

Avis

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

Transmission au ministre : 20 décembre 2016

Publication officielle : 17 février 2017

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 valeur diagnostique;
- la valeur pronostique;
- 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, MBA, Ph. D.

Coordination

Éric Potvin, Ph. D.

Professionnels scientifiques

Simon Bélanger, M. Sc., MBA

Frédéric Breton, B. Sc.

Andrée Fortin, Ph.D.

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

Catherine Gravel, M. Sc.

Geneviève Morrow, Ph. D.

Emmanuelle Tchekanda, Ph. D.

Recherche d'information scientifique

Caroline Dion, MBSI, *bibl. prof.*

Mathieu Plamondon, MSI

Soutien documentaire

Flavie Jouandon

Édition

Responsable

Renée Latulippe

Soutien technique

Hélène St-Hilaire

Révision linguistique

Josée DeAngelis

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- 77620-8 (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 quatre analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Québec, Qc : INESSS; 146p.

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 d'intérêts

Tous les membres du comité scientifique ont rempli un formulaire de déclaration 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, Ph. D.

- Consultante en éthique

Guy Fink, Ph. D.

- Biochimiste clinique, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

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

- Anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM

David Rosenblatt, M.D., FRCPC

- Pédiatre, généticien, Hôpital général de Montréal

Maude Saint-Jean, M.D., FRCPC

- 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

GÉNOTYPAGE DE LA MUTATION DPYD*2A DU GÈNE DE LA DIHYDROPYRIMIDINE DÉSHYDROGÉNASE (<i>DPYD</i>) PAR PCR EN TEMPS RÉEL (RÉFÉRENCE – 2016.02.001)	1
DOSAGE DU (1-3)- β -D-GLUCANE SÉRIQUE (RÉFÉRENCE – 2015.02.004R)	23
DÉTECTION DE 14 TRANSLOCATIONS À PRONOSTIC DÉFAVORABLE DANS LES LEUCÉMIES MYÉLOÏDES AIGÜES PÉDIATRIQUES (RÉFÉRENCE – 2014.02.16)	52
DÉTECTION DE LA MUTATION L265P DU GÈNE <i>MYD88</i> PAR PCR (RÉFÉRENCE – 2016.02.002)	117

GÉNOTYPAGE DE LA MUTATION DPYD*2A DU GÈNE DE LA DIHYDROPYRIMIDINE DÉSHYDROGÉNASE (DPYD) PAR PCR EN TEMPS RÉEL (RÉFÉRENCE – 2016.02.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHUM, Hôpital Notre-Dame

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 décembre 2016

1.3 Date de publication de l'avis : 17 février 2017

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 Louis Gaboury n'a pas participé aux délibérations et 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 respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^{re} Julie Lemieux, interniste et hémato-oncologue, CHU de Québec-Université Laval
- D^r Jamil Asselah, oncologue médical, CUSM, Hôpital Royal-Victoria
- D^r Félix Couture, interniste, hématologue et oncologue médical au CHU de Québec-Université Laval a été consulté afin d'obtenir des précisions sur les standards d'utilisation des fluoropyrimidines en oncologie.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Génotypage de la mutation *DPYD**2A du gène de la dihydropyrimidine déshydrogénase (*DPYD*) par PCR en temps réel

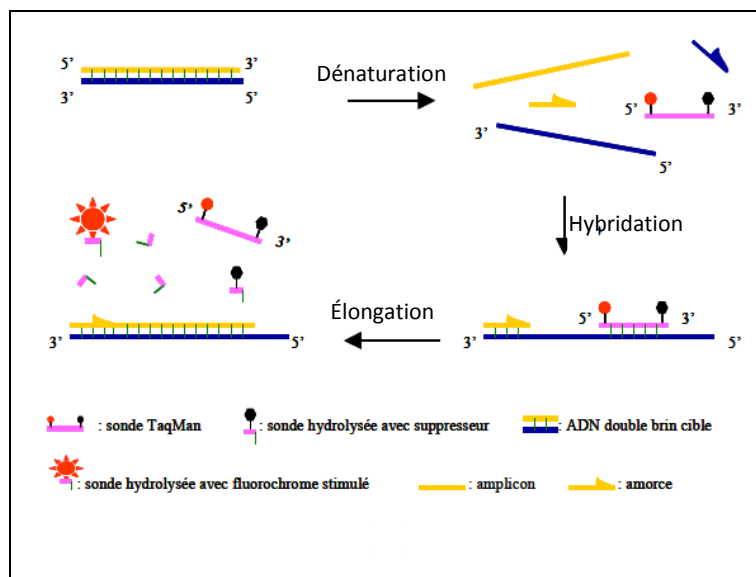
2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

L'analyse vise à déterminer la présence de la mutation *DPYD**2A, à transmission autosomique dominante, dans l'ADN génomique extrait d'un échantillon de sang du patient atteint de cancer.

Cette mutation consiste en la substitution d'un nucléotide, causant la délétion complète de l'exon 14, lors de l'épissage de l'ARN pré-messager du gène *DPYD*. La détection qualitative de cette mutation s'effectue par une réaction en chaîne par polymérase en temps réel, à l'aide d'une sonde TaqMan^{MC}, qui est spécifique à la mutation ponctuelle *DPYD**2A.

La PCR en temps réel repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification. Le demandeur utilise pour ce faire une sonde TaqMan^{MC} spécifique à la mutation analysée. La technologie TaqMan^{MC} est basée sur l'activité 5'-exonucléase de la Taq polymérase (Figure 1). La sonde contient deux fluorochromes, dont un émetteur et un suppresseur. Lorsqu'ils sont à proximité l'un de l'autre, le fluorochrome émetteur transfère son énergie au fluorochrome suppresseur, qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre la fluorescence. Étant donné que l'activité 5'-exonucléase de la Taq polymérase est spécifique à l'ADN double-brin, les sondes libres en solution demeurent intactes et n'émettent aucune fluorescence. Lors de l'étape d'hybridation de la PCR, la sonde et les amorces se fixent à leurs séquences complémentaires respectives. Lors de l'étape d'élongation subséquente, la Taq polymérase synthétise le nouveau brin d'ADN à partir de l'amorce jusqu'à ce qu'elle rencontre la sonde hybridée qu'elle hydrolyse sur son passage. Le fluorochrome est ainsi libéré de l'environnement du suppresseur, ce qui permet l'émission de la fluorescence. L'augmentation de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits pendant la réaction [Poitras et Houde, 2002].

Figure 1 Principe de la technologie TaqMan^{MC} lors d'une PCR en temps réel



Source : adaptée de Poitras et Houde, 2002.

2.3 Modalités d'administration du test

Le sang est prélevé dans des tubes EDTA et acheminé au laboratoire de biologie moléculaire d'hémo-oncologie à l'hôpital Notre-Dame du CHUM, afin d'en effectuer l'analyse.

2.4 Société ou concepteur

Trousse commerciale TaqMan^{MC} SNP Genotyping Assays de ThermoFisher Scientific

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Cette trousse n'est pas homologuée, ni par Santé Canada ni par la FDA

2.6 Valeur pondérée : 18,30

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par cette analyse sont ceux atteints des cancers digestifs, du sein, de la tête et du cou, et qui sont susceptibles de recevoir un traitement à base de fluoropyrimidines.

3.2 Description de la maladie visée

Les fluoropyrimidines sont utilisées dans le traitement de tumeurs cancéreuses solides, pouvant affecter le sein, le système digestif ou la sphère ORL [Boisdron-Celle *et al.*, 2010]. Il est estimé que 10 % à 40 % des patients qui reçoivent une chimiothérapie incluant le 5-fluoro-uracile (5-FU) présentent des toxicités aiguës (grades 3-4) [BCBS, 2009; Lévy *et al.*, 1998]. Toutefois, certaines de ces toxicités aiguës sont associées à un déficit constitutionnel de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD). La DPD est responsable du catabolisme de plus de 80 % des fluoropyrimidines administrées sous forme de 5-FU lors d'un traitement [Heggie *et al.*, 1987]. De ce fait, un déficit en DPD induit chez le patient une incapacité à totalement métaboliser les fluoropyrimidines, dont l'accumulation dans l'organisme peut mener à des intoxications graves et même au décès du patient. À ce jour, près de 40 mutations ponctuelles dans le gène de la DPD (*DPYD*) ont été repérées. Certaines de ces mutations sont silencieuses, et une quinzaine d'entre elles affectent l'activité enzymatique de la DPD ou la rendent non fonctionnelle [Boisdron-Celle *et al.*, 2010]. Trois de ces mutations sont consensuelles à cause de leur capacité démontrée à altérer la fonction de l'enzyme : *DPYD**2A (*DPYD* IVS14+1G; c.1905+1G>A), p.D949V (c.2846A >T), *DPYD**13 (p.I560S) [Caudle *et al.*, 2013]. Les caractères phénotypiques de ces mutations sont l'altération partielle de la DPD chez les porteurs hétérozygotes, ou son altération complète chez les porteurs homozygotes, à l'origine des toxicités aiguës consécutives aux traitements à base de fluoropyrimidines.

En outre, la mutation *DPYD**2A demeure la mieux caractérisée [Wei *et al.*, 1998]. La fréquence des porteurs hétérozygotes de l'allèle *DPYD**2A varie de 3 % à 5 %, tandis qu'elle est de 0,2 % pour les porteurs homozygotes. L'allèle *DPYD**2A est principalement détecté chez la population caucasienne, tandis qu'une nouvelle variante Y186C est détectée chez 26 % de la population afro-américaine [Caudle *et al.*, 2013]. De plus, les variantes *DPYD**9A, *DPYD**5 et *DPYD**6 ont été rapportées au sein des populations chinoises et coréennes [Leung et Chan, 2015]. Toutefois, plusieurs études ont démontré que près de 50 % des porteurs hétérozygotes d'un allèle affectant le fonctionnement de la DPD ne développaient pas nécessairement des toxicités aiguës aux fluoropyrimidines [Caudle *et al.*, 2013]. La variante *DPYD**2A est retrouvée dans 40 % à 50 % des patients qui développent des toxicités lors d'un traitement à base de fluoropyrimidines [Khushman *et al.*, 2016].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime le nombre de tests à 20 par semaine et à 1 000 par année pour le Québec.

3.4 Spécialités médicales concernées

Oncologie

3.5 Brève description de la situation actuelle

Selon les experts consultés, les fluoropyrimidines, sous la forme 5-FU, sont administrées par voie intraveineuse chez près de 80 % des patients atteints d'une tumeur gastro-intestinale qui nécessitent une chimiothérapie. La capécitabine¹, administrée par voie orale, est utilisée dans les cas de cancer du sein; 15 à 20 % des patientes recevront cette chimiothérapie au cours de leur traitement, et dans les tumeurs gastro-intestinales. La capécitabine est aussi utilisée per radiothérapie en cancer du rectum. Les médicaments anticancéreux sont en grande majorité administrés sur la base de la surface corporelle ou de quelques examens biologiques tels que la formule sanguine complète (FSC) et le bilan rénal [Boisdron-Celle *et al.*, 2010].

En 2011, l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) a publié un bulletin d'information toxicologique dans lequel la toxicité au 5-FU est attribuée aux causes accidentelles : le dosage excessif du produit ou son administration à un débit plus élevé que requis. Ce document recommande l'utilisation du triacétate d'uridine comme antidote pour le traitement des cas d'intoxication au 5-FU [Laliberté, 2011]. Les monographies des produits 5-FU et capécitabine publiées par Santé Canada font mention du risque de toxicités aiguës pour les cas de déficit en DPD sans toutefois en recommander le dépistage systématique.

À l'échelle internationale, plusieurs compagnies et laboratoires d'analyses médicales offrent respectivement une trousse commerciale de détection de la mutation *DPYD**2A ou le test de génotypage du *DPYD**2A. Les informations recueillies sur leurs produits sont rapportées dans le tableau en annexe A.

3.6 Données médico-administratives

À ce jour, l'analyse proposée n'est pas inscrite au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Les analyses concernant le génotypage de *DPYD* réalisées hors Québec sont présentées au tableau 1. Le faible nombre d'analyses effectuées hors Québec serait, selon le demandeur, dû au fait qu'elles soient réalisées post-hoc et non pas avant l'administration des fluoropyrimidines.

¹ Xeloda^{MC} de la compagnie Hoffmann-La Roche Limitée.

Tableau 1 Analyses effectuées hors Québec

ANNÉES	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT TOTAL (\$)	LABORATOIRES
2013 – 2014	3	2 059	2 analyses : Mayo Medical Laboratories 1 analyse : Prevention Genetics LLC
2014 - 2015	2	634	2 analyses : Mayo Medical Laboratories

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Le demandeur soutient l'introduction de ce test en amont du traitement à base de fluoropyrimidines pour être en mesure de discriminer les patients susceptibles de développer des toxicités aigües. Introduire cette analyse chez les patients impliquerait :

- une réduction de la dose de fluoropyrimidines administrée aux porteurs du *DPYD**2A;
- une baisse des coûts engendrés par la prise en charge des patients aux prises avec des toxicités aigües suivant l'administration de fluoropyrimidines sans avoir été testés au préalable.

3.8 Assurance qualité

Le demandeur prévoit participer à des contrôles de qualité externes auprès du College of American Pathologists (CAP) qui a ajouté le test de génotypage de plusieurs variantes du gène *DPYD*, à sa liste d'analyses disponibles [CAP, 2016]. Le demandeur prévoit également d'effectuer un contrôle de la qualité auprès de la North American Specialized Coagulation Laboratory Association (NASCOLA).

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucun test déjà inscrit au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

Au total, cinq articles ont été retenus pour la présentation des données probantes :

- Une méta-analyse réalisée à partir de 13 études visant à démontrer l'association entre la présence de l'allèle *DPYD**2A et le risque accru de toxicités aigües aux fluoropyrimidines [Terrazzino *et al.*, 2013];
- Deux études primaires visant à étayer la valeur thérapeutique du génotypage de *DPYD**2A [Deenen *et al.*, 2016; Lee et Diasio, 2014];
- Deux études primaires visant à démontrer la validité analytique du génotypage de *DPYD**2A par PCR en temps réel [Deenen *et al.*, 2011; Bosch *et al.*, 2007].

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque la présence de l'allèle *DPYD*2A* n'a pas pour objectif d'établir ou préciser un diagnostic.

4.2 Valeur pronostique

4.2.1 Évaluation du risque de toxicité associé à la présence de la mutation *DPYD*2A*

La méta-analyse effectuée par Terrazzino et ses collaborateurs [2013] repose sur 15 études primaires publiées entre 2004 et 2011 et réalisées chez des patients atteints de cancer et traités avec des fluoropyrimidines. Les patients admis à l'étude étaient atteints des cancers du système gastro-intestinal, de la tête, du cou, du sein et pour la plupart du cancer colorectal. Les études devaient rapporter l'incidence de toxicités générales de grades ≥ 3 en fonction de la présence ou de l'absence des allèles *DPYD*2A* et 2846A>T. Dix des 15 études ont été réalisées prospectivement. Le nombre de patients par étude variait entre 50 et 750 et la moitié de celles-ci (8) comportait moins de 200 patients.

Sur un total de 4 094 patients analysés, 60 patients (1,46 %) étaient porteurs de l'allèle *DPYD*2A*. Treize études ont présenté des données de toxicité en lien avec la présence de l'allèle *DPYD*2A* pour un total de 3 499 patients majoritairement d'origine caucasienne (tableau 2). Parmi les 57 porteurs de l'allèle *DPYD*2A*, 39 (68,4 %) ont expérimenté une toxicité générale grades ≥ 3 comparativement à 38,7 % (1 331/3 442) pour les non porteurs (Rapport de cote – RC : 5,4 (IC 95 % : 2,8 – 10,5); $p < 0,001$).

Les auteurs ont réalisé des analyses de sous-groupes en fonction des types de toxicité grades ≥ 3 , ce qui a permis une meilleure distinction de leur association à *DPYD*2A*. Les résultats obtenus au bout de la méta-analyse mettent en évidence l'existence chez les porteurs d'un risque élevé de toxicité hématologique grades ≥ 3 (RC : 15,77 ; IC95 % : 6,36 à 39,06), de diarrhée grades ≥ 3 (RC : 5,54 ; IC95 % : 2,31 à 13,29 ; $p < 0,001$) et de mucite grades ≥ 3 (RC : 7,48 ; IC95 % : 3,03 à 18,47 ; $p < 0,001$).

En vue de confirmer la robustesse des résultats obtenus, quatre analyses de sensibilité ont été menées. La sensibilité était testée sur les critères d'inclusion tels que : études prospectives, la bonne qualité des études, études portant au moins sur 200 sujets ou études utilisant des régimes de traitement à base de 5-FU. Toutes les analyses de sensibilité n'ont pas apporté de changement majeur dans les rapports des cotes calculés. La sensibilité du génotypage de *DPYD*2A* en vue de prédire la toxicité générale grades ≥ 3 s'élevait à 5,2 % (IC95 % : 3,0 à 8,9), avec une spécificité de 99,2 % (IC95 % : 98,8 à 99,4) pour la mutation *DPYD*2A* et dans chaque catégorie de toxicité de grades ≥ 3 . Les auteurs concluent que :

- La validité clinique de la mutation *DPYD*2A* comme facteur de risque pour le développement des toxicités aiguës consécutives à un traitement à base de fluoropyrimidines.
- Que les porteurs du *DPYD*2A* présentent un risque plus élevé de développer une toxicité hématologique grades ≥ 3 . Ce risque est toutefois réduit pour une mucite grades ≥ 3 ou une diarrhée grades ≥ 3 .
- La prévalence de la mutation *DPYD*2A* est plus grande dans les cohortes pour lesquelles une faible incidence d'effets indésirables est observée. Selon les auteurs, cette observation nécessiterait que d'autres études prospectives sur la détection du *DPYD*2A* soient menées [Terrazzino *et al.*, 2013].

Tableau 2 Synthèse de la méta-analyse pour évaluer la corrélation entre la mutation *DPYD2A et les toxicités graves aux fluoropyrimidines.**

PARAMÈTRE D'EFFICACITÉ « OUTCOME »	ÉTUDE (N)	PATIENTS (N)	RC (IC 95 %)	P	HÉTÉROGÉNÉITÉ			SENSIBILITÉ % (IC 95 %)	P (Q-TEST)	SPÉCIFICITÉ % (IC 95 %)	P (Q-TEST)
					Q	P (Q TEST)	I ² %				
DPYD*2A et toxicité générale de grades 3 à 4											
Total d'études	13	3499	5,42 (2,79-10,52)	<0,001	13,81	0,31	13	5,2 (3,0-8,9)	<0,001	99,2 (98,8-99,4)	0,908
Études prospectives	9	2559	5,87 (2,42-14,22)	<0,001	12,36	0,14	35	5,9 (2,9-11,9)	0,003	99,0 (98,5-99,4)	0,966
Étude de haute qualité	7	2932	5,57 (2,14-14,48)	<0,001	10,48	0,11	43	4,5 (2,0-9,8)	<0,001	99,1 (98,8-99,4)	0,846
Échantillonnage ≥ 200 patients	5	2723	5,62 (1,69-18,73)	0,005	10,40	0,03	62	4,0 (1,4-11,7)	<0,001	99,2 (98,8-99,5)	0,657
Chimiothérapie basée sur 5-FU	5	2229	7,24 (2,06-25,40)	0,002	10,92	0,03	63	6,6 (2,2-18,2)	<0,001	99,1 (98,5-99,4)	0,844
5-FU seul	3	1324	4,81 (1,01-22,93)	0,049	4,57	0,10	56	4,3 (1,2-14,7)	0,028	99,0 (98,2-99,5)	0,514
Pourcentage des cas de toxicité											
≥40 %	6	1757	2,42 (0,88-6,61)	0,085	3,13	0,68	0	3,2 (1,5-6,7)	0,005	99,2 (98,8-99,5)	0,707
≤40 %	7	1742	8,31 (3,63-19,06)	<0,001	6,95	0,32	14	9,0 (5,7-13,9)	0,524	99,0 (98,4-99,4)	0,836
DPYD*2A et toxicité hématologique de grades 3 à 4											
Toutes les études	7	1554	15,77 (6,36-39,06)	<0,001	5,04	0,54	0	13,0 (6,6-24,1)	0,197	99,3 (98,6-99,7)	0,150
DPYD*2A et diarrhée de grades 3 à 4											
Toutes les études	6	1526	5,54 (2,31-13,29)	0,001	1,51	0,91	0	5,6 (3,2-9,7)	0,619	99,1 (98,4-99,5)	0,481
DPYD*2A et mucosite de grades 3 à 4											
Toutes les études	5	1015	7,48 (3,03-18,47)	<0,001	0,92	0,93	0	11,5 (6,2-20,5)	0,771	99,4 (96,9-99,2)	0,984

Abréviations : IC : intervalle de confiance; N : nombre; p : Valeur p; Q : test Q où Q = Écart/Étendue; RC : rapport des cotes

4.3 Valeur thérapeutique

4.3.1 Les résultats du génotypage de *DPYD*2A* et leur portée sur le dosage du traitement à base de fluoropyrimidines

▪ Étude de Deenen et ses collaborateurs [2016]

Deenen et ses collaborateurs ont mené une étude sur la période de mai 2007 à octobre 2011 auprès de 2 038 patients atteints de cancer et traités à base de fluoropyrimidines. Ces derniers furent traités à 90 % à la capécitabine et 10 % au 5-FU. L'objectif de l'étude était l'évaluation de la faisabilité, et celle de l'innocuité d'un traitement orienté par un test de génotypage de *DPYD*2A*. Au total, 22 patients (1,1 %) étaient des porteurs hétérozygotes de la mutation *DPYD*2A*, aucun porteur homozygote n'a été détecté. Des 22 porteurs hétérozygotes, 18 (82 %) avaient été initialement traités avec des doses ajustées de capécitabine. Quatre de ces patients n'avaient pas reçu de traitement à base de fluoropyrimidines; chez une patiente, âgée de 79 ans, le chercheur a opté pour une réduction de 100 % de la dose de traitement. Un patient a reçu un traitement autre que les fluoropyrimidines, et les deux derniers patients sont décédés avant le début du traitement. Le traitement établi sur la base d'un dosage guidé par la présence démontrée de l'allèle *DPYD*2A*, a résulté en 2 patients (11 %) sans toxicité, 11 patients (61 %) avec des toxicités de grades 1-2 et 5 patients (28 %) avec des toxicités maximales de grade 3. Les effets toxiques étaient de courte durée et bien contrôlés à l'aide des procédures de soins standards. L'incidence de toxicité grades ≥ 3 était de 28 % (IC 95 % : 10 % à 53 %) dans la cohorte prospective avec génotypage.

Cette cohorte prospective a été opposée à une cohorte de 3 974 patients n'ayant pas été soumis au génotypage avant l'administration de fluoropyrimidines (cohorte historique). Cette cohorte comptait 51 porteurs (1,3 %) de l'allèle *DPYD*2A* identifiés rétrospectivement, desquels 48 ont reçu des fluoropyrimidines à la dose conventionnelle de 100 %. Au sein de cette cohorte, on trouvait un plus grand nombre de patients ayant reçu du 5-FU comparativement à ceux qui avaient un régime de traitement incluant la capécitabine.

- Au sein de la cohorte historique sans génotypage, 5 décès avaient été rapportés (10 %), tandis que la cohorte prospective et soumise à un test de génotypage n'avait aucun cas de décès rapporté (0 %). Tous les décès ont été associés au traitement (tableau 3).
- L'incidence de toxicité grades ≥ 3 est passée de 28 % (IC 95 % : 10 % à 53 %) dans la cohorte prospective avec génotypage, à 73 % (IC 95 % : 58 % à 85 %) dans la cohorte historique sans génotypage (tableau 3).

Tableau 3 Corrélation entre la toxicité et l'ajustement de la posologie des patients porteurs de l'allèle *DPYD2A**

PARAMÈTRES D'ÉVALUATION	TRAITEMENT AJUSTÉ AU GÉNOTYPE <i>DPYD</i> *2A (N = 22)			DOSE STANDARD DE TRAITEMENT SANS GÉNOTYPAGE (N = 51)			VALEUR p
	(N)	(%)	IC 95 %	(N)	(%)	IC 95 %	
Toxicité hématologique grades ≥ 3	3	17	4 à 41	27	66	49 à 80	< 0,001
Toxicité gastro-intestinale grades ≥ 3	2	11	1 à 35	23	56	40 à 72	0,001
Toxicité générale grades ≥ 3	5	28	10 à 53	35	73	58 à 85	< 0,001
Décès	0	0	0 à 19	5	10	3 à 23	0,19

Toutefois, une analyse comparant les porteurs hétérozygotes de l'allèle *DPYD**2A et les non porteurs suggère qu'une réduction de dose de 50 % de 5-FU chez le patient demeure suffisante pour cibler une réponse au traitement. Les auteurs appuient cette conclusion par le fait que des toxicités surviennent même à doses réduites et que leur incidence est comparable à celle des patients non porteurs traités avec une dose conventionnelle (tableau 4).

