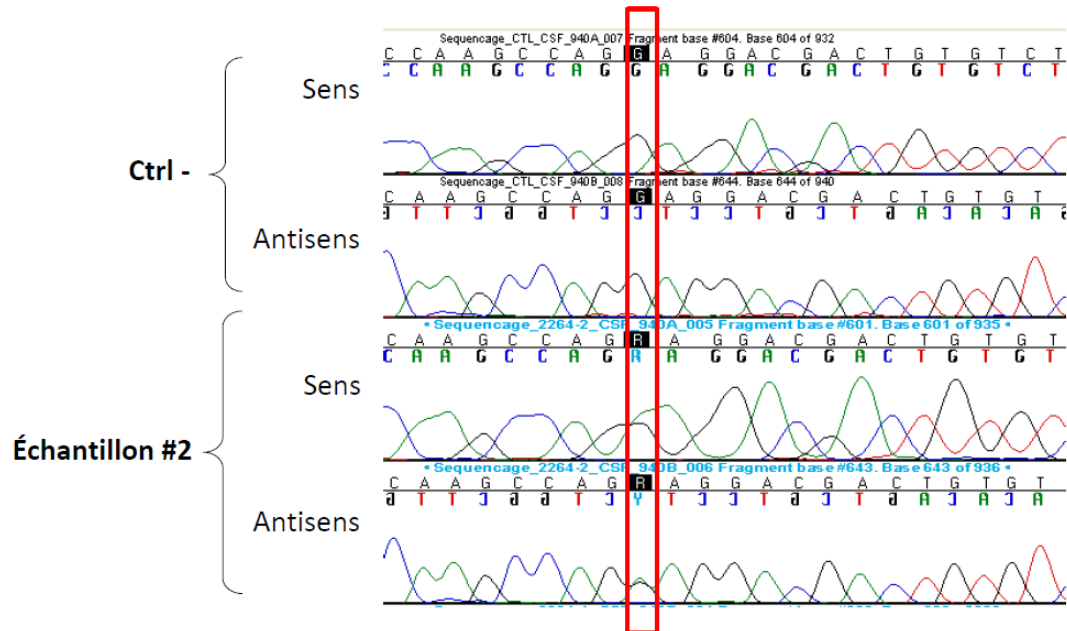
Absence de mutation

Exemples d'électrophérogrammes obtenus pour l'échantillon #1 et le contrôle négatif afin de séquencer l'amplicon #2.



Absence de mutation

Exemples d'électrophérogrammes obtenus pour l'échantillon #2 et le contrôle négatif afin de séquencer l'amplicon #1.