Tableau 4 Effets indésirables chez les porteurs de *DPYD2A soumis au génotypage avec un traitement ajusté et chez les patients porteurs du génotype sauvage et traités avec la dose conventionnelle de fluoropyrimidines**

	PATIENTS AU GÉNOTYPE SAUVAGE DU <i>DPYD</i> (N = 1 613)		PATIENTS PORTEURS DE <i>DPYD</i> *2A [†] (N = 18)		VALEUR p
	(N)	(%)	(N)	(%)	
Effets indésirables					
Toxicité hématologique grades 1-2	562	35	3	17	0,11
grades ≥ 3	159	10	3	17	0,34
Diarrhées grades 1-2	474	29	8	44	0,16
grades ≥ 3	133	8	1	6	0,68
Syndrome mains et pieds grades 1-2	445	28	8	44	0,11
grades ≥ 3	86	5	2	11	0,28
Toutes toxicités grades 1-2	871	54	11	61	0,55
grades ≥ 3	373	23	5	28	0,64

[†] : Chez ces patients, la dose de traitement aux fluoropyrimidines a été ajustée en fonction des résultats du test de génotypage.

- Sur la base des données pharmacocinétiques de cette étude, les auteurs concluent que les patients avec une déficience en DPD causée par la présence de la mutation *DPYD*2A* sont exposés à l'équivalent du double de la dose conventionnelle de 5-FU généralement utilisée pour les patients de génotype sauvage. Cette observation met en évidence la nécessité d'une réduction de 50 % de la dose de traitement chez les patients porteurs de tout allèle qui affecte l'activité de la DPD.
- Deenen et ses collaborateurs ont relevé la limite de la sensibilité du test de génotypage du *DPYD*2A*. Cet allèle a été rapporté chez 25 % des patients présentant des déficits en DPD. Étant donné que 3 % à 5 % de la population a une déficience en DPD, les auteurs recommandent d'accroître la sensibilité de l'analyse proposée en testant simultanément d'autres mutations de *DPYD*, telles que *2846A>T*, *1679T>G* ou *1236 G>A*, ou d'opter pour une approche d'analyse de phénotype. À ce propos, une étude clinique menée sur 2 000 nouveaux patients, portant sur le génotypage du *DPYD*2A* et autres allèles, est actuellement en cours. [Deenen *et al.*, 2016]

▪ Étude de Lee et ses collaborateurs [2014]

L'étude randomisée de phase 3 de Lee et ses collaborateurs [2014] a été menée auprès de 2 886 patients atteints de cancer du côlon. Le but de cette étude était d'évaluer l'effet de chacune des trois variantes du gène *DPYD* (*DPYD*2A*, *D949V* ou *2846A>T*, *I560S* ou *DPYD*13*) sur le risque de toxicités aiguës consécutives aux régimes de traitement à base de fluoropyrimidines.

L'analyse du génotype par séquençage a montré que 27 (0,94 %), 4 (1,1 %) et 32 patients (1,1 %) portaient respectivement les mutations *DPYD*2A*, *DPYD*13* et *2846A>T*, tous à l'état d'hétérozygotes. Un patient a été rapporté porteur hétérozygote des deux allèles *DPYD*2A* et *2846A>T*. Six patients n'ont pas obtenu de génotype pour *DPYD*2A* et *2846A>T*, à cause d'une erreur d'amplification pendant la réaction de polymérase en chaîne.

Les données sur les effets indésirables de grade 3 et plus ont été recueillies auprès de 2 594 patients. Des 25 patients porteurs du *DPYD*2A*, 22 (88 %) présentaient des toxicités grades ≥ 3 , tandis que deux des quatre patients porteurs de la mutation *DPYD*13* (50 %) et 22 des 27 patients porteurs de la mutation *2846A>T* avaient développé des toxicités grades ≥ 3 [Lee et Diasio, 2014].

Une association significative entre la présence des mutations du *DPYD* et l'incidence de toxicités aiguës a été rapportée pour l'allèle *DPYD*2A* (RC = 15,21 (IC95 % : 4,54 - 50,96); $p < 0,001$) ainsi que pour l'allèle *2846A>T* (RC = 9,10 (IC95 % : (3,43 - 24,10); $p < 0,001$). L'incidence de nausées et de vomissements ($p = 0,007$) ou de neutropénie ($p < 0,001$) était particulièrement associée à la présence de *DPYD*2A*. Par contre, les cas aigus de déshydratation ($p = 0,02$), de diarrhée ($p = 0,003$), de leucopénie ($p = 0,002$), de neutropénie ($p < 0,001$) et de thrombocytopénie ($p < 0,001$) étaient davantage liés à la présence de la mutation *2846A>T*. Aucune association significative n'a été démontrée entre les effets indésirables aigus et la mutation *DPYD*13*.

Les patients porteurs de l'allèle *DPYD*2A* avaient une propension plus élevée à ne pas compléter les 12 cycles de traitement comparativement aux patients non porteurs (56 % contre 74 %; $p = 0,04$). Parmi les 25 patients porteurs de *DPYD*2A*, la médiane du nombre de

cycles de traitement administrés était de 8 (entre 1 et 11 cycles). La majorité des patients (80 %) ont obtenu au moins une modification de la dose de traitement. Par ailleurs, trois patients (11 %) étaient porteurs du *DPYD**2A sans manifestation de toxicité aiguë. La dose de traitement a été modifiée chez l'un de ces trois patients alors que les deux autres ont reçu 12 cycles du traitement.

De plus, une analyse restreinte aux patients d'origine caucasienne, au genre, ou au traitement rapporte une association considérable entre les allèles *DPYD**2A et 2846A>T et la toxicité de grades ≥ 3 au 5-FU. L'ampleur des effets indésirables étaient plus élevée chez les porteurs de *DPYD**2A de sexe masculin, comparativement à ceux de sexe féminin, se traduisant respectivement par un rapport des cotes de 20,96 et 9,74.

La prédiction d'une association entre la toxicité de grades ≥ 3 au 5-FU et la présence des allèles *DPYD**2A, 2846 A>T et *DPYD**13 présente les paramètres de performance suivants : sensibilité (5,3 %), spécificité (99,4 %), valeur prédictive positive (81,8 %) et valeur prédictive négative (68,0 %).

- Les auteurs concluent qu'il existe une association entre la présence des mutations *DPYD**2A et 2846 A>T et une augmentation de l'incidence des toxicités de grades ≥ 3 chez les patients qui reçoivent une chimiothérapie à base de 5-FU [Lee *et al.*, 2014].

4.4 Validité analytique

- **Étude de Bosch et ses collaborateurs [2007]**

Dans une étude réalisée auprès de 165 individus (65 patients et 100 personnes en bonne santé), Bosch et ses collaborateurs ont développé une analyse de PCR en temps réel à haut débit afin d'effectuer le génotypage de *DPYD**2A. Les résultats obtenus à partir de cette méthode étaient entièrement identiques à ceux générés au moyen du séquençage de l'ADN des individus. La fréquence de l'allèle de 1 % a été rapportée chez les individus en bonne santé, tandis qu'elle était de 4,6 % chez les patients. Les auteurs concluent que cette méthode est adéquate pour des analyses à haute échelle, et peut servir à détecter les patients porteurs de l'allèle *DPYD**2A sélectionnés pour un traitement à base de fluoropyrimidines.

- **Étude de Deenen et ses collaborateurs [2011]**

Une étude rétrospective effectuée par Deenen et ses collaborateurs [2011] a porté sur 568 patients en stade avancé d'un cancer colorectal et ayant reçu un traitement à base de capécitabine. Le but de cette étude était de démontrer la corrélation entre la présence de huit variantes du gène *DPYD* parmi lesquelles *DPYD**2A, et l'apparition d'effets indésirables graves liés à l'administration de la capécitabine chez les patients. Le génotypage des variantes du gène *DPYD* a été effectué sur les échantillons d'ADN prélevés du sang des patients et analysés par PCR en temps réel en utilisant des sondes TaqMan^{MC}.

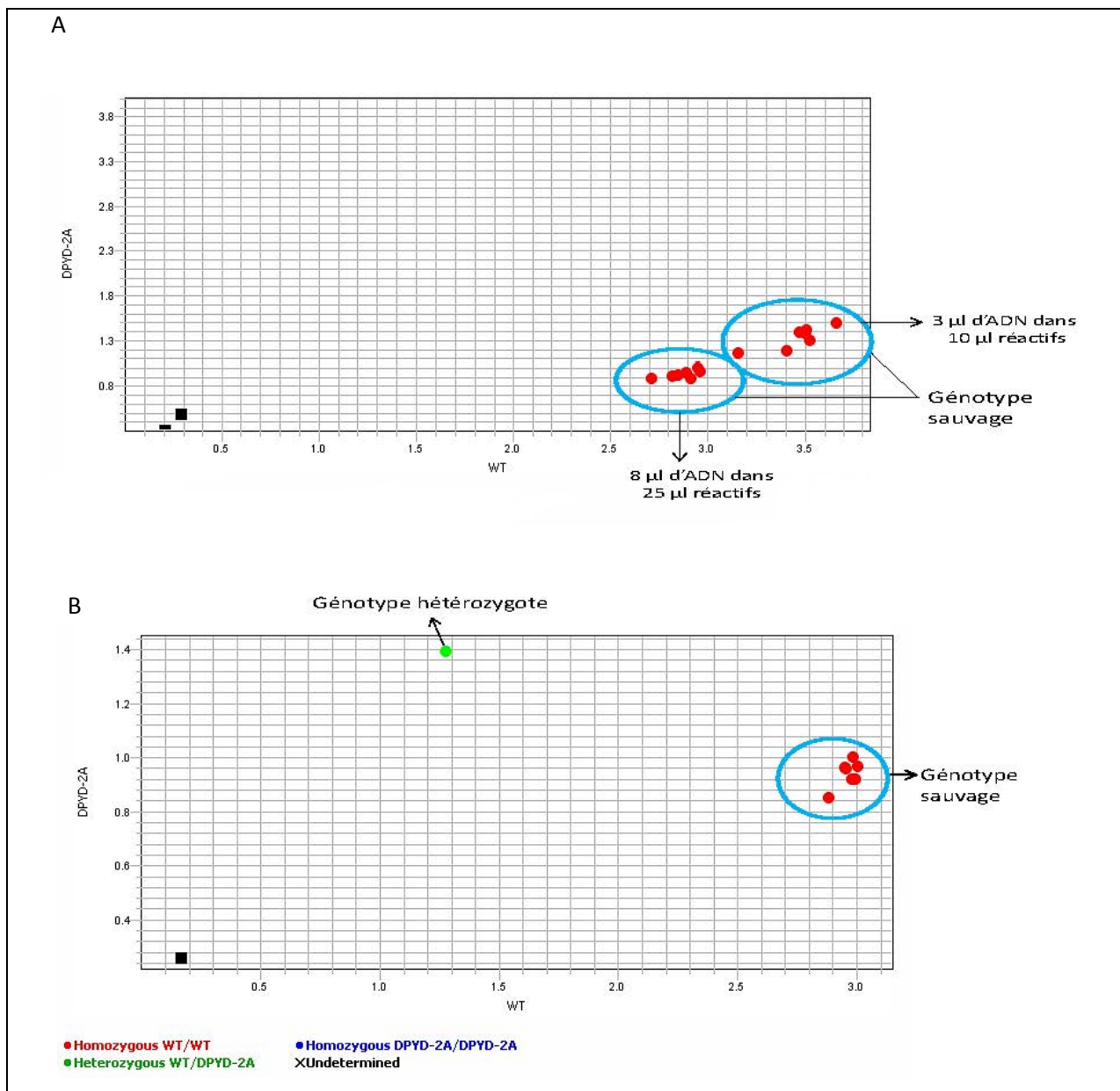
- Une validation par séquençage d'ADN a confirmé que les mutations recherchées sur le gène *DPYD* étaient effectivement amplifiées par la PCR en temps réel.
- Chacune des réactions était réalisée en double, avec une concordance de 100 % entre les réactions.

4.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a fourni des données issues d'une mise au point du génotypage de *DPYD*2A* réalisé dans son laboratoire sur l'ADN génomique de 14 patients et d'un témoin positif. Ce dernier provient d'un patient porteur hétérozygote testé dans l'étude de Deenen et ses collaborateurs [2016].

La figure 1A montre le cloisonnement du signal obtenu pour l'allèle non muté (en rouge) lorsque la PCR est réalisée en utilisant des quantités variables d'ADN. La figure 1B montre la distinction entre les deux signaux de fluorescence obtenus lorsque l'allèle *DPYD*2A* est présent à l'état hétérozygote (en vert). De même les témoins négatifs sans ADN (en noir) ne produisent aucun signal. Aucun porteur homozygote n'a été testé.

Figure 1 Mise au point de la technique : Génotypage de *DPYD*2A* dans les échantillons de sang humain



Les résultats du test de génotypage ont été récoltés grâce à une réaction en chaîne par polymérase en temps réel, en utilisant des sondes TaqMan^{MC}. A : validation de la technique en utilisant différentes concentrations d'ADN. Les échantillons analysés ont été prélevés de patients dont le génotype est sauvage pour *DPYD*. B : Introduction d'un contrôle positif, provenant de la publication de Deenen *et al.*, 2016, pour la validation de l'analyse des échantillons par la méthode utilisée en A.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de la mutation *DPYD*2A* du gène de la dihydropyrimidine déshydrogénase (*DPYD*) par PCR en temps réel. Deux scénarios ont été retenus. Le premier scénario considère l'usage d'emblée de cette analyse pour les patients atteints de cancer colorectal et de cancer du sein et qui sont susceptibles de recevoir un traitement à base de fluoropyrimidines. Le second scénario considère l'usage de l'analyse comme outil permettant la confirmation d'un déficit en DPD causé par la présence de la mutation *DPYD*2A* chez les patients avec des toxicités aiguës aux fluoropyrimidines. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 5 et repose sur les hypothèses suivantes :

- Selon les statistiques canadiennes sur le cancer, 6 700 et 6 300 nouveaux cas de cancers colorectal et du sein respectivement sont prévus en 2016 [SCC, 2016].
- Selon les statistiques canadiennes sur le cancer de 2014, 2015 et 2016, l'augmentation annuelle des nouveaux cas de cancer colorectal est estimée à environ 1,5 % alors que celle des cas de cancer du sein est estimée à environ 2 %.
- Selon les experts consultés, les patients atteints de cancer colorectal et ceux atteints du cancer du sein constituent la grande majorité des patients ciblés par l'analyse à l'étude.
- Selon les experts consultés, 80 % des patients atteints de cancer colorectal et 20 % des patients atteints de cancer du sein en stades 3 et 4 sont susceptibles de recevoir un traitement à base de fluoropyrimidines.
- Aucun envoi d'analyses hors Québec n'a été considéré.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 18,30.

Scénario 1

*Usage d'emblée de l'analyse permettant la détection de la mutation *DPYD*2A* chez tous les patients atteints de cancers colorectal et du sein et qui reçoivent un traitement à base de fluoropyrimidines.*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre de nouveaux cas de cancer colorectal	6 800	6 902	7 006	20 708
Nombre de nouveaux cas de cancer du sein	6 426	6 555	6 686	19 667
Nombre d'analyses anticipées	6 725	6 833	6 942	20 500
Coûts si introduction de l'analyse	123 071 \$	125 037 \$	127 039 \$	375 147 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection d'emblée de la mutation *DPYD*2A* chez les patients atteints de cancers colorectal et du sein traités avec des fluoropyrimidines sont estimés à 375 147 \$ pour le total des trois premières années.

Toutefois, dans ce scénario, la détection d'emblée des porteurs de la mutation *DPYD*2A*

pourrait permettre de réduire les événements de toxicités aiguës et par conséquent de diminuer les coûts liés à la prise en charge de ces patients. Selon la documentation scientifique, 1,1 % des patients atteints de cancer sont des porteurs hétérozygotes de la mutation *DPYD*2A* [Deenen *et al.*, 2016]. Selon l'étude de Bosch, la durée d'hospitalisation moyenne pour des porteurs était de 18 jours pour cause de toxicité, alors qu'elle était de 2,5 jours chez les non porteurs de la mutation *DPYD*2A* [Bosch *et al.*, 2007]. Selon les considérations énumérées ci-haut, il est estimé que 60 patients atteints de cancer colorectal et 14 patientes atteintes de cancer du sein pourraient bénéficier d'une réduction de leur durée d'hospitalisation, et ce, pour chacune des trois prochaines années. Ceux-ci pourraient aussi bénéficier d'une réduction de 50 % de la dose de fluoropyrimidines reçue. Cela pourrait alors engendrer une réduction des coûts de traitement [Deenen *et al.*, 2016].

Scénario 2

*Usage de l'analyse comme outil permettant la confirmation d'un déficit en DPD causé par la présence de la mutation *DPYD*2A* chez les patients avec des toxicités aiguës aux fluoropyrimidines.*

Ce scénario considère que :

- Environ 5 % à 10 % des patients atteints de cancer et traités avec des fluoropyrimidines sont susceptibles d'avoir des toxicités aiguës [Deenen *et al.*, 2016]

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre de cas de cancer colorectal	6 800	6 902	7 006	20 708
Nombre de cas de cancer du sein	6 426	6 555	6 686	19 667
Nombre d'analyses anticipées	336 à 673	342 à 683	347 à 694	1 025 à 2 050
Coûts si introduction de l'analyse	6 154 \$ à 12 307 \$	6 252 \$ à 12 504 \$	6 352 \$ à 12 704 \$	18 758 \$ à 37 515 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection d'un déficit en DPD causé par la présence de la mutation *DPYD*2A* chez les patients atteints de cancer colorectal et de cancer du sein et ayant des toxicités aiguës lors d'un traitement à base de fluoropyrimidines pourraient varier de 18 758 \$ à 37 515 \$ pour le total des trois premières années.

Les coûts présentés dans les deux scénarios sont jugés conservateurs puisque des patients atteints d'autres cancers sont traités avec des fluoropyrimidines et sont donc potentiellement admissibles au test de détection de la mutation *DPYD*2A*. Selon les experts consultés, le scénario 2 semble le plus réaliste et le plus probable. En effet, selon eux, l'analyse serait davantage utilisée comme outil pour expliquer les toxicités aiguës chez un patient sous traitement à base de fluoropyrimidines et permettrait par conséquent d'ajuster la thérapie de ce patient. Dans ce scénario, aucune économie liée à la prise en charge des patients avec toxicités aiguës n'est à considérer.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Au Québec, les experts appuient que près de 80 % des patients affectés par les cancers de stades 3 et 4 du système digestif, de la sphère ORL ou du sein sont susceptibles de recevoir un traitement à base de fluoropyrimidines. Toutefois, un faible pourcentage de ces patients pourrait développer des toxicités aiguës sous forme de diarrhée, de neutropénie ou de mucite de grades 3 à 4 ou de grade 5 dans les cas isolés. Selon une étude rétrospective, les patients porteurs de l'allèle *DPYD**2A ont été hospitalisés pour une période moyenne de 18 jours pour cause de toxicité, tandis que les non porteurs l'étaient en moyenne pendant 2,5 jours [Bosch *et al.*, 2007]. Les toxicités aiguës causées par les fluoropyrimidines étant rares, les experts soutiennent qu'il soit improbable d'utiliser l'analyse d'emblée chez tous les patients qui recevront des fluoropyrimidines, et ce, en raison du délai d'initiation des traitements inhérent à l'attente du résultat de génotypage. De plus, l'efficacité des fluoropyrimidines pourrait être affectée si les doses de traitement sont au préalable réduites. Dans le cas où un patient subirait des toxicités aiguës ou intermédiaires, le génotypage d'une ou de plusieurs mutations serait utilisé pour vérifier la présence d'un allèle causant la déficience en DPD avant d'éventuellement réintroduire le traitement. Pour les cas positifs, la nécessité de réduire les doses ou d'arrêter complètement le traitement serait alors évaluée par le médecin traitant.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

BlueCross BlueShield

Dans un rapport rédigé en 2009, les experts du BlueCross BlueShield reconnaissent que le risque de toxicité au 5-FU grave ou mortelle chez les porteurs homozygotes de l'allèle déficient du *DPYD* est latent. Selon eux, la valeur prédictive d'un test de génotypage d'un allèle du *DPYD* pour évaluer le risque de toxicité au 5-FU serait faible. Ces experts rapportent qu'aucune étude n'avait jusqu'alors démontré qu'en diminuant la dose de 5-FU afin d'en éviter la toxicité, son efficacité serait maintenue [BCBS, 2009].

Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

Le Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) préconise la détection de trois variantes consensuelles : *DPYD**2A, *D949V* (2846 A<T), et *DPYD**13 (*I560S*), qui sont majoritairement rencontrées chez les patients sujets aux toxicités au 5-FU. D'une part, les porteurs hétérozygotes des variantes déficitaires du gène *DPYD* démontrent un déficit partiel de l'enzyme, dont l'activité varie de 30 % à 70 % de celle des non porteurs. Le Consortium relève toutefois que l'existence de ces allèles chez une personne n'implique pas toujours une manifestation de toxicité aiguë suite au traitement. Toutefois, une réduction de 50 % de la dose de traitement et le choix d'une option de traitement autre que les fluoropyrimidines sont recommandés respectivement pour les porteurs hétérozygotes et les porteurs homozygotes [Caudle *et al.*, 2013].

Fédération francophone de cancérologie digestive

La Fédération francophone de cancérologie digestive en France a élaboré un projet afin d'établir une future prescription sécurisée des fluoropyrimidines basée sur un dépistage systématique et préthérapeutique des déficits en DPD [FFCD, 2016].

Groupe de pharmacologie clinique oncologique

Le Groupe de pharmacologie clinique oncologique en France (GPCO) préconise :

- d'effectuer un dépistage du déficit en DPD avant la mise en route d'un traitement à base de 5-FU ou de capécitabine, tout particulièrement chez les patients à risque élevé de toxicité;
- la présence à proximité d'un laboratoire effectuant le test de dépistage du déficit en DPD, quelle que soit l'approche méthodologique utilisée;
- l'analyse du phénotype DPD par le dosage du dihydrouracile et de l'uracile plasmatique et/ou la recherche des trois variantes du gène *DPYD* : *DPYD*2A*, *D949V*, et *DPYD*13*;
- une contre-indication de l'utilisation des fluoropyrimidines en cas de déficit total;
- une réduction de posologie pour la première cure de 25 % à 50 % en cas de déficit partiel et en fonction des autres paramètres cliniques (âge, état général, comorbidités, protocoles suivis). Pour les cures suivantes, un ajustement progressif de la dose en fonction de la tolérance doit être envisagé [GPCO, 2016 #8547].

College of American Pathologists

Le College of American Pathologists a récemment ajouté à son catalogue de tests pharmacogénomiques une nouvelle analyse permettant d'identifier les variantes *DPYD*2A*, *DPYD*13* et *D949V* à des fins de validation [CAP, 2017].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Plus de 80 % du catabolisme et de la désactivation des fluoropyrimidines administrées aux patients atteints de cancer sont effectués par la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) qui est l'enzyme clé de ce mécanisme. Les déficits en DPD sont causés par des mutations, à l'instar du *DPYD*2A*, qui altèrent son activité enzymatique. La prévalence d'un déficit en DPD est de 3 % à 5 % chez les patients atteints de cancer et de 1 % chez les individus en bonne santé. Toutefois, la prévalence de cette mutation est de 0,2 % pour les porteurs homozygotes et peut aller jusqu'à 5 % pour les porteurs hétérozygotes au sein des populations caucasiennes.

Parmi les porteurs de l'allèle *DPYD*2A* traités à base de fluoropyrimidines, le risque d'expérimenter une toxicité générale grades ≥ 3 a été estimé à au moins 5 fois plus élevé que celui des non porteurs. La stratification par type de toxicité grades ≥ 3 met en évidence, chez les porteurs de l'allèle *DPYD*2A*, un risque plus élevé : de toxicité hématologique, de mucites et de diarrhées, équivalent à respectivement 15,8 ; 7,5 ; et 5,5 fois plus que celui des non porteurs.

L'incidence d'une toxicité de grades ≥ 3 aux fluoropyrimidines a été réduite de 73 %, dans une cohorte non soumise au génotypage de l'allèle *DPYD*2A*, à 28 % dans la cohorte ayant été au préalable testée avant le traitement. Par ailleurs, une amélioration de la valeur prédictive positive a été démontrée lorsque les mutations *DPYD*2A* et 2846A>T sont simultanément recherchées.

Des laboratoires et compagnies localisés aux États-Unis, en France et en Allemagne ont mis le test de génotypage de plusieurs variantes du *DPYD* à la disposition du public afin de favoriser une utilisation sécuritaire des fluoropyrimidines. Malgré l'évidence des toxicités aiguës aux fluoropyrimidines chez les patients présentant des déficits en DPD, aucune analyse pharmacogénétique n'a encore été approuvée ni par Santé Canada, ni par la FDA. Toutefois, les monographies des fluoropyrimidines recommandent une réduction (50 %) de la dose administrée ou une autre option de traitement pour les patients dont le déficit en DPD est connu.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Génotypage de la mutation *DPYD*2A* du gène de la dihydropyrimidine déshydrogénase (*DPYD*) par PCR en temps réel

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

- ✓ Les membres du comité reconnaissent la valeur pronostique et thérapeutique du test au regard des données cliniques publiées et présentées en appui.
- ✓ Concernant la validation analytique, l'utilisation d'un plus grand nombre d'échantillons est nécessaire avant la mise en production du test.
- ✓ L'accès rapide aux résultats constitue un enjeu important pour cette analyse.
- ✓ L'analyse des autres variantes défectueuses de la dihydropyrimidine déshydrogénase devrait être considérée.

ANNEXE A

Liste de compagnies ou laboratoires hors Québec et produits de génotypage de *DPYD*

NOM DE LA COMPAGNIE OU DU LABORATOIRE	RÉFÉRENCE DU PRODUIT OU DE L'ANALYSE	ALLÈLE TESTÉ	NOM DU PRODUIT OU DE L'ANALYSE
Entrogen Inc.	DPYD-RT50	<i>DPYD</i> *2A	DPYD*2A genotyping kit [†]
<i>Molecular Diagnostics Laboratories</i>	CPT code : 81400	<i>DPYD</i> *2A	Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPYD)/5-FU Sensitivity Test [§]
Immundiagnostik AG	KF390006	<i>DPYD</i> *2A, *3, *4, *7, *8, *10, *12, *13, <i>DPYD</i> M166V, DPYD A551T, DPYD D949V	MutaCHIP 5-FU ^{MC} Kit [‡]
Fisher Thermoscientific	Cat# 4362691	DPYD*2A (rs3918290)	TaqMan ^{MC} SNP Genotyping Assays
Mayo Medical Laboratories	5FSGB	Toute variante du gène <i>DPYD</i>	Fluoropyrimidine Drug (5 - FU) Sensitivity Genotyping Blood
Prevention Genetics LLC	1238	DPYD	Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency

† : Cette trousse commerciale a été développée aux États-Unis uniquement à des fins de recherche et en Europe elle est admise pour les épreuves de diagnostic *In Vitro*. ‡ : Cette trousse commerciale a été développée en Allemagne et est utilisée pour des épreuves de diagnostic *In Vitro* § : Le laboratoire recommande d'accompagner cette analyse d'une mesure directe de l'activité de DPD avant le traitement des patients atteints de cancer. Cette analyse n'a pas été approuvée par la FDA.

RÉFÉRENCES

- BlueCross BlueShield Association (BCBS). Pharmacogenetic testing to predict serious toxicity from 5-Fluorouracil (5-FU) for patients administered 5-FU-based chemotherapy for cancer [site Web]. Technology Evaluation Center. Chicago, IL : BCBS; 2009. Disponible à : <https://web.archive.org/web/20100422235215/http://www.bcbs.com/blueresources/tec/press/pharmacogenetic-testing-to.html>.
- Boisdron-Celle M, Morel A, Gamelin E. Déficits en dihydropyrimidine déshydrogénase et toxicité aux fluoropyrimidines. *Ann Biol Clin (Paris)* 2010;68(1):27-32.
- Bosch TM, Bakker R, Schellens JH, Cats A, Smits PH, Beijnen JH. Rapid detection of the DPYD IVS14+1G>A mutation for screening patients to prevent fluorouracil-related toxicity. *Mol Diagn Ther* 2007;11(2):105-8.
- Caudle KE, Thorn CF, Klein TE, Swen JJ, McLeod HL, Diasio RB, Schwab M. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94(6):640-5.
- College of American Pathologists (CAP). 2017 Surveys and anatomic pathology education programs. Northfield, IL : CAP; 2016. Disponible à : <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/2017-surveys-catalog.pdf>.
- Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A, Sechterberger MK, Severens JL, Boot H, et al. Upfront genotyping of DPYD*2A to individualize fluoropyrimidine therapy: A safety and cost analysis. *J Clin Oncol* 2016;34(3):227-34.
- Deenen MJ, Tol J, Burylo AM, Doodeman VD, de Boer A, Vincent A, et al. Relationship between single nucleotide polymorphisms and haplotypes in DPYD and toxicity and efficacy of capecitabine in advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17(10):3455-68.
- Fédération francophone de cancérologie digestive (FFCD). Résumé du PHRC-K « FUSAFE » 2015-2017. Dépistage du déficit en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) pour éviter les toxicités sévères aux fluoropyrimidines : méta-analyses et état des lieux des pratiques en France [site Web]. Dijon, France : FFCD; 2016. Disponible à : <http://www.ffcd.fr/index.php/essais-therapeutiques/33-essais-therapeutiques> (consulté le 6 octobre 2016).
- Groupe de pharmacologie clinique oncologique (GPCO). Dépistage du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de 5FU (fluorouracile) ou de capécitabine (Xéloa). Paris, France : Unicancer; 2016. Disponible à : http://www.unicancer.fr/sites/default/files/guidelines_gpc-unicancer_dpd_et_fluoropyrimidines.pdf.
- Heggie GD, Sommadossi JP, Cross DS, Huster WJ, Diasio RB. Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine, and bile. *Cancer Res* 1987;47(8):2203-6.
- Khushman MM, Hosein PJ, Cameron D, Clarkson DR, Butler TW, Vu MA, et al. Germline pharmacogenomics in patients with dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency. *J Clin Oncol* 2016;34(Suppl 4):abstract 521.

- Laliberté M. Le triacétate d'uridine : un nouvel antidote pour le traitement de l'intoxication au 5-fluorouracil. Bulletin d'information toxicologique 2011-04-15. Québec, Qc : Institut national de santé publique du Québec (INSPQ); 2011. Disponible à : <https://www.inspq.qc.ca/toxicologie-clinique/le-triacetate-d-uridine-un-nouvel-antidote-pour-le-traitement-de-l-intoxication-au-5-fluorouracil> (consulté le 4 octobre 2016).
- Lee AM et Diasio RB. Genetic biomarkers for Fluorouracil toxicity prediction: The long road to clinical utility. *J Clin Oncol* 2014;32(10):989-90.
- Lee AM, Shi Q, Pavey E, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, et al. DPYD variants as predictors of 5-fluorouracil toxicity in adjuvant colon cancer treatment (NCCTG N0147). *J Natl Cancer Inst* 2014;106(12):dju298.
- Leung HW et Chan AL. Association and prediction of severe 5-fluorouracil toxicity with dihydropyrimidine dehydrogenase gene polymorphisms: A meta-analysis. *Biomed Rep* 2015;3(6):879-83.
- Lévy E, Piedbois P, Buyse M, Pignon JP, Rougier P, Ryan L, et al. Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: Effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol* 1998;16(11):3537-41.
- Poitras E et Houde A. La PCR en temps réel : principes et applications. *Rev Biol Biotechnol* 2002;2(2):2-11.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2016. Toronto, ON : SCC; 2016. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/canadian-cancer-statistics-publication/?region=qc>.
- Terrazzino S, Cargnin S, Del Re M, Danesi R, Canonico PL, Genazzani AA. DPYD IVS14+1G>A and 2846A>T genotyping for the prediction of severe fluoropyrimidine-related toxicity: A meta-analysis. *Pharmacogenomics* 2013;14(11):1255-72.
- Wei X, Elizondo G, Sapone A, McLeod HL, Raunio H, Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. Characterization of the human dihydropyrimidine dehydrogenase gene. *Genomics* 1998;51(3):391-400.

DOSAGE DU (1-3)- β -D-GLUCANE SÉRIQUE (RÉFÉRENCE – 2015.02.004R)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU de Québec – Hôtel-Dieu de Québec

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 décembre 2016

1.3 Date de publication de l'avis : 17 février 2017

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.

Mise en situation

Le présent document constitue une réévaluation de l'avis « Dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique » qui a été publié le 22 février 2016.

Conflit d'intérêts

Le D^r François Rousseau n'a pas participé aux délibérations et 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 respectif.

Aux fins de validation du présent avis, l'expert consulté est :

- D^r Simon Frédéric Dufresne, microbiologiste-infectiologue à l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

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

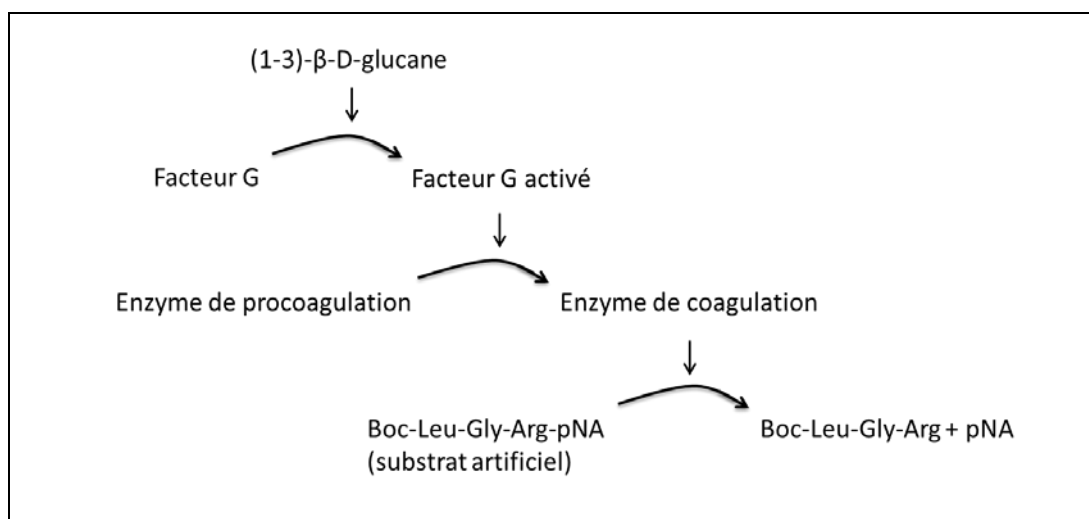
2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

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. Le principe s'appuie sur la propriété qu'ont les amibocytes du limule 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^{MC} est réalisé dans des microplaques sans étape de lavage. Les valeurs de BDG obtenues sont interprétées comme suit [ACCI, 2011] :

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

Figure 1 Mécanisme du réactif Fungitell^{MC}



Source : Inspiré du dépliant de la trousse Fungitell^{MC} [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'une infection fongique profonde 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, soit au moins 2 fois par semaine.

2.4 Société ou concepteur

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

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Santé Canada : 82148, émis le 2 mars 2010

FDA : 866.3050, émis le 21 mai 2004

2.6 Valeur pondérée : 197,14

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique (BDG) pourrait procurer une information utile pour prendre des décisions cliniques dans les conditions suivantes :

- Patients atteints de néoplasies hématologiques et neutropénies chez qui on suspecte une infection fongique invasive;
- Suspicion de candidose invasive chez les patients dont les risques sont reconnus;
- Complément au diagnostic présumé de pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*.

3.2 Description de la maladie visée

Candidose invasive

Au Canada, des mycètes du genre *Candida* sont observés dans 85 % des cas d'infections fongiques invasives [Haider *et al.*, 2014]. Au Québec, 453 cas de candidémies² 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 candidose invasive 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 candidose invasive, la probabilité de survie à 90 jours est de 59 % [Haider *et al.*, 2014].

Aspergillose invasive

Des *Aspergillus* sont observés dans 14,4 % des infections fongiques invasives au Canada [Haider *et al.*, 2014]. L'aspergillose pulmonaire invasive est la principale manifestation de l'infection par des *Aspergillus spp.* chez les 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 peuvent être asymptomatiques, ce qui rend le diagnostic différentiel plus complexe [Enoch *et al.*, 2006]. Suivant un diagnostic d'aspergillose invasive, la probabilité de survie à 90 jours est de 66 % [Haider *et al.*, 2014].

Pneumocystose

Pneumocystis jirovecii est observé dans 4,9 % des infections fongiques invasives au Canada [Haider *et al.*, 2014]. Basé sur le nombre annuel de cas au Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) et de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, l'incidence de la pneumocystose pourrait représenter environ 75 infections par an au Québec³.

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

² La candidose invasive inclut des entités cliniques autres que la candidémie, dans lesquelles les hémocultures sont typiquement négatives. Les candidémies représentent environ 50 % des candidoses invasives. C'est justement pour les formes de candidose invasive sans candidémie associée que le BDG a un avantage théorique par rapport à l'hémoculture traditionnelle. Communications personnelles avec le D^r Simon Frédéric Dufresne, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (15 novembre 2016).

³ Communications personnelles avec le D^r Simon Frédéric Dufresne, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (6 octobre 2016).

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 prévu d'analyses et de patients visés

Aucun nombre n'a été avancé par le demandeur. Selon les experts consultés, entre 500 et 1 000 tests sont à prévoir annuellement pour le Québec, considérant une utilisation routinière pour le diagnostic de la pneumocystose. L'inclusion des patients à risque d'infection fongique invasive admis aux soins intensifs pourrait entraîner une augmentation importante du nombre d'analyses⁴.

3.4 Spécialités médicales concernées

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

3.5 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 malgré la présence d'une candidose profonde bien installée dans certains cas [Clancy et Nguyen, 2013]. Pour cette raison, les patients présentant des symptômes compatibles avec la candidose invasive sont traités avec des antifongiques sans attendre le résultat des hémocultures⁵.

Pour l'aspergillose invasive, le diagnostic repose sur la tomodensitométrie (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 % chez les patients atteints d'une pathologie hématologique (patients considérés à risque élevé pour l'aspergillose invasive) [Schelenz *et al.*, 2015]. Le galacto-mannane, qui est un polysaccharide spécifique à la paroi des *Aspergillus spp.*, est relâché lors de la croissance des hyphes. Il peut être détecté par une méthode immuno-enzymatique⁶. Cette épreuve de laboratoire a été réalisée à 9 616 reprises au Québec au cours de l'année financière 2014-2015⁷. La tendance actuelle pour diagnostiquer l'aspergillose avec des tests moléculaires est de réaliser une épreuve par PCR en plus de la recherche de galacto-mannane⁸.

Pour la pneumocystose, le diagnostic repose sur la tomodensitométrie (opacité pulmonaire typique) et la mise en évidence de kystes de *P. jirovecii* par microscopie en immunofluorescence ou en cytologie (coloration de Grocott ou bleu de toluidine) sur du liquide broncho-alvéolaire [Huang *et al.*, 2011]. Cette épreuve de laboratoire a été réalisée à 2 788 reprises en 2014-2015⁹.

⁴ Communications personnelles avec le D^r Simon Frédéric Dufresne, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (6 octobre 2016).

⁵ Communications personnelles avec le D^r Claude Lemieux, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Notre-Dame du CHUM (10 septembre 2015).

⁶ Informations tirées de la trousse commerciale Platelia^{MC} *Aspergillus*, offerte par BioRad (Marnes-la-Coquette, France), homologuée par Santé Canada comme instrument de diagnostic médical (numéro de l'homologation : 86866).

⁷ Informations fournies par le ministère de la Santé et des Services sociaux.

⁸ Communications personnelles avec le D^r Simon Frédéric Dufresne, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (6 octobre 2016).

⁹ Informations fournies par le ministère de la Santé et des Services sociaux.

3.6 Données médico-administratives

Selon les données du ministère de la Santé et des Services sociaux, 192 analyses de dosage du BDG ont été effectuées en 2013-2014 et 204 en 2014-2015. Ces analyses ont été réparties entre deux laboratoires américains : Beacon Diagnostics Laboratory et Mira Vista Diagnostics (Tableau 1). Les deux laboratoires utilisent la trousse Fungitell^{MC} pour doser le BDG. Pour l'année 2014-2015, 180 des 204 demandes proviennent du CHU de Québec¹⁰.

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

ANNÉES	VOLUME ANNUEL	COÛT UNITAIRE (\$)	COÛT TOTAL (\$)
2012-2013	138	120	17 267
2013-2014	192	128,95	24 758
2014-2015	204	139,89	28 537

3.7 Brève description des avantages allégués 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 BDG est utile pour le diagnostic de la pneumocystose, puisqu'il est à la fois non invasif et suffisamment sensible pour permettre d'écarter un diagnostic de pneumocystose sans procédure invasive [Onishi *et al.*, 2012].

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'infection fongique invasive plus rapidement qu'avec les méthodes diagnostiques conventionnelles. Son dosage répété chez des patients à risque de développer une infection fongique invasive permet de déceler des preuves de celle-ci jusqu'à 25 jours précédant l'apparition de la fièvre [Senn *et al.*, 2008].

3.8 Assurance qualité

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 aux exercices de contrôle de la qualité externe qui sont proposés par le laboratoire d'Associates of Cape Cod Inc. et qui sont constitués de 10 échantillons à tester 2 fois par année.

Le demandeur compte encadrer l'activité par des algorithmes de validation interne qui prévoient de répéter périodiquement l'analyse d'un certain nombre d'échantillons à des jours différents et d'apporter des correctifs s'il y a lieu selon des schémas inspirés par les documents du Clinical Laboratory Standard Institute.

¹⁰ Idem.

Le demandeur compte explorer la possibilité d'automatiser l'analyse selon la méthode décrite par Prüller et ses collaborateurs [2014]. Le laboratoire du demandeur possède déjà deux analyseurs semblables à ceux qui sont utilisés dans cette étude.

3.9 Remplacement d'un autre test

Le dosage de BDG est complémentaire aux analyses disponibles pour le diagnostic des infections fongiques.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

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

4.1.1 Performance du dosage de BDG sérique pour le diagnostic des infections fongiques invasives

Deux revues avec méta-analyse traitant du diagnostic des infections fongiques invasives ont été rejetées; celle de He et ses collaborateurs [2015] avait comme objectif principal de déterminer la valeur seuil optimale pour chaque trousse de dosage du BDG alors que celle de Karageorgopoulos et ses collaborateurs [2011] présentait des lacunes méthodologiques. Les publications retenues relativement au diagnostic des infections fongiques invasives sont les suivantes :

- Hou et ses collaborateurs [2015] (11 études de cohorte prospective traitant du dépistage des infections fongiques invasives);
- Onishi et ses collaborateurs [2012] (31 études traitant seulement des infections invasives à *Candida* et à *Aspergillus*);
- Lamothe et ses collaborateurs [2012] (6 études de cohorte incluant plus de 50 % de patients en héματο-oncologie et à risque de développer une infection fongique invasive);
- Lu et ses collaborateurs [2011] (13 études incluant des patients immunosupprimés ou à risque de développer une infection fongique invasive).

Afin d'apprécier la valeur du dosage de BDG sérique dans le diagnostic des infections fongiques invasives, les méta-analyses présentées dans cet avis ont toutes retenu les critères de l'EORTC/MSG comme référence relativement à la présence, possible, probable et confirmée d'une infection fongique invasive (annexe B). De plus, la capacité du test à correctement identifier la présence d'une IFI a été comparée à d'autres méthodes diagnostiques telles que les résultats d'autopsie, d'hémocultures, de cultures de tissus habituellement stériles et d'examens histopathologiques.

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 dosage du BDG, les études primaires ayant recruté des patients sains comme témoins n'ont pas été retenues dans les méta-analyses à l'exception de celle d'Onishi et ses collaborateurs [2012]. Une analyse de sous-groupe de laquelle les témoins sains ont été exclus a toutefois été réalisée.

Performance globale

Les données de performance globale sont présentées au tableau 2. 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 %;
- Probabilité de confirmer une infection fongique invasive de 16,3 à 25,7 fois plus élevée lorsque le test de BDG est positif plutôt que négatif (rapport de cotes diagnostiques).

Tableau 2 Performance globale du BDG pour le diagnostic des 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]	Non disponible	p=0,007 $I^2 = 71,6 \%$
Lu, 2011 (13)	76 [67-83]	85 [73-92]	18,04 [§]	0,85 [0,81-0,88]	Hétérogénéité élevée notée sur tous les indices (données non fournies)

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; I^2 = indice I^2 du test d'inconsistance; N : nombre; Q : méthode Q de Cochran, ROC : *receiver operating characteristic*.

* Hou et ses collaborateurs [2015] précisent qu'une aire sous la courbe ROC entre 0,80 et 0,90 indique que l'analyse présente une bonne performance.

[†] La méta-analyse réalisée par Onishi et ses collaborateurs inclut des études dont les contrôles négatifs sont des patients sains.

[‡] 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.

[§] 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-.

Performance de la trousse Fungitell^{MC}

La performance globale présentée par les revues avec méta-analyse englobe des analyses réalisées avec différentes trousse permettant le dosage du BDG. Des analyses de sous-groupe visant à évaluer la performance diagnostique de la trousse Fungitell^{MC} ont été réalisées dans chaque méta-analyse. Les données de performance de la trousse Fungitell^{MC} pour le diagnostic des infections fongiques invasives sont présentées au tableau 3. Relativement au diagnostic des infections fongiques invasives, la trousse Fungitell^{MC} présente les données de performance suivantes :

- sensibilité de 70 % à 82 %;
- spécificité de 77 % à 86 %;
- Probabilité de confirmer une infection fongique invasive de 11,22 à 26,52 fois plus élevée lorsque le test Fungitell^{MC} est positif plutôt que négatif.

Tableau 3 Performance de la trousse Fungitell^{MC} 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 (6)	82 [68-90]	86 [77-92]	26,52 [11,72-60,07]	0,90 [0,88-0,93]
Onishi, 2012 (15)	75 [71-79]	77 [75-79]	12,0 [6,1-23,7]	0,86 [0,79-0,93]
Lamoth, 2012 (4)	70 [n.d.]	81 [n.d.]	n.d.	0,80 [n.d.]
Lu, 2011 (8)	75 [67-82]	79 [61-90]	11,22* [n.d.]	0,80 [0,76-0,83]

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre; ROC : *receiver operating characteristic*.

* 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-.

Performances du dosage de BDG relativement au diagnostic de l'aspergillose invasive et de la candidose invasive

En excluant l'étude de Lamoth [2012], le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique pour le diagnostic de la candidose invasive présente les données de performance suivantes :

- sensibilité de 77,9 % et 81 %;
- spécificité de 77 % et 81 %.

De même, pour le diagnostic de l'aspergillose invasive, il présente les données de performance suivantes :

- sensibilité de 73 % et 77 %;
- spécificité de 81 % et 83 %.

L'étude de Lamoth présente une sensibilité plus faible pour le diagnostic de la candidose invasive (57 %) et une spécificité plus élevée pour les deux types d'infections (97 %) [Lamoth *et al.*, 2012]. Ces différences pourraient s'expliquer par la sélection d'études portant sur une population composée majoritairement de patients atteints de cancers hématologiques (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4 Performances du BDG pour le diagnostic de 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]	n.d.
Lu, 2011 (8)	77,9 [n.d.]	n.d.	n.d.	n.d.

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre; n.d. : non disponible; ROC : *receiver operating characteristic*.

Tableau 5 Performances du BDG pour le diagnostic de 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]	n.d.
Lu, 2011 (11)	76,8 [n.d.]	n.d.	n.d.	n.d.

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre; n.d. : non disponible; ROC : *receiver operating characteristic*.

La performance du BDG sérique établie par les méta-analyses quant au diagnostic de la candidose invasive et de l'aspergillose invasive ne tenait compte ni de la trousse utilisée, ni de la valeur seuil utilisée pour déterminer les cas positifs. Les études réalisées avec la trousse Fungitell^{MC} à un seuil de positivité de 80 pg/ml qui sont incluses dans les méta-analyses sont présentées plus en détail aux annexes C et D.

Performances du dosage de BDG relativement aux caractéristiques de la population cible

En ce qui concerne la performance du dosage de BDG relativement au diagnostic d'une infection fongique invasive chez différentes populations cibles, rappelons d'abord que la méta-analyse réalisée par Lamoth et ses collaborateurs [2012] portait sur une population majoritairement composée de patients atteints de cancers hématologiques. De plus, la performance de l'analyse en fonction de différentes populations a été évaluée par Lu et ses collaborateurs (tableau 6). Globalement, le dosage de BDG présente de meilleures données de performance relativement au diagnostic d'une infection fongique invasive chez les patients atteints de désordres hématologiques comparativement à ceux qui ont reçu une greffe d'organe. Toutefois, cette conclusion devrait être interprétée avec précaution, puisqu'une hétérogénéité significative existe entre les données présentées pour les différentes populations (données non fournies) [Lu *et al.*, 2011].