Présence de la mutation E835K (GAG>AAG) dans le gène CSF3R

Ctrl -

Sens

Antisens

Échantillon #2

Sens

Antisens

Sequencage CTL_CSF_E114F_101 Fragment base #26, Base 295 of 794

Sequencage CTL_CSF_E114F_101 Fragment base #26, Base 220 of 897

Sequencage 28642_CSF_E114F_016 Fragment base #284, Base 284 of 764

Sequencage 28642_CSF_E114F_016 Fragment base #67, Base 207 of 888

185

ANNEXE C

Résultats de validation locale – séquençage du gène *CSF3R* de 33 patients

	PATIENT	ÉCHANTILLON	TYPE DE SPÉCIMEN	DATE DE PRÉLÈVEMENT	AMPL. PCR	SEQUENÇAGE	MUTATION
1	Patient 1	15-0704	Sang	15/02/06	Oui	Oui	Aucune
2	Patient 2	Seq-845	Moelle	14/04/07	Oui	Oui	Aucune
3	Patient 3	Seq-885	Moelle	14/05/14	Oui	Oui	Aucune
4	Patient 4	Seq-886	Moelle	14/05/14	Oui	Oui	Aucune
5	Patient 5	Seq-809 15-2264	Moelle Sang	14/02/21 15/05/01	Oui Oui	Oui Oui	E835K E835K
6	Patient 6	14-01288	Moelle	14/12/01	Oui	Oui	Aucune
7	Patient 7	8701A	Sang	14/08/21	Oui	Oui	Aucune
8	Patient 8	15-2590	Sang	15/05/29	Oui	Oui	Aucune
9	Patient 9	Seq-842 14- 0468	Moelle Moelle	14/04/04 14/10/10	Oui Oui	Oui Oui	Aucune Aucune
10	Patient 10	15-1993	Moelle	15/04/17	Oui	Oui	Aucune
11	Patient 11	15-0532	Sang	15/01/30	Oui	Oui	Aucune
12	Patient 12	15-2609	Sang	15/05/19	Oui	Oui	Aucune
13	Patient 13	15-0483	Sang	15/01/28	Oui	Oui	Aucune
14	Patient 14	14-1742	Sang	14/12/24	Oui	Oui	Aucune
15	Patient 15	15-0399	Sang	15/01/26	Oui	Oui	Aucune
16	Patient 16	15-2925	Sang	15/06/04	Oui	Oui	Aucune
17	Patient 17	Seq-816	Sang	14/03/03	Oui	Oui	Aucune
18	Patient 18	Seq-906	Sang	14/06/18	Oui	Oui	Aucune
19	Patient 19	Seq-878	Moelle	14/05/22	Oui	Oui	T618I et W818*
20	Patient 20	15-1738	Moelle	15/04/02	Oui	Oui	Aucune
21	Patient 21	Seq-938	Moelle	14/07/22	Oui	Oui	Aucune
22	Patient 22	14-1581	Sang	14/12/17	Oui	Oui	Aucune
23	Patient 23	Seq-825	Moelle	14/03/13	Oui	Oui	Aucune
24	Patient 24	Seq-774	Sang	14/01/13	Oui	Oui	Aucune
25	Patient 25	8054A	Moelle	14/02/21	Oui	Oui	Aucune
26	Patient 26	14-0884	Sang	14/11/07	Oui	Oui	Aucune
27	Patient 27	15-2749	Sang	15/05/27	Oui	Oui	Aucune
28	Patient 28	Seq-936	Sang	14/07/21	Oui	Oui	Aucune
29	Patient 29	Seq-777	Sang	14/01/22	Oui	Oui	Aucune
30	Patient 30	Seq-875 Seq-941	Sang Sang	14/05/22 14/07/27	Oui Oui	Oui Oui	T618I T618I
31	Patient 31	15-1112	Moelle	15/02/27	Oui	Oui	Aucune
32	Patient 32	Seq-852	Sang	14/04/16	Oui	Oui	Aucune
33	Patient 33	15-0698L	Moelle	15/02/05	Oui	Oui	Aucune

RÉFÉRENCES

- Ammatuna E, Eefting M, van Lom K, Kavelaars FG, Valk PJ, Touw IP. Atypical chronic myeloid leukemia with concomitant CSF3R T618I and SETBP1 mutations unresponsive to the JAK inhibitor ruxolitinib. *Ann Hematol* 2015;94(5):879-80.
- Beekman R et Touw IP. G-CSF and its receptor in myeloid malignancy. *Blood* 2010;115(25):5131-6.
- Dale DC, Bonilla MA, Davis MW, Nakanishi AM, Hammond WP, Kurtzberg J, et al. A randomized controlled phase III trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for treatment of severe chronic neutropenia. *Blood* 1993;81(10):2496-502.
- Dao KH, Solti MB, Maxson JE, Winton EF, Press RD, Druker BJ, Tyner JW. Significant clinical response to JAK1/2 inhibition in a patient with CSF3R-T618I-positive atypical chronic myeloid leukemia. *Leuk Res Rep* 2014;3(2):67-9.
- Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, Mahlaoui N, Chantelot CB. Congenital neutropenia: Diagnosis, molecular bases and patient management. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:26.
- Elliott MA et Tefferi A. The molecular genetics of chronic neutrophilic leukaemia: Defining a new era in diagnosis and therapy. *Curr Opin Hematol* 2014a;21(2):148-54.
- Elliott MA et Tefferi A. Chronic neutrophilic leukemia 2014: Update on diagnosis, molecular genetics, and management. *Am J Hematol* 2014b;89(6):651-8.
- Elliott MA, Hanson CA, Dewald GW, Smoley SA, Lasho TL, Tefferi A. WHO-defined chronic neutrophilic leukemia: A long-term analysis of 12 cases and a critical review of the literature. *Leukemia* 2005;19(2):313-7.
- Germeshausen M, Ballmaier M, Welte K. Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis: Results of a long-term survey. *Blood* 2007;109(1):93-9.
- Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, Branford S, Radich J, Kaeda J, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: Review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006;108(1):28-37.
- Jiang W, Wang W, Fu F, Teng X, Wang H, Teng L. A more sensitive platform for the detection of low-abundance BRAF(V(6)(0)(0)E) mutations. *Mol Cell Biochem* 2012;366(1-2):49-58.
- Lasho TL, Mims A, Elliott MA, Finke C, Pardanani A, Tefferi A. Chronic neutrophilic leukemia with concurrent CSF3R and SETBP1 mutations: Single colony clonality studies, in vitro sensitivity to JAK inhibitors and lack of treatment response to ruxolitinib. *Leukemia* 2014;28(6):1363-5.