Tableau 6 Performances diagnostiques du BDG chez des patients présentant différents facteurs de risque

PARAMÈTRES (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]
Cancers 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]

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre.

4.1.2 Performance du dosage de BDG sérique pour le diagnostic de la pneumocystose

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

- Li et ses collaborateurs [2015] (13 études réalisées chez des patients à risque d'une maladie pulmonaire et immunocompromis);
- Karageorgopoulos et ses collaborateurs [2013] (14 études traitant de la performance du BDG pour le diagnostic de la pneumocystose chez des patients à risque et chez des patients atteints d'autres maladies respiratoires);
- Onishi et ses collaborateurs [2012] (12 études traitant de la validité du BDG pour le diagnostic de la pneumocystose).

Afin d'apprécier la valeur du test de BDG sérique dans le diagnostic de la pneumocystose, les méta-analyses présentées ont comparé la capacité du test à correctement identifier celle-ci face à des méthodes diagnostiques telles que les résultats d'autopsie, d'examen histopathologiques, de cytologie ou de microscopie et d'analyses moléculaires.

Les données de performance du dosage de (1-3)- β -D-glucane sérique pour le diagnostic de la pneumocystose sont présentées au tableau 7. Les méta-analyses traitant spécifiquement du diagnostic de la pneumocystose par le dosage du BDG présentent respectivement les données de performance suivantes [Li *et al.*, 2015; Karageorgopoulos *et al.*, 2013; Onishi *et al.*, 2012] :

- Sensibilité de 91 % à 96 %;
- Spécificité de 75 % à 86,3 %;
- Probabilité de confirmer une pneumocystose de 30 à 113,7 fois plus élevée lorsque le test de BDG est positif plutôt que négatif;
- L'hétérogénéité des résultats obtenus selon les diverses études retenues de ces méta-analyses n'était pas significative.

Tableau 7 Performance globale du dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique pour le diagnostic 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
Li, 2015 (13)	91 [88-93]	75 [68-81]	30* N.d.	0,91 [88-93]	n.d. [†]
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 = n.d. p = 0,31 I ² = n.d.
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 %

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; I² = indice I² du test d'inconsistance; N : nombre; N.d. : non disponible; Q : méthode Q de Cochran, ROC : *receiver operating characteristic*.

*Le rapport de cotes diagnostiques a été calculé par l'INESSS en divisant le rapport de vraisemblance positif (LR+ = 3,60) par le rapport de vraisemblance négatif (LR- = 0,12)

†L'hétérogénéité a été déterminée pour chacun des paramètres et non pour l'ensemble. La valeur d'hétérogénéité était significative pour la spécificité (I² : 78,17; p = 0,00) alors qu'elle était non significative pour la sensibilité (I² : 0,91; p = 0,76).

Karageorgopoulos et ses collaborateurs [2013] ont déterminé un rapport de vraisemblance négatif (*negative likelihood ratio*) de 0,06 [IC95 % : 0,03-0,11], ce qui signifie qu'il est peu probable d'obtenir un résultat négatif chez un patient atteint de pneumocystose.

Finalement, l'aire sous la courbe ROC supérieure à 0,90 indique une précision très élevée du BDG pour le diagnostic de la pneumocystose [Karageorgopoulos *et al.*, 2013].

Karageorgopoulos et Onishi concluent que la sensibilité du BDG permet son utilisation comme test de dépistage de la pneumocystose [Karageorgopoulos *et al.*, 2013; Onishi *et al.*, 2012].

Les données de performances déterminées par Li et ses collaborateurs sont plus faibles que celles des autres méta-analyses. Celles réalisées par Karageorgopoulos et Onishi ont inclus des études dans lesquelles les patients n'étaient pas testés consécutivement ou recrutés aléatoirement. De plus Onishi et ses collaborateurs ont exclu les patients qui ont reçu d'autres diagnostics d'infections fongiques invasives [Li *et al.*, 2015].

Performance de la trousse Fungitell^{MC} pour le diagnostic de la pneumocystose

La méta-analyse réalisée par Onishi et ses collaborateurs a établi la performance de la trousse Fungitell^{MC} quant au diagnostic de la pneumocystose à partir de 5 études. La trousse a présenté les données de performance suivantes [Onishi *et al.*, 2012] :

- Sensibilité de 98 % [IC95 % : 93-100];
- Spécificité de 83 % [IC95 % : 81-85];
- Probabilité de confirmer une pneumocystose de 139,2 [IC95 % : 44,5-435,5] fois plus élevée lorsque le test Fungitell^{MC} est positif plutôt que négatif.

Les études réalisées avec la trousse Fungitell^{MC} à un seuil de positivité de 80 pg/ml qui sont incluses dans les méta-analyses sont présentées plus en détails à l'annexe E.

Performance du dosage de BDG relativement aux caractéristiques de la population cible

Onishi et Li ont déterminé la performance du BDG selon que les patients étaient porteurs du VIH ou non. Alors qu'Onishi n'a constaté aucune différence significative dans la performance diagnostique du BDG sérique entre la population ayant le VIH et celle ne l'ayant pas, Li a démontré une différence significative de sensibilité entre les deux groupes ($p = 0,04$) (Tableau 8) [Li *et al.*, 2015; Onishi *et al.*, 2012].

Tableau 8 Performances du BDG pour le diagnostic de la pneumocystose chez des patients porteurs du VIH ou non d'après la méta-analyse de Li et ses collaborateurs [2015]

PARAMÈTRES (N ÉTUDES)	SENSIBILITÉ % [IC95 %]	Valeur p	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]	Valeur p
VIH (3)	92 [88-95]	0,04	78 [64-92]	0,47
Autres (6)	85 [77-94]		73 [61-85]	

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; n : nombre.

Suivant la différence de sensibilité du dosage de BDG quant au diagnostic de la pneumocystose chez les patients porteurs du VIH ou non, Li et ses collaborateurs arrivent à des conclusions distinctes pour les deux groupes. Selon eux, le dosage de BDG peut être utilisé comme test complémentaire de dépistage de la pneumocystose chez les patients porteurs du VIH compte tenu de sa sensibilité élevée et sa spécificité modérée. Toutefois, chez les patients testés qui ne sont pas porteurs du VIH, les résultats devraient être interprétés conjointement aux évidences cliniques et radiologiques [Li *et al.*, 2015].

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

4.4.1 Données de la trousse Fungitell^{MC}

Pour la détection des infections fongiques invasives (en incluant la cryptococcose), les données de validation apparaissant dans la monographie de la trousse Fungitell^{MC} présentent une sensibilité de 65,0 % [IC95 % : 60,1-70,0] et une spécificité de 81,1 % [IC95 % : 77,1-85,2]. Ces données ont été établies avec 359 échantillons cliniques. Quatre centres hospitaliers ont testé 285 de ces échantillons et ont obtenu des sensibilités et spécificités respectivement plus faibles de 2,8 % et de 7,0 % qu'Associates of Cape Cod Inc. [ACCI, 2011]. La performance établie par les différents centres hospitaliers est présentée au tableau 9.

Le livret de la trousse Fungitell^{MC} présente une corrélation de 96,4 % de ces 285 échantillons lorsque testés par Associates of Cape Cod Inc. et par les centres hospitaliers [ACCI, 2011]. Toutefois les données fournies dans le livret ne permettent pas de vérifier cette corrélation.

Tableau 9 Performance de la trousse Fungitell^{MC} établie par Associates of Cape Cod Inc. et par des centres hospitaliers

SITES	PATIENTS AVEC IFI DÉMONTRÉE OU PROBABLE			PATIENTS SANS IFI			Résultats équivoques ≥ 60 et < 80 pg/ml
	ÉCHANTILLONS	Sensibilité (%), ≥ 80 pg/ml		ÉCHANTILLONS	Spécificité (%), < 60 pg/ml		
		ACCI	SITES		ACCI	SITES	
1	50	64,0	64,0	40	97,5	70,0	4
2	24	58,3	50,0	20	85,0	75,0	5
3	33	75,8	66,7	43	86,0	93,0	5
4	36	58,3	61,1	39	76,9	76,9	7
total	143	64,3	61,5	142	86,6	79,6	21*

Abréviation : IFI : infection fongique invasive.

*21 résultats équivoques ont été obtenus par les centres hospitaliers et 18 par Associates of Cape Cod Inc.

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 candidose invasive, la trousse Fungitell^{MC} a présenté une sensibilité de 82,9 % sur une sérothèque de 175 échantillons [ACCI, 2011].

La répétabilité de la trousse Fungitell^{MC} a été déterminée par l'analyse de 6 échantillons positifs par 3 centres médicaux à 3 jours différents. Les coefficients de variation intra-essais et inter-essais ont respectivement été de 0,9 % à 28,9 % et de 3,9 % à 23,8 %.

4.4.2 Limites du dosage de BDG

Le dosage du BDG sérique comporte plusieurs limites. Entre autres, certains champignons produisent peu ou pas de BDG tels que *Cryptococcus spp.*, *Absidia spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Blastomyces dermatitidis* et risquent d'engendrer des résultats faux négatifs au dosage du BDG [ACCI, 2011].

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 [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 [Sulhian *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].

Les conditions suivantes spécifiques aux échantillons peuvent créer une interférence avec un résultat précis de dosage Fungitell^{MC} [ACCI, 2011] :

- Hémolyse
- Lipémie
- Présence de bilirubine
- Sérum trouble

4.4.3 Validation externe de la trousse Fungitell^{MC}

L'Associated Regional and University Pathologists, Inc. (ARUP) a réalisé une étude de validation de la trousse Fungitell^{MC} pour contribuer au diagnostic des infections fongiques invasives [Pickering *et al.*, 2005]. Le dosage du BDG a été réalisé sur des échantillons sériques provenant de donneurs sains (36 patients), d'hémocultures positives à levures (15 patients) et à bactéries (25 patients) et de patients chez qui on suspectait l'histoplasmosse (16 patients) ou l'aspergillose (64 patients). Les résultats obtenus ont été interprétés en fonction des valeurs seuils recommandées de la trousse Fungitell^{MC}. En utilisant comme vrais positifs les infections fongiques invasives démontrées par biopsie, la sensibilité était de 93,3 % et la 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 échantillons et les a acheminés au fabricant pour comparaison. Neuf échantillons ont présenté des résultats discordants entre les deux centres. Un coefficient de corrélation (R^2) de 0,9892 a été calculé [Pickering *et al.*, 2005].

La reproductibilité inter-essai du test pour doser le BDG a été mesurée à partir de 15 sérums de concentration variant de 85 pg/ml à 2197 pg/ml sur trois jours différents. Le coefficient de variation (CV) maximal enregistré était de 16,8 % pour un échantillon d'une concentration de 85 pg/ml de BDG. La reproductibilité intra-essai a été analysée avec quatre sérums testés en triplicata lors d'un même essai. Un CV maximal de 4,8 % a été obtenu avec un échantillon d'une concentration de 181 pg/ml de BDG [Pickering *et al.*, 2005].

4.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur propose l'utilisation d'algorithmes qui sont inspirés d'une conférence présentée au 25^e congrès de l'European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases qui a eu lieu à Copenhague en 2015 [Lamoth *et al.*, 2015]. Les algorithmes du demandeur sont présentés à l'annexe F.

4.5.1 Données de validation locale

Aucune donnée de validation locale n'est disponible, puisque l'analyse est effectuée par des laboratoires hors réseau.

4.5.2 Données de validation supplémentaires

Suite à des communications avec Associates of Cape Cod Inc., le demandeur a fourni des justifications à la variabilité de la trousse mentionnée dans le livret de la trousse Fungitell^{MC}. Le Dr Malcolm A. Finkelman (ACCI) a indiqué que la distribution des résultats des analyses intra-essais et inter-essais présentés dans le livret s'établit telle que présentée aux tableaux 10 et 11¹¹.

Tableau 10 Distribution des écarts obtenus lors des analyses intra-essais

¹¹ Les données de distribution des analyses intra-essais et inter-essais du Dr Malcolm A. Finkelman ont été transmises à l'INESSS par le biais de Dr René Pelletier le 4 mai 2016 et ont été fournies par Dr Malcolm A. Finkelman, Ph.D., responsable du développement de produit, Associates of Cape Cod Inc. le 10 mars 2016.

	DISTRIBUTION DES PAIRES D'ANALYSES INTRA-ESSAIS					
Écart (%)	< 5 %	5 – < 10 %	10 - < 15 %	15 - < 20 %	20 - < 25 %	25 - < 28,9 %
Échantillons	26	23	2	1	1	1

Tableau 11 Distribution des écarts obtenus lors des analyses inter-essais

	DISTRIBUTION DES PAIRES D'ANALYSES INTER-ESSAIS				
Écart (%)	< 5 %	5 – < 10 %	10 - < 15 %	15 - < 20 %	20 - < 23,8 %
Échantillons	0	26	10	14	4

Le demandeur a transmis des données de validation plus récentes fournies par Associates of Cape Cod Inc. qui font état d'une reproductibilité plus acceptable. L'analyse de 20 échantillons a été réalisée à 4 reprises par le même technicien sur des lecteurs de plaque différents. Les analyses ont été réalisées sur des échantillons de 60 pg/ml à 471 pg/ml et ont présenté une variation de 0,4 % à 11,7 % dont la distribution est présentée au tableau 12¹². Les analyses ont présenté une corrélation de 0,9929.

Tableau 12 Distribution des écarts obtenus lors des analyses inter-essais réalisées par Associates of Cape Cod Inc.

	DISTRIBUTION DES PAIRES D'ANALYSES INTER-ESSAIS				
Écart (%)	< 5 %	5 – < 10 %	10 - < 15 %	15 - < 20 %	20 - < 23,8 %
Échantillons	46	27	7	0	0

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique comme complément au diagnostic d'une pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 13 et repose principalement sur les hypothèses suivantes :

- Cette analyse s'ajoute aux mesures actuellement en place pour effectuer le diagnostic de la pneumocystose, soit la microscopie en immunofluorescence.
- En 2014-2015, le nombre d'analyses envoyées hors Québec était de 204.
- Le coût total des envois hors Québec était alors de 28 537 \$ pour un coût moyen de 140 \$ par analyse.
- Le rapatriement de tous les tests effectués hors Québec est anticipé.
- Selon les experts consultés, 500, 750 et 1 000 analyses sont prévues pour le Québec au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*.
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 197,14.

¹² Analyses réalisées au laboratoire de D^r Malcolm A. Finkelman, le 9 décembre 2015.

Tableau 13 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique comme complément au diagnostic d'une pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre d'analyses envoyées hors Québec si le test n'est pas ajouté au <i>Répertoire</i>	225	236	248	709
Coûts des envois hors Québec	31 475 \$	33 014 \$	34 693 \$	99 182 \$
Nombre d'analyses anticipées si le test est ajouté au <i>Répertoire</i>	500	750	1 000	2 250
Coûts si l'analyse est introduite	98 570 \$	147 855 \$	197 140 \$	443 565 \$
Coût différentiel	67 095 \$	114 841 \$	162 447 \$	344 383 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directs liés à l'introduction de l'analyse permettant le dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique au *Répertoire* comme complément au diagnostic d'une pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* sont estimés à 344 383 \$ pour le total des trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le délai d'obtention du résultat de cette analyse est critique. De même, l'efficacité du diagnostic de la pneumocystose est critique puisque, suite à ce dernier, certains patients immunosupprimés tels que les greffés ou ceux atteints de maladies auto-immunes, demeureront sous prophylaxie à vie¹³. La confirmation du diagnostic pourrait aussi permettre de mieux reconnaître des éclosions, qui sont de plus en plus observées dans les cohortes de greffés rénaux, incluant celles du Québec. L'identification rapide d'une éclosion est critique pour la mise en place des mesures appropriées pour la contenir et éviter des cas supplémentaires.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

L'Infectious Diseases Society of America (IDSA) a publié des recommandations concernant le diagnostic des infections fongiques invasives en 2016. Celle-ci indique que les tests diagnostiques sans culture, tel que le dosage du BDG, s'ajoutent à la pratique clinique comme complément aux cultures. Si utilisés et interprétés judicieusement, ces tests peuvent identifier plus de patients atteints de candidose invasive et mieux diriger les traitements antifongiques. Le test de BDG sérique est le plus utile lorsqu'utilisé dans une population dont la situation est particulièrement suggestive d'une candidose invasive. Il n'est toutefois pas recommandé d'utiliser le BDG sérique pour guider la prise en charge clinique en pédiatrie [Pappas *et al.*, 2016]. L'IDSA recommande également le dosage du BDG sérique pour le diagnostic de l'aspergillose invasive chez les patients à haut risque (cancers hématologiques, patients greffés de cellules souches hématopoïétiques) [Patterson *et al.*, 2016].

¹³ Communications personnelles avec le D^r Simon Frédéric Dufresne, microbiologiste-infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont (6 octobre 2016).

L'Infectious Diseases Society of America, conjointement avec l'American Society for Microbiology (ASM), avait déjà fait référence au dosage de BDG sérique dans un guide d'utilisation des analyses de microbiologie pour le diagnostic des maladies infectieuses. Le guide, publié en 2013, propose son usage 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'European Conference on Infections in Leukemia recommande le dosage du BDG sérique pour contribuer au diagnostic de la pneumocystose. Un résultat négatif au test permet d'exclure une pneumocystose chez les patients à risque [Alanio *et al.*, 2016].

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'infection fongique invasive. On indique également que l'analyse est très utile pour formuler le diagnostic de la pneumocystose, et ce, particulièrement lorsqu'un échantillon des voies respiratoires inférieures ne peut être prélevé. Le dosage du BDG sérique chez des patients à haut risque d'être atteints d'une infection fongique invasive devrait être considéré; un résultat négatif permet d'exclure une infection fongique invasive [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) 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

L'aspergillose invasive, la candidose invasive ainsi que la pneumocystose 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, certains sont invasifs et les délais peuvent être importants avant d'obtenir les résultats.

Le dosage de BDG sérique présente les possibilités suivantes :

- confirmer ou infirmer la présence d'une infection fongique profonde suspectée;
- diagnostiquer la pneumocystose par une méthode non-invasive;
- poser un diagnostic d'infection fongique invasive plus rapidement qu'avec les méthodes diagnostiques conventionnelles.

Quant aux infections fongiques invasives, les revues avec méta-analyses démontrent que la trousse Fungitell^{MC} permet leur diagnostic avec:

- une sensibilité : 70 % à 82 %;
- une spécificité : 77 % à 86 %;
- une probabilité de confirmer une infection fongique invasive de 11 à 27 fois plus élevée lorsque le test est positif plutôt que négatif.

Quant à la pneumocystose, les données recueillies démontrent que la trousse Fungitell^{MC} permet leur diagnostic avec:

- une sensibilité de 98 %;
- une spécificité de 83 %;
- une probabilité de confirmer une pneumocystose de 139 fois plus élevée lorsque le test est positif plutôt que négatif.

D'après les données de la trousse, le dosage Fungitell^{MC} présente une variabilité intra-essai et inter-essai élevée. De plus, l'infection par différentes bactéries, le traitement avec différents antibiotiques, l'hémodialyse et l'administration de produits sanguins fractionnés peuvent engendrer des résultats faux positifs au test.

Des recommandations concernant le dosage de BDG ont été émises par :

- La British Society for Medical Mycology et l'European Conference on Infections in Leukemia, qui le considèrent très utile et recommandent son usage pour le diagnostic de la pneumocystose;
- L'Infectious Diseases Society of America, l'American Society for Microbiology et l'European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, qui proposent son usage pour le diagnostic de la candidose invasive et de l'aspergillose invasive.

Les critères diagnostiques de l'EORTC/MSG ont incorporé le dosage de BDG pour déterminer la présence probable d'une infection fongique invasive.

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

- ✓ Les membres du comité reconnaissent l'utilité clinique de l'analyse proposée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui.
- ✓ Le comité recommande un suivi prospectif du nombre d'analyses et un resserrement de l'algorithme pour éviter les dérives. À ce titre, le comité suggère que l'utilisation du test aux soins intensifs comme stratégie de surveillance des cas à haut risque de candidose invasive soit restreint.
- ✓ Le comité recommande également au centre demandeur de considérer l'automatisation du test.

ANNEXE A

Description du devis des méta-analyses retenues évaluant la performance du dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique

MÉTA-ANALYSE	TESTS	PATIENTS	N ÉTUDES (N PATIENTS)	ANNÉE DES ÉTUDES	TYPES D'INFECTION	COMPARATEURS		
						EORTC/MSG		AUTRES
						POSITIFS	NÉGATIFS	
Lu, 2011*	Fungitell ^{MC} , Fungitec ^{MC} , Wako ^{MC}	HM, RO, SI	13 (1654)	2004-2010	IFI	Démontrées et probables	Possibles et exempts	Autopsie
Lamoth, 2012†	Fungitell ^{MC} , Fungitec ^{MC} , Wako ^{MC} , Maruha ^{MC}	HM, RCS	6 (1771)	2000-2008	IFI	Démontrées et probables	Possibles et exempts	-
Hou, 2015‡	Fungitell ^{MC} , Fungitec ^{MC} , Wako ^{MC} , GKT-25M ^{MC}	HM, RO, divers	11 (1029)	2004-2011	IFI (AI, CI)	Démontrées et probables	Possibles et exempts	Hémoculture, culture de matériel stérile, autopsie ou examen histopathologique
Onishi, 2012‡	Fungitell ^{MC} , Fungitec ^{MC} , Wako ^{MC} , GKT-25M ^{MC}	HM, VIH, SI, RO	36 (5453)	1995-2011	AI, CI	Démontrées et probables	Possibles et exempts	-
					Pneumocystose	-	-	Cytologie, examen direct des expectorations ou d'un liquide broncho-alvéolaire
Karageorgopoulos, 2013*	Fungitell ^{MC} , Fungitec ^{MC} , Wako ^{MC}	HM, VIH, RCS, RO	14 (2080)	1996-2010	Pneumocystose	-	-	Microscopie sur des expectorations ou sur un liquide broncho-alvéolaire
Li, 2015‡	Fungitell ^{MC} , Fungitec ^{MC} , Wako ^{MC} , GKT-25M ^{MC}	VIH et autres immunocompromis	13 (2233)	1999-2014	Pneumocystose	-	-	Manifestations cliniques combinées au PCR, cytologie, autopsie, radiologie

Abréviations : AI : aspergillose invasive; CI : candidose invasive; HM : hémopathies malignes; IFI : infections fongiques invasives; RCS : receveur de cellules souches; RO : receveur d'organe; SI : soins intensifs; VIH : virus de l'immunodéficience humaine.

* Les méta-analyses 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.

†Les méta-analyses de Lamoth et Hou ont utilisé les valeurs seuils recommandées pour les différentes trousses.

‡Les méta-analyses d'Onishi et Li ont utilisé 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 requérait seulement qu'un champignon soit détecté par analyse histologique ou par culture d'un échantillon 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].

ANNEXE C

Performances de la trousse Fungitell^{MC} à un seuil de 80 pg/ml pour le diagnostic de l'aspergillose invasive

ÉTUDES	POPULATION (N)	ASPERGILLOSE INVASIVE SELON EORTC/MSG	PERFORMANCE DE FUNGITELL ^{MC}	
			SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]
Acosta, 2011 Prospectif	USI avec un syndrome clinique compatible avec une pneumonie et présentant des facteurs de risque (51)	Démontrée/probable 10	80 [50,21-100]	75,61 [61,25-89,97]
Alexander, 2010 prospectif	Greffés pulmonaires (59 patients sans IFI et 14 patients avec IFI)	Démontrée/probable 7	57,1	ND
Hachem, 2009* Prospectif	HM avec aspergillose (22), HM avec candidémie (11), RO avec candidémie (12), Autres infections fongiques (17), RO sans IFI (20)	Démontrée/probable 22	67	90
Koo, 2009 rétrospectif	Patients consécutifs hospitalisés et à risque d'IFI (HM/BM et autres cancers (116 IFI démontrées/probables et 755 IFI possible/exclues)	Démontrée/probable 32	75 [57-89]	ND
Ostrosky-Zeichner, 2005 rétrospectif	Sélectionnés avec différentes conditions (142 IFI démontrées, dont 107 candidoses et 10 aspergilloses et 170 contrôles sains)	Démontrée 10	80	ND
Persat, 2008 rétrospectif	Sélectionnés avec différentes conditions (96 IFI démontrées, dont 26 candidémies, 70 aspergilloses; 20 pneumocystoses; 122 USI ou HM/BM et 40 donneurs de sang)	Démontrée/probable 70	68,6 [57,7-79,5]	73,0 [64.3-81.7]

Abréviations : HM : hémopathies malignes; HM/BM : unité d'hématologie et de greffe de moelle; IFI : infection fongique invasive; ND : non disponible; RO : Receveurs d'organes; USI : admis à l'unité de soins intensifs.

* Deux tests positifs

ANNEXE D

Performances de la trousse Fungitell^{MC} à un seuil de 80 pg/ml pour le diagnostic de la candidose invasive

ÉTUDES	POPULATION	CANDIDOSE INVASIVE SELON EORTC/MSG	PERFORMANCE DE FUNGITELL ^{MC}	
			SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]
Alam, 2007* rétrospectif	Sélectionnés avec différentes conditions (27 candidémies démontrées, 39 CI suspectées mais négatives à la culture, 10 candidoses vaginales et 16 contrôles sains)	Hémoculture positive 27	52	100
Del Bono, 2011 prospectif	USI, chirurgies abdominales et maladies infectieuses (152)	Démontrée/probable 100	79 ± 6,5 %	83 ± 10,2 %
Mohr, 2011 prospectif	USI, chirurgies à haut risque (57)	Démontrée/probable 9	87	73
Alexander, 2010 prospectif	Greffés pulmonaires (59 patients sans IFI et 14 patients avec IFI)	Démontrée/probable 8	87,5	ND
Hachem, 2009** Prospectif	HM avec aspergillose (22), HM avec candidémie (11), RO avec candidémie (12), Autres infections fongiques (17), RO sans IFI (20)	Démontrée/probable 23	62	90
Koo, 2009 rétrospectif	Patients consécutifs hospitalisés et à risque d'IFI (HM/BM et autres cancers (116 IFI démontrées/probables et 755 IFI possibles/exclues)	Démontrée/probable 41	63 [47-78]	ND
Ostrosky-Zeichner, 2005 rétrospectif	Sélectionnés avec différentes conditions (142 IFI démontrées, dont 107 candidoses et 10 aspergilloses et 170 contrôles sains)	Démontrée 107	77,6	ND
Persat, 2008 rétrospectif	Sélectionnés avec différentes conditions (96 IFI démontrées, dont 26 candidémies, 70 aspergilloses; 20 pneumocystoses; 122 USI ou HM/BM et 40 donneurs de sang	Démontrée/probable 26	85,2 [71,8-98,6]	64,4 [55.0-73.7]
Posteraro, 2011 prospectif	USI avec signes de sepsie (95)	Démontrée 14	92,9 [66,1-99,8]	93,7 [85,8-97,9]

Abbréviations : HM : hémopathies malignes; HM/BM : unité d'hématologie et de greffe de moelle; IFI : infection fongique invasive; ND : non disponible; RO : Receveurs d'organes; USI : admis à l'unité de soins intensifs.

*L'étude a été réalisée avec un seuil de résultat négatif < 60 pg/ml et un seuil de résultat positif > 80 pg/ml

** Deux tests positifs

ANNEXE E

Performances de la trousse Fungitell^{MC} à un seuil de 80 pg/ml pour le diagnostic de la pneumocystose invasive

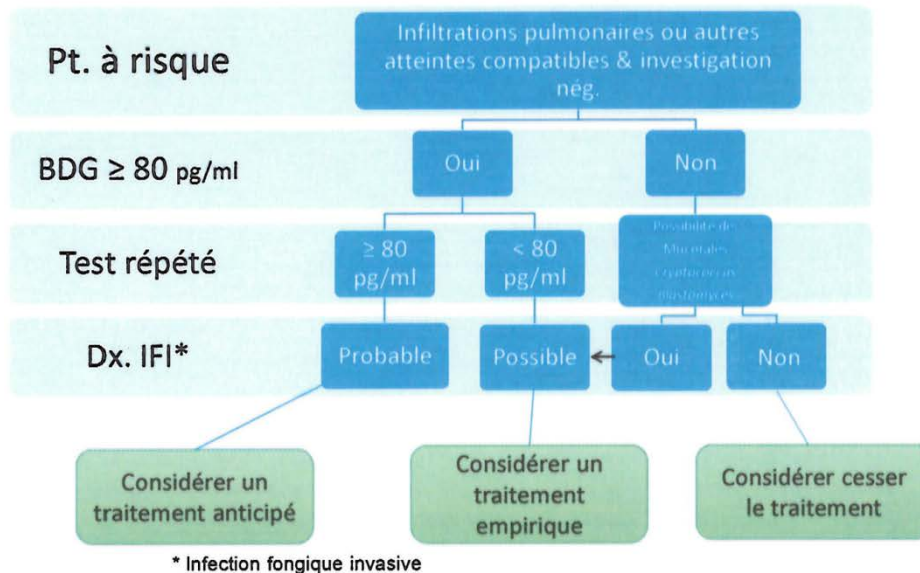
ÉTUDES	POPULATION	CRITÈRES DIAGNOSTIQUES PNEUMOCYTOSE	PERFORMANCE DE FUNGITELL ^{MC}	
			SENSIBILITÉ % [IC95 %]	SPÉCIFICITÉ % [IC95 %]
Damiani, 2011 rétrospectif	Nouveau-nés hospitalisés, immunocompétents avec pneumocystose primaire (14), Enfants hospitalisés avec syndrome respiratoire aigu (14), 8 patients colonisés, 6 adultes PJP (ctrl+)	MC+PCR 14	93	100
De Boer, 2011 prospectif	Patients consécutifs immunosupprimés suspectés de pneumocystose (31) : (20 RO, 8 HM, 3 autres)	MC+ER+CO/PCR 21	86	89
Desmet, 2009 rétrospectif	Patients consécutifs avec pneumocystose démontrée (16 VIH+, 12 VIH-) Contrôles sains (16 VIH+, 12 VIH-)	MC+CO+PCR 28	100	89,3
Salerno, 2014 rétrospectif	Patients consécutifs avec pneumonie, VIH+ (108)	MC+ER+CO 46	98 [94-100]	39 [27-51]
Sax, 2011 rétrospectif	Patients, VIH+ avec infection opportuniste aigue (252)	MC+ER+CO+AU 173	92,5 [87,5-95,9]	64,6 [53,0-75,0]
Koo, 2009 rétrospectif	Patients consécutifs hospitalisés et à risque d'IFI (HM/BM et autres cancers (116 IFI démontrées/probables et 755 IFI possibles/exclues)	MC+ER+CO 14	94 [64-100]	ND

Abréviations : AU : autopsie; CO : coloration; ER : évidences radiologiques; HM : hémopathies malignes; IFI : infection fongique invasive; MC : manifestations cliniques; ND : non disponible; PJP : pneumocystose; RO : receveurs d'organes; VIH : virus de l'immunodéficience humaine;

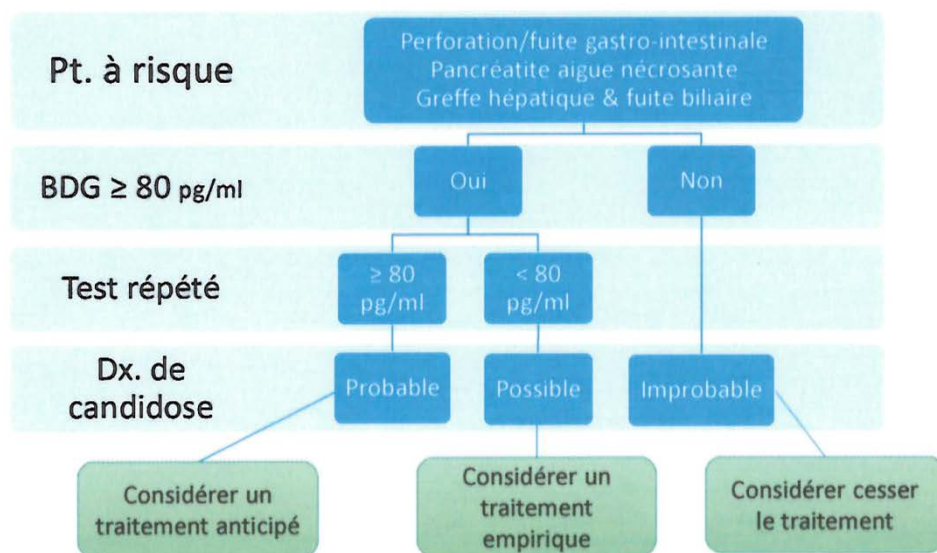
ANNEXE F

Algorithmes d'utilisation du dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique

Néoplasies hématologiques et neutropénie



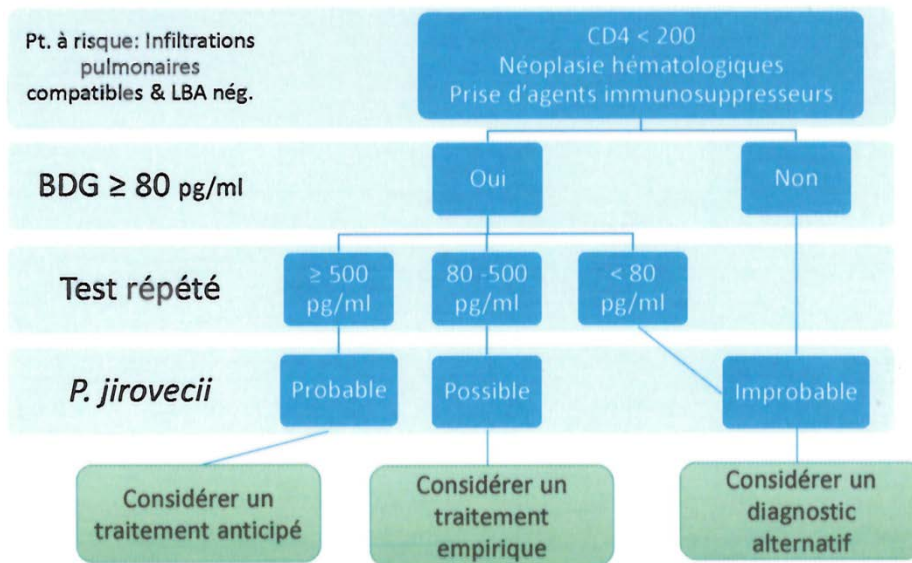
Candidose invasive (U.S.I.)



ANNEXE F (SUITE)

Algorithmes d'utilisation du dosage du (1-3)- β -D-glucane sérique

Pneumonie à *Pneumocystis*



Source : Les algorithmes ont été fournis par le demandeur.

RÉFÉRENCES

- Acosta J, Catalan M, del Palacio-Perez-Medel A, Lora D, Montejo JC, Cuetara MS, et al. A prospective comparison of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary invasive aspergillosis in medical patients under intensive care: Comparison with the diagnostic performance of galactomannan and of (1→3)-β-D-glucan chromogenic assay in serum samples. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(7):1053-60.
- Alam FF, Mustafa AS, Khan ZU. Comparative evaluation of (1, 3)-β-D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. *BMC Infect Dis* 2007;7:103.
- Alanio A, Hauser PM, Lagrou K, Melchers WJ, Helweg-Larsen J, Matos O, et al. ECIL guidelines for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2016;71(9):2386-96.
- Alexander BD, Smith PB, Davis RD, Perfect JR, Reller LB. The (1,3)β-D-glucan test as an aid to early diagnosis of invasive fungal infections following lung transplantation. *J Clin Microbiol* 2010;48(11):4083-8.
- 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)^a. *Clin Infect Dis* 2013;57(4):e22-e121.
- 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.
- Damiani C, Le Gal S, Lejeune D, Brahimi N, Virmaux M, Nevez G, Totet A. Serum (1→3)-β-D-glucan levels in primary infection and pulmonary colonization with *Pneumocystis jirovecii*. *J Clin Microbiol* 2011;49(5):2000-2.
- De Boer MG, Gelinck LB, van Zelst BD, van de Sande WW, Willems LN, van Dissel JT, et al. β-D-glucan and S-adenosylmethionine serum levels for the diagnosis of *Pneumocystis* pneumonia in HIV-negative patients: A prospective study. *J Infect* 2011;62(1):93-100.

- 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.
- Del Bono V, Delfino E, Furfaro E, Mikulska M, Nicco E, Bruzzi P, et al. Clinical performance of the (1,3)- β -D-glucan assay in early diagnosis of nosocomial *Candida* bloodstream infections. *Clin Vaccine Immunol* 2011;18(12):2113-7.
- Desmet S, Van Wijngaerden E, Maertens J, Verhaegen J, Verbeken E, De Munter P, et al. Serum (1-3)- β -D-glucan as a tool for diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with human immunodeficiency virus infection or hematological malignancy. *J Clin Microbiol* 2009;47(12):3871-4.
- 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.
- Hachem RY, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, Jiang Y, Reitzel R, Raad I. Utility of galactomannan enzyme immunoassay and (1,3) β -D-glucan in diagnosis of invasive fungal infections: Low sensitivity for *Aspergillus fumigatus* infection in hematologic malignancy patients. *J Clin Microbiol* 2009;47(1):129-33.
- 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.
- He S, Hang JP, Zhang L, Wang F, Zhang DC, Gong FH. A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3- β -D-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect* 2015;48(4):351.
- 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 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan level. *Kidney Int* 2001;60(1):319-23.
- Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β -D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: A meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2013;19(1):39-49.
- Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. β -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: A meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011;52(6):750-70.

- Koncan R, Favuzzi V, Ligozzi M, Sorrentino A, Cornaglia G, Cascio GL. Cross-reactivity of *Nocardia* spp. in the fungal (1→3)-β-D-glucan assay performed on cerebral spinal fluid. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015;81(2):94-5.
- Koo S, Bryar JM, Page JH, Baden LR, Marty FM. Diagnostic performance of the (1→3)-β-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis* 2009;49(11):1650-9.
- Lamoth F, Ostrosky-Zeichner L, Andes D, Cruciani M, Marchetti O, Racil Z, et al. Update on Beta-D-Glucan (BDG) for screening and confirmatory diagnosis. Copenhagen, Denmark : 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 25 au 28 avril 2015.
- 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.
- Li WJ, Guo YL, Liu TJ, Wang K, Kong JL. Diagnosis of pneumocystis pneumonia using serum (1→3)-β-D-Glucan: A bivariate meta-analysis and systematic review. *J Thorac Dis* 2015;7(12):2214-25.
- Lu Y, Chen YQ, Guo YL, Qin SM, Wu C, Wang K. Diagnosis of invasive fungal disease using serum (1→3)-β-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)-β-D-glucan assay with commonly used intravenous antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(10):3450-3.
- Mohr JF, Sims C, Paetznick V, Rodriguez J, Finkelman MA, Rex JH, Ostrosky-Zeichner L. Prospective survey of (1→3)-β-D-glucan and its relationship to invasive candidiasis in the surgical intensive care unit setting. *J Clin Microbiol* 2011;49(1):58-61.
- Nagasawa K, Yano T, Kitabayashi G, Morimoto H, Yamada Y, Ohata A, et al. Experimental proof of contamination of blood components by (1→3)-β-D-glucan caused by filtration with cellulose filters in the manufacturing process. *J Artif Organs* 2003;6(1):49-54.
- Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, et al. Diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for pneumocystis jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2012;50(1):7-15.
- Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1→3) β-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis* 2005;41(5):654-9.
- Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016;62(4):e1-50.
- Patterson TF, Thompson GR 3rd, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016;63(4):e1-e60.

- Persat F, Ranque S, Derouin F, Michel-Nguyen A, Picot S, Sulahian A. Contribution of the (1→3)-β-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2008;46(3):1009-13.
- Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1→3)-β-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2005;43(12):5957-62.
- Posteraro B, De Pascale G, Tumbarello M, Torelli R, Pennisi MA, Bello G, et al. Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: A prospective comparison of (1→3)-β-D-glucan assay, Candida score, and colonization index. *Crit Care* 2011;15(5):R249.
- Prüller F, Wagner J, Raggam RB, Hoenigl M, Kessler HH, Truschnig-Wilders M, Krause R. Automation of serum (1→3)-beta-D-glucan testing allows reliable and rapid discrimination of patients with and without candidemia. *Med Mycol* 2014;52(5):455-61.
- Salerno D, Mushatt D, Myers L, Zhuang Y, de la Rua N, Calderon EJ, Welsh DA. Serum and bal beta-D-glucan for the diagnosis of Pneumocystis pneumonia in HIV positive patients. *Respir Med* 2014;108(11):1688-95.
- Sax PE, Komarow L, Finkelman MA, Grant PM, Andersen J, Scully E, et al. Blood (1→3)-β-D-glucan as a diagnostic test for HIV-related Pneumocystis jirovecii pneumonia. *Clin Infect Dis* 2011;53(2):197-202.
- 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-β-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, Laverdiere M, Pelletier R, Rene 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)-β-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 jirovecii 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)-β-D-glucan in blood components and release of (1→3)-β-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)-β-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.

DÉTECTION DE 14 TRANSLOCATIONS À PRONOSTIC DÉFAVORABLE DANS LES LEUCÉMIES MYÉLOÏDES AIGÜES PÉDIATRIQUES (RÉFÉRENCE – 2014.02.16)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 décembre 2016

1.3 Date de publication de l'avis : 17 février 2017

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

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne 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 respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^r Olivier LaRoche, hémato-oncologue au CHU de Québec-Université Laval.
- D^r Thai Hoa Tran, hémato-oncologue pédiatrique au CHU de Québec-Université Laval a été consulté afin d'obtenir des précisions sur les standards de pratique relativement à la prise en charge des LMA chez l'enfant.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Analyse par panel de 14 translocations chromosomiques associées à un pronostic défavorable dans les cas pédiatriques de leucémies myéloïdes aiguës (LMA).

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

La recherche des translocations sera effectuée par transcription inverse et réaction en chaîne par polymérase (RT-PCR) suivie d'une PCR nichée spécifique à chaque translocation. La réaction de RT-PCR consiste en premier lieu à convertir l'ARN isolé des cellules en un brin d'ADN complémentaire (ADNc) à l'aide d'une transcriptase inverse. Par la suite, l'ADNc sert

de matrice à une réaction PCR dite nichée (de l'anglais, *nested-PCR*) afin d'augmenter la sensibilité de l'analyse. Deux couples d'amorces sont utilisés, dont un vise l'amplification d'une séquence interne à celle ciblée par l'autre couple d'amorces (amorces externes). La réaction est d'abord débutée avec le couple d'amorces externes pour dix cycles d'amplification. Un excès d'une ou deux amorces « internes » est par la suite ajouté à la réaction afin de prolonger l'amplification pour encore 25 cycles. Les résultats obtenus sont qualitatifs.

La présente analyse permettra de préciser le diagnostic de LMA et d'effectuer la stratification pronostique initiale des patients afin d'offrir un traitement adapté à l'anomalie cytogénétique détectée. Les translocations chromosomiques qui seront recherchées sont regroupées en 3 panels selon les résultats initiaux des analyses cytologiques et cytogénétiques. Dans le tableau 1 sont présentées les 14 translocations incluses dans les 3 panels ainsi que les gènes de fusion qui en découlent.

Tableau 1 Panel de translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

PANEL	TRANSLOCATION	FUSION (ALIAS†)
Translocations impliquant le gène <i>MLL</i> (<i>KMT2A</i> *)	t(1;11)(q21;q23)	KMT2A-MLLT11 (AF1Q)
	t(1;11)(p32;q23)	KMT2A-EPS15 (AF1P)
	t(11;17)(q23;q12-21)	KMT2A-LASP1
	t(11;19)(q23;p13.1)	KMT2A-ELL
	t(11;19)(q23;p13.3)	KMT2A-MLLT1 (ENL)
	t(6;11)(q27;q23)	KMT2A-MLLT4 (AF6)
	t(9;11)(p22;q23)	KMT2A-MLLT3 (AF9)
	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A-MLLT10 (AF10)
Translocations n'impliquant pas le gène <i>MLL</i>	t(5;11)(q35;p15.5)	NUP98-NSD1
	t(6;9)(p23;q34)	DEK-NUP214
	t(10;11)(p13;q14-21)	PICALM-MLLT10
Translocations associées à la leucémie mégacaryoblastique	t(11;12)(p15;p13)	NUP98-KDM5A
	t(1;22)(p13;q13)	RBM15-MKL1
	inv(16)(p13.3;q24.3)‡	CBFA2T3-GLIS2

* Le gène *KMT2A* (histone-lysine N-méthyltransférase 2A) est également connu sous le nom de gène *MLL* (*mixed-lineage leukemia*) [Rao et Dou, 2015].

† L'alias présenté entre parenthèses est une autre appellation utilisée pour le gène partenaire du gène *KMT2A* (*MLL*). Par exemple, le gène *MLLT11* est aussi appelé *AF1Q*.

‡ Il s'agit d'une translocation distincte de l'inversion 16 (CBFβ-MYH11) de la LMA de l'adulte qui, elle, confère un pronostic favorable [Creutzig *et al.*, 2012].

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons de sang ou de moelle osseuse seront acheminés au laboratoire central du CHU Sainte-Justine puis au laboratoire de diagnostic moléculaire (agrée par le CCMG et Agrément Canada) où l'ARN sera extrait et les analyses par RT-PCR réalisées. Le temps de réponse est de 1 à 2 semaines. Les translocations à analyser seront sélectionnées selon les résultats de cytologie, des analyses cytogénétiques préliminaires par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH, de l'anglais *fluorescence in situ hybridization*) et le tableau clinique.

- Lorsque les résultats d'analyse par FISH indiqueront qu'il y a un réarrangement avec le gène *MLL*¹⁴, les 8 translocations du panel *MLL* seront analysées afin d'identifier le gène partenaire de la translocation en cause. Une fois le gène partenaire identifié, seule cette translocation sera analysée pour le suivi du patient.
- Le panel de translocations n'impliquant pas le gène *MLL* est constitué de trois translocations qui sont associées à un risque élevé de récurrence. Les trois translocations ne seront pas analysées d'emblée. Les translocations NUP98-NSD1 et DEK-NUP214 seront recherchées lorsque les résultats du panel LMA classique^{15, 16} (PCR et cytogénétique) seront négatifs et que le patient présentera une LMA. Quant à la translocation PICALM-MLLT10, elle sera recherchée dans le contexte d'une leucémie indifférenciée ou à cellules pré-T.
- Lorsqu'une leucémie mégacaryoblastique aiguë (LMCA) sera suspectée, seules les trois translocations de ce panel seront analysées pour le diagnostic puis seulement celle qui aura été détectée pour le suivi du patient.

Lorsqu'une translocation sera détectée par RT-PCR lors du diagnostic, elle sera systématiquement analysée par séquençage à des fins de confirmation.

2.4 Société ou concepteur

Protocole maison

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Cette analyse et les technologies utilisées n'ont fait l'objet d'aucune homologation auprès de Santé Canada ou de la FDA.

2.6 Valeur pondérée :

- Une translocation : 143,68
- Panel impliquant *MLL* (8 translocations) : 319,36
- Panel n'impliquant pas *MLL* (3 translocations) : 181,59
- Panel LMCA (3 translocations) : 181,59

¹⁴ Gène *MLL* : de l'anglais *mixed-lineage leukemia*, gène localisé sur le chromosome 11 en position 23 du bras long (11q23) [Rao et Dou, 2015].

¹⁵ Le panel LMA classique comprend les quatre translocations les plus fréquentes : t(9;11) MLL-AF9 (incluse dans le panel *MLL* présenté au tableau 1), t(8;21) RUNX1-RUNX1T1, t(15;17) PML-RARA et inv (16) CBFβ-MYH11. Ces trois dernières constituent des entités distinctes dans la classification de l'OMS et sont associées à des leucémies à pronostic plus favorable [Arber *et al.*, 2016; Creutzig *et al.*, 2012].

Information transmise par Virginie Dormoy-Raclet, Ph.D. (CHU Sainte-Justine), communication électronique du 2 mai 2016.

¹⁶ Parmi les quatre translocations du panel LMA classique, sont inscrites dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* 2016-2017, la translocation t(8;21) (code 65084), la translocation t(15;17) pour la leucémie promyélocytaire aiguë FAB-M3 (codes 65094 et 65096) et l'inv(16) (code 65086) pour laquelle les gènes impliqués ne sont pas spécifiés. La translocation t(9;11) incluse dans le panel *MLL* présenté au tableau 1 ne se trouve pas dans le *Répertoire*.

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients pédiatriques atteints de LMA primaire ou secondaire aux traitements de chimiothérapie.