- Maxson JE, Luty SB, MacManiman JD, Abel ML, Druker BJ, Tyner JW. Ligand independence of the T618I mutation in the colony-stimulating factor 3 receptor (CSF3R) protein results from loss of O-linked glycosylation and increased receptor dimerization. *J Biol Chem* 2014;289(9):5820-7.
- Maxson JE, Gotlib J, Pollyea DA, Fleischman AG, Agarwal A, Eide CA, et al. Oncogenic CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia and atypical CML. *N Engl J Med* 2013;368(19):1781-90.
- Meggendorfer M, Haferlach T, Alpermann T, Jeromin S, Haferlach C, Kern W, Schnittger S. Specific molecular mutation patterns delineate chronic neutrophilic leukemia, atypical chronic myeloid leukemia, and chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2014;99(12):e244-6.
- Pardanani A, Lasho TL, Laborde RR, Elliott M, Hanson CA, Knudson RA, et al. CSF3R T618I is a highly prevalent and specific mutation in chronic neutrophilic leukemia. *Leukemia* 2013;27(9):1870-3.
- Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, Redaelli S, Spinelli R, Pirola A, et al. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. *Nat Genet* 2013;45(1):18-24.
- Rosenberg PS, Zeidler C, Bolyard AA, Alter BP, Bonilla MA, Boxer LA, et al. Stable long-term risk of leukaemia in patients with severe congenital neutropenia maintained on G-CSF therapy. *Br J Haematol* 2010;150(2):196-9.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74(12):5463-7.
- Skokowa J, Steinemann D, Katsman-Kuipers JE, Zeidler C, Klimenkova O, Klimiankou M, et al. Cooperativity of RUNX1 and CSF3R mutations in severe congenital neutropenia: A unique pathway in myeloid leukemogenesis. *Blood* 2014;123(14):2229-37.
- Spencer DH, Tyagi M, Vallania F, Bredemeyer AJ, Pfeifer JD, Mitra RD, Duncavage EJ. Performance of common analysis methods for detecting low-frequency single nucleotide variants in targeted next-generation sequence data. *J Mol Diagn* 2014;16(1):75-88.
- Tefferi A, Elliott M, Pardanani A. Chronic neutrophilic leukemia: Novel mutations and their impact on clinical practice. *Curr Opin Hematol* 2015;22(2):171-6.
- Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, Barbui T. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2014;28(7):1407-13.
- Triot A, Jarvinen PM, Arostegui JJ, Murugan D, Kohistani N, Dapena Diaz JL, et al. Inherited biallelic CSF3R mutations in severe congenital neutropenia. *Blood* 2014;123(24):3811-7.
- Tsangaris E, Klaassen R, Fernandez CV, Yanofsky R, Shereck E, Champagne J, et al. Genetic analysis of inherited bone marrow failure syndromes from one prospective, comprehensive and population-based cohort and identification of novel mutations. *J Med Genet* 2011;48(9):618-28.

Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: Rationale and important changes. *Blood* 2009;114(5):937-51.

Wang SA, Hasserjian RP, Fox PS, Rogers HJ, Geyer JT, Chabot-Richards D, et al. Atypical chronic myeloid leukemia is clinically distinct from unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014;123(17):2645-51.

Zeidler C, Germeshausen M, Klein C, Welte K. Clinical implications of ELA2-, HAX1-, and G-CSF-receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia. *Br J Haematol* 2009;144(4):459-67.

Zeidler C, Welte K, Barak Y, Barriga F, Bolyard AA, Boxer L, et al. Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia without evidence of leukemic transformation. *Blood* 2000;95(4):1195-8.