3.2 Description des maladies visées

Leucémie myéloïde aiguë

La leucémie myéloïde aiguë (LMA) est une maladie hématologique maligne hétérogène comptant pour 15 % à 20 % des cas de leucémies aiguës pédiatriques [De Rooij *et al.*, 2015]. Elle est caractérisée par la prolifération clonale de précurseurs myéloïdes avec une capacité réduite à se différencier en cellules plus matures. Par conséquent, il se produit une accumulation de cellules immatures (myéloblastes) dans le sang, dans la moelle osseuse et parfois dans d'autres tissus, accompagnée d'une diminution variable du nombre de cellules matures.

La majorité des leucémies aiguës pédiatriques (lymphoïdes ou myéloïdes) sont caractérisées par la présence de réarrangements (translocations) entre deux chromosomes qui génèrent des gènes de fusion ou qui dérèglent l'expression normale de gènes impliqués dans l'hématopoïèse [Pui *et al.*, 2011].

Dans les LMA, les translocations impliquant le gène *MLL* (aussi appelé *KMT2A*) sont parmi les anomalies les plus prévalentes. Elles sont présentes dans 15 % à 24 % des cas de LMA pédiatriques [Balgobind *et al.*, 2011; Pui *et al.*, 2011; Von Neuhoff *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009] et dans 70 % des leucémies des nourrissons [Cerveira *et al.*, 2012]. Ces translocations sont généralement associées à un risque élevé de récurrence, et ce risque dépend du gène partenaire du gène *MLL* [Pigazzi *et al.*, 2011; Balgobind *et al.*, 2009]. Parmi les 121 réarrangements du gène *MLL* récemment rapportés, 79 gènes partenaires ont été caractérisés au niveau moléculaire. De ces réarrangements, sept sont présents dans 90 % des cas de LMA pédiatriques, soient les translocations impliquant les gènes partenaires *AF4*, *AF6*, *AF9*, *AF10*, *ENL*, *ELL* et les duplications partielles en tandem (*MLL PTDs*) [Meyer *et al.*, 2013]. Parmi ceux-ci, la translocation t(9;11)(p22;q23) (fusion *MLL-AF9*) est la plus fréquente [Pui *et al.*, 2011; Harrison *et al.*, 2010]. La survie globale à 5 ans des LMA présentant ce type de translocations varie selon le gène partenaire impliqué [Balgobind *et al.*, 2009].

Outre les translocations impliquant le gène *MLL*, trois translocations sont également rapportées comme étant associées aux LMA à risque élevé de récurrence : t(5;11)(q35;p15.5) (fusion *NUP98-NSD1*), t(6;9)(p23;q34) (fusion *DEK-NUP214*) et t(10;11)(p13;q14-21) (fusion *PICALM-MLLT10*). Il s'agit de translocations rares associées à un pronostic défavorable [Sandahl *et al.*, 2014; Tarlock *et al.*, 2014; Akiki *et al.*, 2013; Hollink *et al.*, 2011; Borel *et al.*, 2010; Savage *et al.*, 2010].

Leucémie mégacaryoblastique aiguë

La leucémie mégacaryoblastique aiguë (LMCA) est un sous-type cytologique de LMA caractérisé par la présence de mégacaryoblastes anormaux et de myélofibrose de la moelle osseuse compliquant le prélèvement d'échantillons pour l'analyse cytogénétique [De Rooij *et al.*, 2016; Gruber et Downing, 2015; De Rooij *et al.*, 2013]. Selon la classification morphologique Franco Américano Britannique (FAB) qui comporte 7 sous-groupes allant de M0 à M7 [Bennett *et al.*, 1985], la LMCA constitue le type M7 (FAB-M7 ou LMA-M7).

La LMCA, plus fréquente chez le très jeune enfant, représente 7 % à 10 % des cas de LMA pédiatriques sans syndrome de Down [Schweitzer *et al.*, 2015; Reinhardt *et al.*, 2005]. L'âge au diagnostic (âge médian 1,44 ans) est significativement inférieur à celui des autres sous-types LMA (9,98 ans, $p < 0,0001$) [Schweitzer *et al.*, 2015]. Plus particulièrement, les patients présentant la translocation $t(1;22)(p13;q13)$ RMB15-MKL1 sont significativement plus jeunes au diagnostic que les autres cas de LMCA (âge médian 0,5 an c. 1,6 ans; $p < 0,01$) [De Rooij *et al.*, 2013].

Chez les enfants, deux sous-groupes de LMCA ont été décrits : avec ou sans syndrome de Down. Contrairement au groupe avec syndrome de Down, le groupe sans syndrome de Down est hétérogène et généralement associé à un mauvais pronostic comparativement aux autres types de LMA [Schweitzer *et al.*, 2015; Takeda *et al.*, 2014; Thiollier *et al.*, 2012]. On observe chez les patients atteints de LMCA sans syndrome de Down une survie globale à 5 ans allant de 42 % à 60 % [Inaba *et al.*, 2015; Schweitzer *et al.*, 2015; De Rooij *et al.*, 2013] ainsi qu'une piètre réponse aux traitements [De Rooij *et al.*, 2016]. Une grande proportion des cas de LMCA sans syndrome de Down est caractérisée par la présence des translocations $t(1;22)(p13;q13)$ (fusion RBM15-MKL1), $inv(16)(p13.3;q24.3)$ (fusion CBFA2T3-GLIS2) ou $t(11;12)(p15;p13)$ (fusion NUP98-KDM5A) ainsi que des réarrangements du gène *MLL* [Gruber et Downing, 2015; De Rooij *et al.*, 2013; Gruber *et al.*, 2012].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

La LMA représente 20 % des cas de leucémie chez l'enfant, soit 15 à 20 nouveaux cas par année au Québec. Les patients reçoivent en moyenne 5 cycles de chimiothérapie et sont suivis à intervalles réguliers au cours de l'année qui suit la fin des traitements. En considérant le diagnostic et le suivi, une translocation peut être analysée en moyenne entre 5 et 10 fois par année par patient, pour un total de 75 à 200 analyses par année.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hématologie, oncologie, génétique.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Une approche diagnostique multimodale permet d'effectuer la recherche d'anomalies génétiques associées à certains types de leucémies. Les méthodes suivantes sont utilisées selon le type d'information recherché : cytomorphologie, cytométrie de flux (immunophénotypage), analyse du caryotype, FISH, analyse moléculaire (techniques PCR et séquençage) [Creutzig *et al.*, 2012; Haferlach *et al.*, 2007].

L'analyse cytogénétique des cellules blastiques de la moelle osseuse ou du sang (analyse classique du caryotype) permet de détecter les anomalies perceptibles afin d'établir le diagnostic et le pronostic initial de la leucémie. La RT-PCR et/ou le FISH sont utiles pour détecter les anomalies cytogénétiques cryptiques non détectables par l'analyse classique du caryotype [Haferlach *et al.*, 2007]. Au cours du suivi thérapeutique, la RT-PCR permet d'évaluer le niveau de maladie résiduelle. L'identification des points exacts de cassure des translocations chromosomiques permet, dans certains cas, une meilleure stratification pronostique [Haferlach *et al.*, 2007]. Par exemple, dans le cas des translocations impliquant le gène *MLL*, l'analyse par FISH permet de confirmer l'implication de ce gène mais l'identification du gène partenaire en RT-PCR permet d'effectuer la stratification pronostique de la LMA [Balgobind *et al.*, 2009].

Utilisation actuelle de l'analyse des translocations

À Toronto, le Hospital for Sick Children (SickKids) offre l'analyse par PCR en temps réel des translocations t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT0, t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-ENL, t(1;22)(p13;q13) RBM15-MKL1 (pour la LMCA) et de la t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214 (méthode non mentionnée).

Aux États-Unis, le MD Anderson Cancer Center (Texas, USA), un panel de 14 transcrits de fusion associés à la leucémie aiguë peut être analysé par RT-PCR et sondes TaqMan. Ce panel comprend la t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214 qui est incluse au panel du demandeur.

Selon la banque de données Orphanet, l'analyse moléculaire des LMA par PCR est réalisée aux endroits suivants :

- Klinisches Institut für Laormedizin (Autriche) : panel de 25 translocations dont 7 incluses dans le panel du demandeur (t(6;11), t(11;19), t(10;11), t(1;11), t(11;17), t(9;11), inv (16)).
- Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt (Allemagne) : investigation des réarrangements du gène *MLL* par LDI-PCR (PCR inverse longue distance).
- National Institute of Legal Medicine (Roumanie) : diagnostic moléculaire des altérations chromosomiques des leucémies aiguë et chronique.

3.6 Données médico-administratives

Envois hors Québec pour 2013-2014 :

Concernant l'évaluation de la maladie résiduelle par PCR en temps réel, 13 demandes d'analyse de translocations ont été effectuées chez Hematologics Inc. (Seattle, WA)¹⁷. Ces 13 demandes d'analyses totalisaient 6 870 \$ (5 à 654 \$ et 8 à 450 \$).

Envois hors Québec pour 2014-2015 :

Aucune demande n'a été repérée concernant la détection de translocations associées à la LMA.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'identification des translocations chromosomiques associées à la LMA est importante pour préciser le diagnostic de LMA et effectuer la stratification pronostique initiale des patients.

Cette analyse permettra également de faire le suivi des patients par :

- la surveillance de la réponse au traitement (quantification de la maladie résiduelle en rémission hématologique complète pour orienter adéquatement le traitement);
- le suivi de l'évolution et la documentation d'une rémission moléculaire (ex. absence de maladie avant la greffe de cellules souches); et
- la détection précoce de la réapparition de la maladie (récidive moléculaire).

Pour un patient ayant atteint une rémission moléculaire, la détection du transcrit de fusion lors de son suivi (patient négatif qui redevient positif en RT-PCR) est fortement prédictive d'une récurrence à court terme.

¹⁷ L'évaluation de la maladie résiduelle pour la LMA est réalisée, entre autres, par l'analyse de 3 translocations incluses dans le panel proposé par le centre demandeur : t(9;11) MLL-AF9, t(1;11) MLL-AF1, t(11;19) MLL-ENL/ELL. Ces analyses sont réalisées par PCR quantitatif en temps réel. L'information est tirée de Hematologics Inc., Molecular Analysis [site Web], disponible à : <http://www.hematologics.com/services/molecular-analysis/> (consulté le 4 avril 2016).

La détection de translocations associées à un pronostic défavorable permettra d'offrir un traitement adapté au profil génétique des cellules leucémiques de chaque patient (stratification du risque prétraitement).

- Le choix d'offrir une greffe de cellules souches, ou la détermination du meilleur moment pour réaliser la greffe, sera adapté selon le type de translocation et la réponse au traitement.
- Une intensification du traitement¹⁸ sera considérée chez un patient qui n'obtient pas de rémission moléculaire.
- Chez un patient qui présente une récurrence moléculaire, la recherche de donneurs pour une greffe de cellules souches ou l'immunothérapie pourront être envisagés.

3.8 Assurance qualité

Des lignées cellulaires exprimant la translocation recherchée (ou à défaut l'ARN d'un patient déjà testé positif) seront utilisées comme témoins internes positifs pour chaque translocation (annexe A). Des témoins normaux (patients négatifs pour la translocation à valider) seront également utilisés.

Un contrôle de qualité du College of American Pathologists (CAP) n'étant pas disponible pour les translocations des panels proposés, un échange de cas à l'aveugle avec le laboratoire de cytogénétique du CHU Sainte-Justine sera fait deux fois par année. Par ailleurs, les contrôles de qualité du CAP sont actuellement rigoureusement utilisés plusieurs fois par année pour la recherche d'autres transcrits de fusion.

3.9 Remplacement d'un autre test

Il s'agit d'une nouvelle analyse.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir un diagnostic de LMA.

4.2 Valeur pronostique

La valeur pronostique des 14 translocations énumérées dans le tableau 1 est présentée ci-dessous selon les 3 sous-groupes suivants : translocations impliquant le gène *MLL*, translocations n'impliquant pas le gène *MLL* et translocations associées à la LMCA.

4.2.1 Translocations impliquant le gène *MLL*

Le pronostic des patients qui ont une translocation impliquant le gène *MLL* est considéré défavorable tant chez les enfants, chez les adultes que dans les cas de leucémie secondaire à un traitement [Ney Garcia *et al.*, 2016; Cervera *et al.*, 2012; Dohner *et al.*, 2010; Von Neuhoff *et al.*, 2010]. Toutefois, l'impact pronostique spécifique des translocations impliquant le gène *MLL* dépend du gène partenaire de ces translocations [Pigazzi *et al.*, 2011; Balgobind *et al.*, 2009]. Dans les tableaux 2 et 3 sont résumées les données

¹⁸ L'intensification du traitement est soit l'administration d'un traitement de chimiothérapie de deuxième ligne ou, la plupart du temps, une greffe de cellules souches (information transmise par le demandeur, Dre Sonia Cellot, communication téléphonique du 15 juillet 2016).

pronostiques issues des études retenues concernant les 8 translocations du panel impliquant le gène *MLL*.

Translocation t(10;11) KMT2A-MLLT10

La valeur pronostique de la translocation t(10;11) KMT2A-MLLT10 a été principalement décrite dans deux études de cohortes rétrospectives [Von Neuhoff *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009] et dans une étude de cohorte prospective [Harrison *et al.*, 2010] (tableau 2).

L'étude rétrospective de Balgobind et ses collaborateurs [2009] avait pour objectif d'étudier les différences pronostiques associées à 9 partenaires de translocation du gène *MLL* afin d'optimiser la stratification du risque et le traitement des patients atteints d'une LMA. Les données de survie de 756 patients âgés de moins de 18 ans et atteints de LMA avec anomalie du chromosome 11q23 ou avec réarrangement du gène *MLL* ont été obtenues. Chez 376 patients, la présence d'un réarrangement du gène *MLL* avait été évaluée uniquement par analyse cytogénétique classique. Pour les 380 autres cas, le réarrangement du gène *MLL* détecté par analyse cytogénétique classique avait été confirmé par FISH ou par RT-PCR. Chez les patients qui avaient la translocation t(10;11), le pronostic était plutôt défavorable. La survie sans événement (SSE) et la survie globale (SG) à 5 ans étaient de 31 % $\pm$ 5 % et de 45 % $\pm$ 5 % respectivement. De plus, en analyse multivariée, la t(10;11) s'avère être un indicateur indépendant de pronostic défavorable, avec un rapport de risque instantané (RRI) associé à la SSE de 1,5 (IC95 1,1 à 2,1; $p = 0,004$) et un RRI associé à la SG de 1,9 (IC95 1,3 à 2,6; $p < 0,001$), et ce indépendamment de l'âge, de la concentration en leucocytes et du moment où la greffe de cellules souches a été réalisée. Les auteurs concluent que la t(10;11) devrait être incluse dans la stratification du risque des patients pédiatriques atteints de LMA.

L'étude rétrospective de Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] portait sur l'évaluation de la fréquence et de la valeur pronostique de différents caryotypes, incluant certaines translocations impliquant le gène *MLL*, chez des patients pédiatriques atteints de LMA ayant participé à l'étude clinique AML-BFM 98. Au total, 454 patients dont les données cytogénétiques étaient complètes ont été inclus. Une analyse par FISH et une RT-PCR ont été effectuées chez les patients qui avaient une translocation afin de confirmer les résultats des analyses cytogénétiques ou chez les patients présentant un caryotype normal avec morphologie révélatrice. Les résultats obtenus pour la translocation t(10;11) sont similaires à ceux de l'étude de Balgobind bien que non significatifs comparativement aux autres patients dont les données cytogénétiques avaient été obtenues, probablement en raison du faible nombre de patients ($N = 11$). Les auteurs affirment que les patients présentant la t(10;11) appartiennent au sous-groupe de patients avec réarrangement du gène *MLL* autre que t(9;11) et t(11;19) avec une SSE et une SG à 5 ans significativement inférieures comparativement au reste de la cohorte, les situant ainsi dans la catégorie à risque défavorable.

L'étude de Harrison et ses collaborateurs [2010] regroupe 729 enfants inclus dans deux essais cliniques menés par le Medical Research Council au Royaume-Uni au cours d'une période de 14 ans, soit AML 10 (1988 à 1995) et AML 12 (1994 à 2002). Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'incidence et le risque associé à 22 sous-groupes d'anomalies chromosomiques. L'analyse cytogénétique a pu être complétée chez 633 patients et les anomalies chromosomiques courantes ont pu être analysées par FISH au cours des dernières années de l'étude. Les résultats de SSE (64 %) et de SG (64 %) à 10 ans obtenus pour la translocation t(10;11) sont supérieurs à ceux des deux études décrites ci-dessus mais

sont non significatifs comparativement aux patients qui n'ont pas cette translocation. Globalement, les auteurs concluent que les réarrangements du gène *ML* confèrent un pronostic intermédiaire.

Translocation t(6;11) KMT2A-MLLT4

La valeur pronostique de la translocation t(6;11) KMT2A-MLLT4 serait le plus défavorable parmi les translocations MLL étudiées dans l'étude de cohorte de Balgobind et ses collaborateurs [2009], avec une SSE à 5 ans de 11 % $\pm$ 5 % et une SG à 5 ans de 22 % $\pm$ 7 %. De plus, comme pour la translocation t(10;11), l'analyse multivariée a révélé que la translocation t(6;11) est un indicateur indépendant de pronostic défavorable, avec un RRI associé à la SSE de 2,3 (IC95 1,5 - 3,4; $p < 0,001$) et un RRI associé à la SG de 2,5 (IC95 1,6 - 4,0; $p < 0,001$). Les auteurs concluent que la t(6;11) devrait être incluse dans la stratification du risque des patients pédiatriques atteints de LMA. Par ailleurs, l'étude de Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] portant sur 454 patients âgés de moins de 18 ans a montré que les 5 cas (1,1 %) présentant la translocation t(6;11) avaient survécu en moyenne 1,92 ans, corroborant ainsi l'impact pronostique défavorable observé dans l'étude de Balgobind.

Translocations t(11;19) KMT2A-ELL, t(11;19) KMT2A-MLLT1 (ENL) et t(11;17) KMT2A-LASP1

La valeur pronostique des translocations t(11;19) KMT2A-ELL, t(11;19) KMT2A-MLLT1 (ENL) et t(11;17) KMT2A-LASP1 a été rapportée par Balgobind et ses collaborateurs [2009] (tableau 2). Les résultats de SSE et de SG à 5 ans ne sont pas significativement différents de ceux des patients de la cohorte qui avaient une SSE à 5 ans de 44 % $\pm$ 2 % et une SG à 5 ans de 56 % $\pm$ 2 %. Contrairement aux translocations t(10;11) et t(6;11) discutées précédemment, le pronostic des patients n'est pas aggravé par la présence des translocations t(11;19) ou t(11;17). Aucune conclusion spécifique n'a été amenée par les auteurs relativement à ces trois translocations. La t(11;19) a toutefois été considérée à risque intermédiaire dans l'étude multicentrique AML-BFM 98 [Von Neuhoff *et al.*, 2010].

Translocation t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)

Concernant l'influence de la translocation t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q) sur le pronostic des cas de LMA pédiatriques, Busson-Le Coniat et ses collaborateurs [1999] ont rapportés 6 cas dont 4 avaient été décrits antérieurement. Parmi ces 6 patients, 4 étaient âgés de 12 mois ou moins au moment du diagnostic. En moyenne 12,2 mois après l'atteinte d'une rémission complète, 5 patients avaient subi une récurrence et 1 patient était toujours en rémission complète 15 mois à la suite d'une autogreffe de moelle osseuse. Suite à une rémission complète d'une durée moyenne de 19 mois, 3 patients étaient décédés. L'étude de Balgobind et ses collaborateurs [2009], portant sur 756 cas de LMA dont 25 (3,3 %) avaient la translocation t(1;11) KMT2A-AF1Q, a démontré que cette translocation avait l'impact pronostique le plus favorable comparativement à l'ensemble des translocations étudiées, avec une SSE à 5 ans de 92 % $\pm$ 5 % (effet significatif en analyse multivariée) et une SG à 5 ans de 100 %. Les auteurs concluent que les patients présentant la t(1;11) KMT2A-AF1Q devraient être inclus dans le groupe à risque faible des protocoles de traitement.

Un cas de LMA congénitale avec t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q) a récemment été décrit par Reynaert et ses collaborateurs [2014]. Le décès de ce nouveau-né est survenu à 16 jours de vie suivant 11 jours de chimiothérapie, de multiples complications et de défaillance de nombreux systèmes organiques. Selon les auteurs, cette translocation n'avait jamais été associée à la LMA congénitale. En absence de données chez les nouveau-nés et en raison des résultats de Balgobind et ses collaborateurs [2009] chez des enfants plus âgés (plus de

6 semaines au moment du diagnostic), le pronostic de cette translocation demeure incertain. Selon ces mêmes auteurs, plus de données sont requises pour déterminer si cette translocation est associée à un pronostic plus défavorable chez les nouveau-nés que chez les enfants plus âgés.

Translocation t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P)

La valeur pronostique de la translocation t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P)¹⁹ a également été très peu étudiée. Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] ont rapporté un cas présentant cette translocation parmi les 454 patients de la cohorte, pour lequel le décès est survenu précocement.

¹⁹ Cette translocation est principalement détectée dans les cas de leucémie des nourrissons (âgés de moins de 1 an) et est associée à une mauvaise réponse au traitement. Au cours des trois dernières années, deux patients présentant cette translocation ont été traités au CHU Ste-Justine (information transmise par le demandeur, Dre Sonia Cellot, communication téléphonique du 15 juillet 2016).

Tableau 2 Valeur pronostique associée aux translocations impliquant le gène *MLL* (*KMT2A*) dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE N (%)	SSE *	SG *
t(10;11)(p12;q23) KMT2A-MLLT10				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	98 (13,0)	31 % RRI 1,5 (IC95 : 1,1 - 2,1) p = 0,004 (multivarié)	45 % RRI 1,9 (IC95 : 1,3 - 2,6) p < 0,001 (multivarié)
Von Neuhoff <i>et al.</i> , 2010	454 LMA	11 (2,4)	20 % c. 48 % (cohorte) p = NS	50 % c. 62 % (cohorte) p = NS
Harrison <i>et al.</i> , 2010	633 LMA	22 (3,5)	SSE 10 ans : 64 % RRI 0,70 (IC99 : 0,33 - 1,49)	SG 10 ans : 64 % RRI 0,85 (IC99 : 0,36 - 1,99)
t(6;11)(q27;q23) KMT2A-MLLT4				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	35 (4,6)	11 % RRI 2,3 (IC95 : 1,5 - 3,4) p < 0,001 (multivarié)	22 % RRI 2,5 (IC95 : 1,6 - 4,0) p < 0,001 (multivarié)
t(11;19)(q23;p13.1) KMT2A-ELL				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	34 (4,5)	46 % RRI 1,1 (IC95 : 0,7 - 1,8) p = 0,77 (multivarié, NS)	61 % RRI 0,9 (IC95 : 0,5 - 1,7) p = 0,83 (multivarié, NS)
t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-MLLT1 (ENL)				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	25 (3,3)	46 % RRI 1,1 (IC95 : 0,6 - 1,9) p = 0,85 (multivarié, NS)	47 % RRI 1,5 (IC95 : 0,8 - 2,7) p = 0,17 (multivarié, NS)
t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A-LASP1				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	12 (1,6)	42 % RRI 1,0 (IC95 : 0,5 - 2,2) p = 0,94 (multivarié, NS)	67 % RRI 1 (IC95 : 0,4 - 2,6) p = 0,94 (multivarié, NS)
t(1;11)(q21;q23) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)				
Busson-Le Coniat <i>et al.</i> , 1999	6 LMA §	s.o.	n.d.	moy. 19 mois après RÉM-C (3 cas)
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	25 (3,3)	92 % RRI 0,1 (IC95 : 0,0 - 0,6) p = 0,007 (multivarié)	100 %
Reynaert <i>et al.</i> , 2014	1 LMA	s.o.	n.d.	16 jours de vie
t(1;11)(p32;q23) KMT2A-EPS15 (AF1P)				
Von Neuhoff <i>et al.</i> , 2010	454 LMA	1 (0,2)	n.d.	Décès précoce ‡

Abréviations : diag. : diagnostic; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; IC99 : intervalle de confiance à 99 %; LMA : leucémie myéloïde aiguë; moy. : moyenne; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; NS : non significatif; RÉM-C : rémission complète; RRI : rapport des risques instantanés (en anglais *Hazard ratio*); SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s.o. : sans objet; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*).

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

† Cette étude inclut 756 cas de LMA pédiatrique avec anomalie du chromosome 11q23 ou avec réarrangement du gène *MLL*.

‡ Les décès précoces incluent tous les décès ayant lieu avant ou au cours des 6 premières semaines de traitement.

§ Parmi ces 6 cas, 4 avaient été décrits précédemment.

Translocation t(9;11) KMT2A-MLLT3

Le pronostic des patients présentant la translocation t(9;11) KMT2A-MLLT3 ne fait pas consensus [Abildgaard *et al.*, 2013](tableau 3). Les quatre études consécutives du St-Jude Children's Research Hospital [Rubnitz *et al.*, 2002] et l'étude de la Nordic Society for Pediatric Haematology and Oncology (NOPHO)-AML93 [Lie *et al.*, 2003] ont rapporté que les patients qui avaient la translocation t(9;11) KMT2A-MLLT3 avaient un meilleur pronostic que les patients dont la translocation du gène *MLL* était associée à un gène partenaire différent. Par ailleurs, trois études n'ont rapporté aucun impact significatif de la translocation t(9;11) sur le pronostic des patients [Harrison *et al.*, 2010; Von Neuhoff *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009]. Parmi les études n'ayant rapporté aucun impact significatif, les résultats ont montré que la présence d'anomalies cytogénétiques supplémentaires [Von Neuhoff *et al.*, 2010] avait un impact défavorable significatif sur la survie globale associée à la translocation t(9;11) et que le type leucémique FAB-M5 [Balgobind *et al.*, 2009] avait un impact favorable significatif sur le pronostic associé à la translocation t(9;11).

Les caractéristiques cytogénétiques et moléculaires de 295 nourrissons et enfants atteints de LMA ont été rapportées dans l'étude de Rubnitz et ses collaborateurs [2002] (tableau 3). Ces patients avaient été traités dans le cadre de quatre études cliniques consécutives menées par le St-Jude Children's Research Hospital de 1980 à 1997. Chez les patients présentant la translocation t(9;11), en majorité de type leucémique M5²⁰ (91,3 %), la SSE à 5 ans était significativement supérieure à celle des autres sous-groupes cytogénétiques (64,9 % ± 11,1 %; p = 0,003) et à celle des patients ayant un autre réarrangement du gène *MLL* ou une anomalie du chromosome 11q23 (24,2 % ± 9,4 %; p = 0,00075). Considérant les 63 patients atteints de LMA de type M5 de cette cohorte, la SSE à 5 ans était également significativement supérieure chez les 21 patients chez qui la translocation t(9;11) avait été détectée (71,1 % ± 11 %) comparativement aux patients de type M5 qui en étaient dépourvus (25,8 % ± 7,9 %; p = 0,0004). Les auteurs ont conclu que la translocation t(9;11) avait un impact pronostique favorable chez les patients pédiatriques atteints de LMA.

Les résultats de l'étude NOPHO-AML93 constituée de 207 patients pédiatriques, présentés par Lie et ses collaborateurs [2003], ont également montré un impact pronostique favorable de la translocation t(9;11) comparativement aux autres groupes cytogénétiques (tableau 3). Les 16 patients (7,7 %) présentant la translocation t(9;11) avaient une SSE à 7 ans significativement supérieure (86 % ± 9 % c. 47 % ± 4 %; p < 0,01) et une SG à 7 ans de 94 % ± 6 %. Comparativement aux patients traités dans l'étude NOPHO-AML88, une diminution significative des décès précoces et une augmentation significative de la SG à 7 ans ont été observées en raison de l'administration d'un traitement individualisé selon la réponse initiale du patient.

L'étude rétrospective multicentrique de Balgobind et ses collaborateurs [2009] constituée de 328 patients porteurs de la translocation t(9;11) n'a pas confirmé l'issue favorable décrite précédemment dans de plus petites cohortes [Lie *et al.*, 2003; Rubnitz *et al.*, 2002] (tableau 3). Les résultats de SSE et de SG à 5 ans (50 % ± 3 % et 63 % ± 3 % respectivement) ne sont pas significativement différents de ceux des autres patients de la cohorte (44 % ± 2 % et 56 % ± 2 % respectivement). Il a été suggéré que la forte dose cumulative de

²⁰ Selon la classification morphologique Franco Américano Britannique (FAB), on distingue 7 sous-groupes de leucémies myéloïdes aiguës, soit M0 à M7 [Bennett *et al.*, 1985]. La leucémie de type M5 ou leucémie monoblastique est caractérisée par la présence dans la moelle osseuse de plus de 80 % de cellules monocytaires (Hematocell.fr, Laboratoire d'hématologie du CHU d'Angers. Leucémies aiguës myéloïdes [site Web], disponible à : <http://hematocell.univ-angers.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/hematologie-et-pathologie-generale/28-leucemies-aigues-myeloides>).

cytarabine administrée dans les protocoles de la NOPHO et du St-Jude Children's Research Hospital aurait contribué à l'impact favorable observé mais cette association n'a pas pu être confirmée dans l'étude de Balgobind. En effet, dans les protocoles NOPHO seulement, les patients présentant la t(9;11) avaient une meilleure SSE à 5 ans que ceux qui avaient d'autres réarrangement du gène *MLL* ($77 \% \pm 8 \%$ c. $38 \% \pm 9 \%$, $p = 0,006$). Par ailleurs, le type cellulaire à l'origine de la leucémie, en l'occurrence le type M5 ou la leucémie aiguë monoblastique, souvent associé à la translocation t(9;11) [Harrison *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009; Rubnitz *et al.*, 2002] aurait une influence significative sur le pronostic des patients.

Parmi les patients présentant la translocation t(9;11), ceux dont la LMA était de type M5 (81,2 %) avaient une SSE et une SG à 5 ans significativement plus élevées comparativement aux autres sous-types de LMA (tableau 3). De plus, l'analyse multivariée a effectivement confirmé que le type M5 en présence d'une t(9;11) est un facteur pronostique favorable indépendant pour la SSE et la SG (RRI = 0,4; $p < 0,001$). Cet impact favorable du type M5 observé chez les patients présentant la translocation t(9;11) est en accord avec les résultats de l'étude de Rubnitz et ses collaborateurs [2002] dans laquelle le type M5 était fréquemment associé à la t(9;11) (21 des 23 cas, soit 91,3 %). Les deux cas non-M5 sont décédés avant l'atteinte d'une rémission complète. Les auteurs affirment que l'impact favorable de la t(9;11) observé dans cette étude serait lié à la prévalence des patients atteints de LMA de type M5. Selon ces mêmes auteurs, puisque la translocation t(9;11) constitue un sous-groupe hétérogène, une stratification précise du risque peut être effectuée en tenant compte du type leucémique FAB.

L'étude rétrospective de Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] a démontré que les patients présentant la translocation t(9;11) avaient une SSE et une SG à 5 ans similaires à celles des autres patients de la cohorte pour lesquels la SSE était de $48 \pm 2 \%$ et la SG de $62 \pm 2 \%$. Par contre, lorsque des anomalies cytogénétiques supplémentaires à la t(9;11) étaient détectées, la SG à 5 ans était significativement inférieure comparativement aux autres patients de la cohorte ($30 \% \pm 14 \%$; $p = 0,042$) contrairement à la SSE à 5 ans pour laquelle aucune différence significative n'a été observée ($31 \% \pm 14 \%$; $p = 0,23$). Selon les auteurs, les patients présentant la t(9;11) sans anomalies supplémentaires appartiennent à la catégorie de risque intermédiaire puisque leur SSE et SG étaient, contrairement aux patients présentant d'autres réarrangements du gène *MLL*, comparables à celles des autres patients. Par ailleurs, les patients présentant la t(9;11) avec anomalies supplémentaires appartiennent à la catégorie de risque élevé, au même titre que ceux qui ont un caryotype complexe²¹.

Dans l'étude prospective de Harrison et ses collaborateurs [2010] décrite précédemment, les patients présentant la t(9;11) n'étaient pas plus à risque que les autres patients de la cohorte en termes de SSE et de SG à 10 ans (62 % et 68 % respectivement). Selon les auteurs, bien que la majorité des patients (77,5 %) chez qui on avait détecté la t(9;11) était de type leucémique M5, l'association entre l'impact favorable du type M5 et cette translocation qui avait été observée dans les études antérieures [Balgobind *et al.*, 2009; Rubnitz *et al.*, 2002] n'a pas pu être vérifiée en raison du faible nombre de patients non-M5 (9 des 40 patients dont le type FAB était connu).

²¹ Trois anomalies ou plus, au moins une anomalie de structure, sans cytogénétique favorable ni réarrangement du gène *MLL* [Von Neuhoff *et al.*, 2010].

Tableau 3 Valeur pronostique associée à la translocation t(9;11)(p22;q23) KMT2A-MLLT3 dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE t(9;11) N (%)	TYPE FAB (%)	SSE *	SG *
Rubnitz <i>et al.</i> , 2002	295 LMA	23 (7,8)	Cohorte : M4 (17) M5 (21) M7 (7) t(9;11) : M5 (91,3)	t(9;11) : 64,9 % p = 0,003 c. autres s-gr. M5-t(9;11) c. M5 sans t(9;11) : 71,1 % c. 25,8 %; p = 0,0004	n.d.
Lie <i>et al.</i> , 2003	207 LMA	16 (7,7)	Cohorte : M4 (20) M5 (20) M7 (6)	SSE 7 ans : 86 % c. 47 % p < 0,01	SG 7 ans : 94 % ± 6 %
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL [†]	328 (43,4)	Cohorte : M4 (19) M5 (64) M7 (2,8) t(9;11) : M5 (81,2)	t(9;11) : 50 % c. 44 %; p = NS M5 t(9;11) c. non-M5 t(9;11) : 59 % c. 31 %; p = 0,002	t(9;11) : 63 % c. 56 %; p = NS M5 t(9;11) c. non-M5 t(9;11) : 70 % c. 40 %; p = 0,001
Von Neuhoff <i>et al.</i> , 2010	454 LMA	t(9;11) : 32 (7) t(9;11) + AS : 13 (2,9)	s-gr. r-MLL : M4 (17) M5 (67) M7 (2)	t(9;11) : 42 % c. 48 % (cohorte); p = NS t(9;11) + AS : 31 % c. 48 % (cohorte); p = NS	t(9;11) : 51 % c 62 %. (cohorte); p = NS t(9;11) + AS : 30 % c. 62 % (cohorte); p = 0,042
Harrison <i>et al.</i> , 2010	633 LMA	47 (7,4)	t(9;11) : M5 (77,5)‡	SSE 10 ans : 62 % RRI 0,89 (IC99 : 0,39 - 2,04) p = NS	SG 10 ans : 68 % RRI 0,70 (IC99 : 0,30 - 1,66) p = NS

Abréviations : AS : anomalie cytogénétique supplémentaire; diag. : diagnostic; M4: leucémie de type M4 selon la classification FAB (Franco Américano Britannique); M5: leucémie de type M5 selon la classification FAB (Franco Américano Britannique); M7: leucémie de type M7 selon la classification FAB (Franco Américano Britannique); IC99 : intervalle de confiance à 99 %; LMA : leucémie myéloïde aiguë; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; NS : non significatif; r-MLL : réarrangement du gène *MLL*; RRI : rapport des risques instantanés (en anglais *Hazard ratio*); SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s-gr. : sous-groupe; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*)

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

† Cette étude inclut 756 cas de LMA pédiatrique avec anomalie du chromosome 11q23 ou avec réarrangement du gène *MLL*.

‡ La proportion de patients ayant une leucémie de type M5 et présentant la translocation t(9;11) a été calculée sur 40 patients dont le type FAB était connu (31 sur 40, soit 77,5 %).

En résumé, les translocations impliquant le gène *MLL* sont historiquement associées à un pronostic défavorable chez les patients pédiatriques atteints de LMA [Ney Garcia *et al.*, 2016; Meyer *et al.*, 2013; Burmeister *et al.*, 2012]. Toutefois, l'impact pronostique varie selon le gène partenaire impliqué. Selon les études retenues pour la présente évaluation, deux translocations ont été rapportées comme étant des indicateurs indépendants de pronostic défavorable [t(6;11), t(10;11)] et trois n'ont montré aucun impact significatif sur le pronostic des patients [t(11;19) ELL, t(11;19) ENL, t(11;17)]. Par ailleurs, l'impact pronostique de la translocation t(1;11) pour les fusions impliquant les gènes *AF1P* et *AF1Q* est très peu documenté et s'avère incertain. Finalement, l'impact pronostique de la translocation t(9;11) ne semble pas faire consensus, bien qu'associée à la catégorie de risque intermédiaire selon l'European LeukemiaNet (ELN) et le National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Deux études ont rapporté un impact pronostique favorable et trois études n'ont rapporté aucun impact significatif pour cette translocation. Toutefois, il a été

démonstré que le type leucémique M5 avait un impact significativement favorable chez les patients présentant la t(9;11), mais que la présence d'anomalies cytogénétiques supplémentaires altérait significativement le pronostic.

4.2.2 Translocations n'impliquant pas le gène *MLL* (*KMT2A*)

L'impact pronostique des trois translocations n'impliquant pas le gène *MLL* incluses dans le panel proposé par le centre demandeur est présenté au tableau 4.

Translocation t(5;11) NUP98-NSD1

La t(5;11) est issue de la fusion des gènes *NUP98* et *NSD1*, tous deux situés dans la région télomérique des chromosomes 11 et 5 respectivement [Ostronoff *et al.*, 2014], ce qui en fait une translocation dite cryptique²² souvent présente chez les patients atteints de LMA à caryotype normal [Hollink *et al.*, 2011]. Deux études de cohorte portant sur l'impact pronostique de cette translocation ont été retenues [Ostronoff *et al.*, 2014; Hollink *et al.*, 2011]. La présence concomitante fréquente d'une mutation du gène *FLT3* (duplication interne en tandem du gène *FLT3* ou *FLT3*-ITD²³) [Akiki *et al.*, 2013] a été évaluée relativement à sa contribution au pronostic de la translocation t(5;11) (tableau 4).

L'étude de Hollink et ses collaborateurs [2011] avait pour objectif de déterminer la fréquence et l'impact pronostique de la translocation t(5;11) dans une cohorte de 313 patients pédiatriques atteints de LMA (tableau 4). Parmi ceux-ci, 12 (3,8 %) avaient la t(5;11) dont 11 en cooccurrence avec la mutation *FLT3*-ITD. Les résultats ont révélé que les patients qui présentaient à la fois la t(5;11) et la mutation *FLT3*-ITD, avaient une SSE et une SG à 4 ans significativement plus faibles comparativement aux patients qui présentaient uniquement la mutation du gène *FLT3*. Les auteurs ont conclu que la détection de routine de la translocation t(5;11) sera essentielle afin de repérer et classer adéquatement ce groupe de patients dont le pronostic est défavorable.

L'étude d'Ostronoff et ses collaborateurs [2014], bien que non strictement pédiatrique, avait pour objectif d'évaluer la signification pronostique de la translocation t(5;11) dans un contexte de mutation *FLT3*-ITD et ainsi déterminer si l'impact pronostique défavorable rapporté dans la littérature était associé à la t(5;11) ou à la cooccurrence t(5;11) / *FLT3*-ITD (tableau 4). Un total de 461 patients (âgés de 0 à 30 ans) atteints de LMA ont été traités selon un des 4 protocoles de LMA pédiatriques suivants : CCG-2941/2961, COG-AAML03P1 (patients âgés de 21 ans et moins) et COG-AAML0531 (patients âgés de 30 ans et moins). Parmi ceux-ci, 54 patients présentaient la translocation t(5;11) dont 32 avec la présence concomitante de *FLT3*-ITD. Les résultats d'analyse multivariée ont montré que la présence concomitante de *FLT3*-ITD et de la t(5;11) était un indicateur pronostique défavorable indépendant comparativement à la seule présence de *FLT3*-ITD (tableau 4). Par contre, la t(5;11) en absence de *FLT3*-ITD perd sa signification pronostique en terme de SSE et de SG à 3 ans. Les résultats ont également montré que la cooccurrence de ces deux anomalies génétiques est associée à un risque très élevé d'échec à la chimiothérapie d'induction. En effet, une plus faible proportion de patients (27 %) ont atteint une rémission complète comparativement à ceux qui n'avaient pas la t(5;11) (69 %, $p < 0,001$). Ainsi, les auteurs

²² Une translocation cryptique est une anomalie chromosomique non détectable par l'analyse classique du caryotype [De Rooij *et al.*, 2013]. Des techniques moléculaires supplémentaires sont requises afin de détecter ce type d'anomalie [Ostronoff *et al.*, 2014; Hollink *et al.*, 2011].

²³ La duplication interne en tandem du gène *FLT3* (*FLT3*-ITD) est une des mutations somatiques les plus communes dans les cas de LMA, présente chez 12 % des cas pédiatriques. Elle est associée à un pronostic défavorable (diminution de la survie et augmentation de la fréquence de récurrence) [Meshinchi *et al.*, 2006].

concluent qu'un protocole de traitement différent devrait être considéré en première intention pour ces patients étant donné leur faible réponse.

Translocation t(6;9) DEK-NUP214

La translocation t(6;9) DEK-NUP214 est présente chez moins de 2 % des cas de LMA pédiatrique (tableau 4) et est fréquemment associée à la présence de la mutation *FLT3*-ITD. Cette mutation est présente dans environ 10 % des cas de LMA pédiatrique et jusqu'à 70 % des cas t(6;9) positifs [Slovak *et al.*, 2006]. Une étude de cohorte prospective [Harrison *et al.*, 2010] et trois études rétrospectives [Sandahl *et al.*, 2014; Tarlock *et al.*, 2014; Slovak *et al.*, 2006] ont été retenues relativement à l'impact pronostique de la translocation t(6;9) chez des patients pédiatriques atteints de LMA.

Dans l'étude prospective de Harrison et ses collaborateurs [2010] décrite précédemment, un pronostic défavorable a été observé chez les 10 patients présentant la t(6;9). Ces patients avaient une SSE à 10 ans significativement inférieure à celle des autres patients de la cohorte. Par contre, ils n'étaient pas plus à risque que les autres patients de la cohorte en termes de survie globale (SG à 10 ans de 50 %). Considérant les résultats obtenus, les investigateurs de cette étude envisagent de modifier le traitement des patients qui ont la translocation t(6;9).

L'étude rétrospective de Slovak et ses collaborateurs [Slovak *et al.*, 2006] a permis d'effectuer l'analyse des données de 4 groupes de recherche (SWOG, CALBG, ECOG, COG) recueillies de 1987 à 2002 afin de pallier la rareté de cette translocation. Cette étude a ainsi porté sur 2 236 patients pédiatriques dont 31 (1,4 %) avaient la t(6;9) avec ou sans anomalie génétique supplémentaire. La proportion de patients en vie à 5 ans postdiagnostic était de 28 %, avec une survie globale médiane de 12,5 mois (IC95 % 8,2 à 19,5).

Une étude de cohorte rétrospective multicentrique a également permis d'associer un pronostic défavorable à la translocation t(6;9) [Sandahl *et al.*, 2014]. Cette étude portant sur 7 363 patients pédiatriques atteints de LMA avait pour objectif d'étudier les caractéristiques cliniques des 54 patients qui présentaient la t(6;9) ainsi que les caractéristiques génétiques et morphologiques tumorales. Une SSE et une SG à 5 ans de 28 % et 50 % respectivement ont été observées. De plus, la présence de la mutation *FLT3*-ITD avait eu un impact négatif mais non significatif sur ces deux paramètres.

Des résultats similaires ont été obtenus dans l'étude rétrospective de Tarlock et ses collaborateurs [2014] menée par le Children's Oncology Group. Les résultats de 6 études cliniques (1988-2010) incluant 3 790 patients pédiatriques dont 2 839 avec données cytogénétiques complètes ont été inclus dans cette analyse. La SG à 5 ans était significativement inférieure à celle des patients qui n'avaient pas cette translocation (39 % ± 15 % et 57 % ± 2 % respectivement, $p = 0,03$), et ce indépendamment de la présence de la mutation *FLT3*-ITD. Les auteurs concluent que les patients présentant la t(6;9) devraient être considérés à risque élevé d'échec de traitement et pourraient tirer avantage d'une greffe de cellules souches en première rémission complète.

Translocation t(10;11) PICALM-MLLT10

La translocation t(10;11) PICALM-MLLT10 est présente chez 0,3 % à 2 % de tous les cas de LMA selon l'âge [Borel *et al.*, 2012]. Bien que plus fréquemment associée à la leucémie lymphoïde aiguë à lymphocytes T (LLA-T), on la retrouve également dans les cas de leucémie aiguë peu différenciée (type FAB M0 et M1) et de LMA [Borel *et al.*, 2010; Savage *et al.*, 2010]. Ce type de leucémie est caractérisée par un phénotype mixte (multilignée) avec

expression aberrante des marqueurs de différenciation (marqueurs CD, de l'anglais *cluster of differentiation*), une morphologie cellulaire immature, ainsi qu'une présentation clinique mixte souvent accompagnée d'une masse médiastinale [Savage *et al.*, 2010].

Les cas de leucémie aiguë présentant le gène de fusion PICALM-MLLT10 sont principalement rapportés dans des études de cas. Ces études n'ont pas été retenues en raison de leur faible niveau de preuve et du manque d'informations pronostiques. Par ailleurs, deux études portant sur un plus grand nombre de patients ont aussi été retenues [Borel *et al.*, 2012; Kumon *et al.*, 1999].

L'étude cas-témoin de Borel et ses collaborateurs [2012] comportait 18 patients atteints de LMA et présentant la translocation t(10;11) PICALM-MLLT10. Ces patients, en majorité de type leucémique FAB M0, M1 ou M2, étaient âgés de 15 ans à 77 ans (médiane 27,5 ans). Cette étude avait pour objectif d'évaluer et de comparer les caractéristiques cliniques et le pronostic de ces patients à ceux d'une cohorte témoin appariée selon l'âge, constituée de 72 patients recrutés au cours de la même période (tableau 4). La SSE et la SG à 2 ans était de 39 % et 36 % respectivement, mais non significative comparativement au groupe témoin sans t(10;11).

L'étude de Kumon et ses collaborateurs [1999] portait sur l'évaluation du pronostic et des caractéristiques cliniques de 11 patients présentant la translocation t(10;11) PICALM-MLLT10. Parmi ces patients, 4 étaient âgés de moins de 18 ans, 6 étaient atteints de LMA, 4 de LLA et un de sarcome granulocytique. Le décès des patients est survenu après quelques mois à la suite de l'absence de réponse au traitement, d'une rémission partielle ou d'une récurrence.

Tableau 4 Valeur pronostique de translocations n'impliquant pas le gène *MLL* dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE N (%)	SSE *	SG *
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98-NSD1				
Hollink <i>et al.</i> , 2011	313 LMA	t(5;11) : 1 (0,3) FLT3-ITD : 41 (13,1) t(5;11) et FLT3-ITD : 11 (3,5)	SSE 4 ans : <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> 9 % c. 46 % FLT3-ITD seul p < 0,001	SG 4 ans : <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> 20 % c. 56 % FLT3-ITD seul p = 0,006
Ostronoff <i>et al.</i> , 2014	461 LMA	t(5;11) : 22 (4,8) FLT3-ITD : 162 (35,1) t(5;11) et FLT3-ITD : 32 (6,9)	SSE 3 ans : † <u>t(5;11)</u> : RRI 1,16 (IC95 : 0,42 - 3,22) p = NS c. DN‡ (multivarié) <u>FLT3-ITD</u> : RRI 1,43 (IC95 : 1,07 - 1,91) p = 0,015 c. DN‡ (multivarié) <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> : RRI 2,34 (IC95 : 1,45 - 3,78) p < 0,001 c. DN‡ (multivarié)	SG 3 ans : † <u>t(5;11)</u> : RRI 0,34 (IC95 : 0,05 - 2,5) p = NS c. DN‡ (multivarié) <u>FLT3-ITD</u> : RRI 1,39 (IC95 : 0,99 - 1,95) p = 0,055 c. DN‡ (multivarié) <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> : RRI 2,05 (IC95 : 1,19 - 3,53) p = 0,01 c. DN‡ (multivarié)
t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214				
Harrison <i>et al.</i> , 2010	633 LMA	10 (1,6)	SSE 10 ans : 10 % RRI 3,38 (IC99 : 1,00 - 11,49) p = 0,01 c. sans t(6;9)	SG 10 ans : 50 % c. 59 % RRI 1,49 (IC99 : 0,43 - 5,21) p = NS
Slovak <i>et al.</i> , 2006	2236 LMA	t(6;9) : 27 (1,2) t(6;9) + AS : 4 (0,2)	n.d.	28 % (IC95 : 12 - 44)
Sandahl <i>et al.</i> , 2014	7363 LMA	54 (0,7)	28 % c. 37 % avec AS p = NS	50 % c. 55 % avec AS p = NS
Tarlock <i>et al.</i> , 2014	2839 LMA	48 (1,7)	32 % c. 45 % sans t(6;9) p = NS	39 % c. 57 % sans t(6;9) p = 0,03
t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10				
Borel <i>et al.</i> , 2012	18 LMA t(10;11)	s.o.	SSE 2 ans : 39 % (IC95 : 13 - 65) c. 46 % (IC95 : 32 - 60) p = NS	SG 2 ans : 36 % (IC95 : 15 - 58) c. 47 % (IC95 : 35-58) p = NS

Abréviations : AS : anomalie supplémentaire; diag. : diagnostic; DN: double négatif; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; IC99 : intervalle de confiance à 99 %; LMA : leucémie myéloïde aiguë; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; nég.: négatif; NS : non significatif; RRI : rapport des risques instantanés (en anglais *Hazard ratio*); SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s.o. : sans objet; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*)

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

† Les résultats d'analyse multivariée sont basés sur l'ensemble de la cohorte incluant des patients de plus de 18 ans ainsi que les patients adultes de l'étude S0106 du SWOG (âgés de 18 ans à 60 ans). Parmi ces patients, 4 (2,5 %) avaient la t(5;11), 54 (34,0 %) avaient la mutation FLT3-ITD et 5 (3,1 %) avaient la t(5;11) et FLT3-ITD.

‡ Les doubles négatifs (DN) sont les cas sans t(5;11) et sans FLT3-ITD (N = 245).

En résumé, un impact pronostique défavorable est associé aux translocations t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;9) DEK-NUP214 et t(10;11) PICALM-MLLT10. La présence de la mutation *FLT3*-ITD est fréquente chez les patients qui ont la t(5;11) ou la t(6;9). Concernant la t(5;11), le pronostic associé à sa cooccurrence avec la mutation *FLT3*-ITD est pire que celui associé à la mutation *FLT3*-ITD seule. Selon une des deux études retenues [Ostronoff *et al.*, 2014], cet impact pronostique défavorable serait dû à la cooccurrence des deux anomalies et non à la t(5;11). Contrairement à la t(5;11), la mutation *FLT3*-ITD n'aurait pas d'impact significatif sur le pronostic des patients présentant la t(6;9). Par ailleurs, l'impact pronostique défavorable de la translocation t(10;11) PICALM-MLLT10 rapporté dans une étude de cohorte n'est toutefois pas significativement différent comparativement au groupe témoin.

4.2.3 Translocations associées à la LMCA

La valeur pronostique des trois translocations du panel proposé associées à la LMCA est présentée au tableau 5. Deux études de cohorte dont une rétrospective portant, entre autres, sur la valeur pronostique des trois translocations du panel LMCA ont été retenues [De Rooij *et al.*, 2016; De Rooij *et al.*, 2013]. De plus, deux études de cohorte portant sur l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 [Masetti *et al.*, 2013; Gruber *et al.*, 2012] et deux études portant sur la translocation t(1;22) RMB15-MKL1 [Inaba *et al.*, 2015; Schweitzer *et al.*, 2015] ont également été retenues.

Inversion du chromosome 16, inv(16) CBFA2T3-GLIS2

La valeur pronostique de l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 a été étudiée par Gruber et ses collaborateurs [2012] dans une cohorte de 48 patients pédiatriques atteints de LMCA sans syndrome de Down. L'objectif de cette étude était de définir la gamme de mutations associées à la LMCA et d'en évaluer les conséquences fonctionnelles et pronostiques. Les données de survie étaient accessibles chez 40 de ces patients. Bien que ceux-ci aient été traités dans divers établissements selon des protocoles variés, la présence de l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 a permis de révéler que ces patients avaient une SG à 5 ans significativement inférieure à celle des patients qui n'avaient pas l'inv(16) (28,1 % c. 41,9 %, $p = 0,05$) constituant ainsi, selon les auteurs, un sous-type agressif de LMCA.

L'étude de Masetti et ses collaborateurs [2013] avait pour objectif de détecter les mutations somatiques et les réarrangements génomiques chez 7 patients pédiatriques atteints de LMA à caryotype normal (LMA-CN) et de valider les résultats obtenus dans une cohorte de 230 patients. Parmi les 20 patients qui présentaient l'inv(16), la moitié étaient de type FAB-M7 et donc atteints de LMCA. Une influence défavorable de l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 sur le pronostic de ces patients a également été observée. La SSE à 5 ans de ces 20 patients (27,4 % $\pm$ 10,5 %) était significativement inférieure à celle des 217 patients qui n'avaient pas l'inv(16) (59,6 % $\pm$ 3,6 %, $p = 0,01$). Une différence significative similaire en termes de SSE à 5 ans a aussi été observée en comparant les patients de type M7 avec ou sans inv(16) ou en comparant les patients non-M7 avec ou sans inv(16). Par contre, aucune différence significative n'a été observée pour la SSE entre les patients de type M7 et non-M7 en présence de l'inv(16), suggérant que le type leucémique FAB n'avait pas d'influence sur le pronostic. Les auteurs concluent que le gène de fusion CBFA2T3-GLIS2, associé à un pronostic défavorable, serait caractéristique de la LMA-CN mais non restreint au sous-type M7.

L'étude de De Rooij et ses collaborateurs [2013] portait sur 105 patients pédiatriques atteints de LMCA sans syndrome de Down. Elle avait pour objectif d'analyser la fréquence ainsi que la pertinence pronostique de certaines anomalies génétiques dont l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, la t(11;12) NUP98-KDM5A et la t(1;22) RMB15-MKL1. Les analyses de survie ont été réalisées à partir d'un sous-groupe de 73 patients représentatifs de l'ensemble de la cohorte. Concernant l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, présente chez 13 (12,4 %) patients, la SSE et la SG à 5 ans étaient de 19 % $\pm$ 16 % et 35 % $\pm$ 20 % respectivement, sans différence significative comparativement aux patients qui ne présentaient pas cette anomalie. Les auteurs concluent que ces résultats sont représentatifs de la LMCA pédiatrique puisqu'ils sont comparables à ceux du groupe de recherche AML-BFM, et ce, malgré les diverses provenances des échantillons en raison des difficultés de prélèvement de la moelle osseuse.

L'objectif de l'étude rétrospective de De Rooij et ses collaborateurs [2016] était d'évaluer si les translocations t(11;12) NUP98-KDM5A, t(1;22) RMB15-MKL1, inv(16) CBFA2T3-GLIS2, les réarrangements du gène *MLL* (R-MLL) et la monosomie 7 pouvaient être utilisés pour la stratification du risque. L'évaluation de la fréquence et de la valeur pronostique de ces translocations a été réalisée chez 153 patients atteints de LMCA. La SSE et la SG à 4 ans des 24 patients qui avaient l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 étaient de 33 % $\pm$ 10 % et 38 % $\pm$ 10 %, respectivement. De plus, l'analyse multivariée combinant la t(11;12) NUP98-KDM5A, l'inv(16), les R-MLL et la monosomie 7 a révélé que la présence de l'une ou l'autre de ces anomalies constituait un indicateur pronostique défavorable indépendant pour la SSE (RRI 1,69; IC à 95 % 1,04 - 2,76; p = 0,035) et la SG (RRI 2,33; IC à 95 % 1,36 - 3,99; p = 0,002) comparativement à la t(1;22) RMB15-MKL1 ou à la LMCA sans ces anomalies. Les auteurs concluent que ces anomalies, dont l'inv(16), peuvent être considérées pour la stratification du risque et l'individualisation du traitement des patients pédiatriques atteints de LMCA.

Translocation t(11;12) NUP98-KDM5A

Les deux études de De Rooij décrites précédemment [2016; 2013] ont également rapporté un impact pronostique défavorable associé à la translocation t(11;12) NUP98-KDM5A (tableau 5). Avec une SSE et une SG inférieures à 40 % et les résultats de l'analyse multivariée, les auteurs suggèrent que les patients pédiatriques atteints de LMCA qui présentent la t(11;12) NUP98-KDM5A, l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, des R-MLL ou la monosomie 7 soient considérés à risque élevé, tandis que ceux qui présentent la t(1;22) RMB15-MKL1 soient considérés à risque standard [De Rooij *et al.*, 2016].

Translocation t(1;22) RMB15-MKL1

Comparativement aux deux autres translocations associées à la LMCA, les deux études de De Rooij décrites précédemment [2016; 2013] ont rapporté un pronostic plus favorable pour la t(1;22) (tableau 5).

Les résultats de l'étude de De Rooij et ses collaborateurs [2013] ont révélé que les patients qui avaient la t(1;22) bénéficiaient d'une SSE et d'une SG à 5 ans significativement plus élevées qu'en absence de t(1;22). Parmi les 11 patients présentant la t(1;22) et dont l'information était accessible, aucun n'a subi de récurrence et deux décès sont survenus. Étant donné le jeune âge des patients, une analyse multivariée a été réalisée en incluant l'âge au diagnostic et le compte leucocytaire comme covariables. Les auteurs n'ont pas été en mesure de confirmer la t(1;22) comme étant un indicateur pronostique indépendant, pour la SG ou la SSE, probablement en raison du faible nombre de patients. Ils concluent qu'à l'exception des patients qui présentaient la translocation t(1;22), le pronostic des patients atteints de LMCA sans syndrome de Down est généralement défavorable.

L'étude plus récente de De Rooij et ses collaborateurs [2016] a également montré que le pronostic des patients qui avaient la t(1;22) était significativement plus favorable avec une SG à 4 ans de 70 % $\pm$ 11 % ($p = 0,0036$) comparativement à celui des patients qui avaient la t(11;12) (36 % $\pm$ 13 %), l'inv(16) (38 % $\pm$ 10 %) ou un R-MLL (33 % $\pm$ 13 %). Une tendance similaire ($p = 0,06$) a par ailleurs été observée pour la SSE à 4 ans. Les auteurs affirment que cette différence pronostique serait liée à la grande proportion de patients, soit 31 sur les 52 (60 %) présentant l'une de ces 3 anomalies, qui avaient subi une récurrence ou n'avaient pas atteint de rémission complète. Par ailleurs, parmi les 18 patients qui présentaient la t(1;22), un est décédé précocement, 2 décès étaient liés au traitement et 2 décès étaient liés à la progression de la leucémie.

L'étude rétrospective d'Inaba et ses collaborateurs [2015] avait pour but d'analyser les caractéristiques cliniques et les paramètres de survie de 490 patients atteints de LMCA sans syndrome de Down, dont 372 avec données cytogénétiques complètes. Le pronostic favorable associé à cette translocation rapporté dans une étude antérieure [De Rooij *et al.*, 2013] n'a pas été observé dans cette étude (tableau 5). Selon les auteurs, ces résultats pourraient être attribués au nombre élevé de décès précoces²⁴ chez les patients qui avaient la t(1;22) équilibrée²⁵. Parmi les 246 décès survenus dans cette cohorte, 12 étaient des décès précoces dont 5 avaient la translocation t(1;22). Les auteurs mentionnent que des soins de soutien adéquats sont requis afin de prévenir les décès précoces [Creutzig *et al.*, 2004] spécialement pour les patients présentant la t(1;22) en raison de leur très jeune âge. Aucune conclusion spécifique n'a par ailleurs été dégagée par les auteurs relativement à cette translocation.

L'étude de Schweitzer et ses collaborateurs [2015] regroupait 97 patients atteints de LMCA sans syndrome de Down (dont 78 avec données cytogénétiques) traités au cours de deux études multicentriques consécutives : AML-BFM 98 (1998 - 2003, N = 37) et AML-BFM 04 (2004 - 2014, N = 60). Cette étude avait pour objectif de comparer les données de survie en lien avec les protocoles de traitement et de définir la valeur pronostique de certains sous-groupes cytogénétiques, en l'occurrence la translocation t(1;22). La SSE à 5 ans des 8 patients qui avaient la t(1;22) était significativement inférieure à celle des patients de la cohorte qui en étaient dépourvus (38 % $\pm$ 17 % c. 53 % $\pm$ 6 %, $p = 0,039$). Bien que cet impact n'ait pas été confirmé en analyse multivariée, les auteurs ont attribué ce résultat au faible nombre de patients et à la proportion élevée d'absence de réponse ou de réponse partielle au traitement d'induction (13,4 %). Selon les auteurs, le rôle de la t(1;22) en tant qu'indicateur pronostique favorable est remis en question.

²⁴ Dans cette étude, un décès précoce est défini comme étant un décès survenant en-dehors de 30 jours suivant le diagnostic [Inaba *et al.*, 2015].

²⁵ Une translocation chromosomique consiste en l'échange de matériel entre deux chromosomes non homologues après cassure sur chacun des chromosomes impliqués. Si cet échange s'accompagne d'une perte de matériel génétique, il est déséquilibré, sinon la translocation est dite équilibrée (Cochin virtuel, Faculté de médecine Paris Descartes. Les principales anomalies chromosomiques et leurs conséquences cliniques [site Web], disponible à : <http://cvirtuel.cochin.univ-paris5.fr/cytogen/2-1.htm> (consulté le 26 août 2016)).

Tableau 5 Valeur pronostique associée aux translocations t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A, inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2 et t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1 chez les patients pédiatriques atteints de LMCA

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE N (%)	SSE *	SG *
inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2				
Gruber <i>et al.</i> , 2012	48 LMCA	13 (27,1)	n.d.	28,1 % c. 41,9 % cas nég. p = 0,05
Masetti <i>et al.</i> , 2013	237 LMA-CN	20 (8,4) dont 10 FAB-M7	27,4 % c. 59,6 % cas nég. p = 0,01	n.d.
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	105 LMCA	13 (12,4)	19 % c. 34 % cas. nég. p = NS	35 % c. 42 % cas nég. p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153 LMCA	24 (16)	SSE 4 ans : 33 %	SG 4 ans : 38 % c. 66 % cas nég.
t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A				
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	105 LMCA	11 (10,5)	22 % c. 36 % cas nég. p = NS	22 % c. 45 % p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153 LMCA	14 (9)	SSE 4 ans : 36 %	SG 4 ans : 36 % c. 66 % cas nég.
t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1				
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	105 LMCA	16 (15,2)	73 % c. 27 % cas nég. p = 0,039 (N = 11) RRI 0,40 (IC95 : 0,12 – 1,37) p = NS (multivarié)	82 % c. 36 % cas nég. p = 0,043 (N = 11) RRI 0,31 (IC95 : 0,07 – 1,36) p = NS (multivarié)
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153 LMCA	18 (12)	SSE 4 ans : 65 %	SG 4 ans : 70 % c. 66 % cas nég.
Inaba <i>et al.</i> , 2015	372 LMCA sans SD	51 (13,7)	54,5 % p = NS c. autres s-gr.	58,2 % p = NS c. autres s-gr.
Schweitzer <i>et al.</i> , 2015	78 LMCA	8 (10,3)	38 % c. 53 % cas nég. p = 0,039	63 % p = NS c. cas nég.

Abréviations : diag. : diagnostic; LMA-CN: leucémie myéloïde aiguë à caryotype normal; LMCA : leucémie mégacaryoblastique; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; nég.: négatif; NS : non significatif; SD: syndrome de Down; SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s-gr. : sous-groupe; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*)

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

En résumé, un impact pronostique défavorable est associé à la translocation t(11;12) NUP98-KDM5A et à l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2. Selon une étude récente, ces deux anomalies génétiques constituent des indicateurs pronostiques défavorables indépendants et les patients atteints de LMCA présentant ces anomalies devraient être considérés dans la catégorie de risque élevé. Par ailleurs, selon certaines études, les patients qui présentent la translocation t(1;22) RMB15-MKL1 ont une meilleure SSE et SG comparativement à la t(11;12) et à l'inv(16). Par contre, la t(1;22) n'a pas pu être confirmée comme indicateur pronostique indépendant, probablement en raison du nombre de patients. De plus, deux études ont rapporté un impact pronostique moins favorable pour la t(1;22), bien que supérieur à l'inv(16) et à la t(11;12), en mettant en cause le faible nombre de patients, la proportion élevée de décès précoces et la piètre réponse au traitement.

4.3 Valeur thérapeutique

Outre les anomalies cytogénétiques et moléculaires, une réponse précoce au traitement d'induction constitue un indicateur pronostique chez les patients atteints de LMA [De Rooij *et al.*, 2013; Creutzig *et al.*, 2012]. La détection et la quantification de cellules positives pour une translocation donnée durant ou après le traitement peut servir à évaluer le niveau de maladie résiduelle et ainsi guider les interventions thérapeutiques subséquentes chez les patients en rémission clinique complète bien qu'ils puissent être à risque élevé de récurrence [Hourigan et Karp, 2013].

Valeur prédictive de réponse au traitement

Quelques études ont été retenues afin d'illustrer la valeur prédictive de réponse au traitement associée à certaines translocations et de présenter la proportion des cas pour lesquels une greffe de cellules souches hématopoïétiques a été effectuée.

Concernant les translocations impliquant le gène *MLL*, un taux global de rémission complète variant de 86 % à 91 % traduisant une excellente réponse au traitement a été rapporté dans deux études de cohorte prospectives totalisant plus de 1 000 patients atteints de LMA [Harrison *et al.*, 2010; Von Neuhoff *et al.*, 2010]. Cette perspective pronostique favorable est toutefois assombrie par un taux de récurrence pouvant varier de 4 % à 71 % selon le gène partenaire impliqué dans la translocation (tableau 7). Par ailleurs, les résultats des études illustrant la réponse au traitement moins favorable associée aux translocations t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;9) DEK-NUP214 ainsi qu'aux trois translocations caractéristiques de la LMCA sont présentés au tableau 6.

Concernant la translocation t(5;11) NUP98-NSD1, une série de cas [Cerveira *et al.*, 2003], une étude de cohorte rétrospective [Akiki *et al.*, 2013] et une étude de cohorte prospective [Hollink *et al.*, 2011] ont été retenues. L'étude de Cerveira et ses collaborateurs [2003] a évalué la fréquence de la t(5;11) détectée par RT-PCR dans une série de 20 patients consécutifs atteints de LMA. Parmi ceux-ci, une patiente âgée de 4 ans présentait la t(5;11). Réfractaire au premier traitement d'induction, une rémission complète a été documentée à la suite de l'intensification de la chimiothérapie. Suivant deux greffes de cellules souches, le décès est survenu 10 mois après le diagnostic.

L'étude d'Akiki et ses collaborateurs [2013] avait pour objectif de détecter la t(5;11) ainsi que de déterminer le profil mutationnel des gènes *FLT3*, *NPM1* et *CEBPA* chez 54 patients atteints de LMA. La réponse aux traitements de chimiothérapie des 4 patients qui avaient la t(5;11) a été évaluée par RT-PCR en temps réel. Parmi ceux-ci, deux ont obtenu une

rémission partielle et un, atteint de LMA secondaire au traitement d'un ostéosarcome, n'a pas obtenu de réponse significative au traitement de la LMA. Ces 4 patients ont reçu une greffe de cellules souches, 2 étaient en vie à 39 mois et 52 mois après la greffe et 2 sont décédés peu de temps après la greffe. Les auteurs soulignent l'importance de rechercher cette translocation par PCR quantitative chez des patients pédiatriques atteints de LMA sans marqueurs génétiques favorables, et ce à des fins pronostiques et de suivi thérapeutique.

L'étude de Hollink et ses collaborateurs [2011] décrite précédemment a révélé que le taux de rémission complète des patients pédiatriques qui avaient la t(5;11) était de 100 % (12/12). Toutefois, pour 10 des 12 patients (83,3 %), une récurrence est survenue moins de 9 mois suivant la rémission, et ce, en dépit de l'administration de traitements intensifs. À la suite de cette récurrence, 6 patients ont reçu une greffe de cellules souches et 2 sont finalement décédés. De plus, la détection du transcrite NUP98-NSD1 a été effectuée par RT-PCR chez 3 patients dont des échantillons de moelle osseuse prélevés au moment de la rémission et de la récurrence étaient disponibles. Des niveaux élevés de transcrits ont été détectés dans les 3 échantillons correspondants à la rémission indiquant une présence importante de maladie résiduelle associée à la résistance au traitement. Par ailleurs, les niveaux de transcrite des échantillons prélevés à la récurrence étaient similaires à ceux obtenus lors du diagnostic, suggérant une stabilité clonale. Les auteurs affirment que de nouvelles stratégies thérapeutiques sont requises pour les patients qui présentent la translocation t(5;11).

En ce qui a trait à la translocation t(6;9) DEK-NUP214, deux des trois études décrites précédemment ont rapporté un taux de rémission complète inférieur à la t(5;11), variant de 67 % à 71 % [Tarlock *et al.*, 2014; Slovak *et al.*, 2006]. Par ailleurs, dans l'étude de Sandahl et ses collaborateurs [2014] les patients qui avaient la t(6;9) ont atteint la rémission complète dans une proportion de 92,6 %. Chez 18 de ces patients, la greffe de moelle osseuse s'est avérée plus efficace que la chimiothérapie, permettant d'augmenter la SSE à 5 ans ($68 \% \pm 12 \%$ c. $18 \% \pm 7 \%$; $p < 0,01$) et de diminuer l'incidence cumulative de récurrence (ICR) à 5 ans ($13 \% \pm 9 \%$ c. $81 \% \pm 8 \%$; $p < 0,01$) de façon significative, sans toutefois affecter la survie globale.

L'étude rétrospective de De Rooij et ses collaborateurs [2016], portant entre autres sur les trois translocations caractéristiques de la LMCA (tableau 6), n'a pas permis de démontrer l'avantage d'une greffe de moelle osseuse chez 63 patients pédiatriques atteints de LMCA. Dans le groupe de patients présentant la t(11;12) NUP98-KDM5A, l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, un R-*MLL* ou la monosomie 7, 47 % ont reçu une greffe de moelle osseuse. L'analyse multivariée a montré que la greffe n'avait pas eu d'influence significative sur la SSE, la SG et la survie sans récurrence à 4 ans. Les auteurs affirment toutefois que bien que cette analyse rétrospective n'ait pas permis de démontrer une influence favorable de la greffe de moelle osseuse sur le pronostic, la greffe en première rémission complète est recommandée dans plusieurs protocoles de traitement de la LMA pour les cas considérés à risque élevé.

Tableau 6 Valeur prédictive de réponse au traitement selon le type de translocation

ÉTUDE	NOMBRE DE CAS (%)	RÉPONSE AU TRAITEMENT N (%)	GREFFE N (%)
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98-NSD1			
Cerveira <i>et al.</i> , 2003	1 (5)	Réfractaire en 1 ^{ère} induction Intensification chimio. RÉM-C : 1 (100)	1 ^{ère} greffe => échec 2 ^e greffe Décès 10 mois après diag. (pneumonie)
Akiki <i>et al.</i> , 2013	4 (7,4)*	Réfractaires : 2 (50) RÉM-C courte durée ou RÉM-P	4 (100) (3 en 1 ^{ère} RÉM-C et 1 PR) 2 décès post-greffe
Hollink <i>et al.</i> , 2011	12 (3,8)	RÉM-C : 12/12 (100) 10 récidivent rapidement	Greffe après récurrence : 6/12 (50) Décès : 7/12 (58,3) 5 sans greffe, 2 après greffe
t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214			
Slovak <i>et al.</i> , 2006	31 (1,4)†	RÉM-C : 22 (71)	7 (22,6)
Sandahl <i>et al.</i> , 2014	54 (0,7)	RÉM-C : 50 (92,6)	32 (59,3) (18 en 1 ^{ère} RÉM-C et 14 PR)
Tarlock <i>et al.</i> , 2014	48 (1,7)‡	chimio. : 3/14 (21) SLT RÉM-C : 67 % (p = 0,04 c. 79 % sans t(6;9))	10 (20,8) (5 en 1 ^{ère} RÉM-C et 5 PR) dont 6 (60) SLT
t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A			
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	14 (9)	n.d.	4 (29 %)
inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2			
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	24 (16)	n.d.	11 (46 %)
t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1			
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	18 (12)	n.d.	9 (50 %)

Abréviations : chimio. : chimiothérapie; n.d. : donnée non disponible; PR : post-récurrence; RÉM-C : rémission complète; RÉM-P : rémission partielle; SLT : survivant à long terme.

* Quatre cas porteurs de la t(5;11) incluant 3 LMA *de novo* et 1 LMA secondaire au traitement.

† Parmi ces 31 cas, 27 cas (87,1 %) présentaient la translocation seule et 4 cas (12,9 %) avaient une anomalie cytogénétique supplémentaire.

‡ Ces 48 cas incluent 12 cas avec t(6;9) seule, 24 cas avec t(6;9) et FLT3-ITD et 12 cas avec t(6;9) avec ou sans anomalie cytogénétique supplémentaire.

Risque de récurrence

Au cours des dernières décennies, la survie des patients atteints de LMA a augmenté à près de 70 % en raison de l'amélioration des soins de soutien, de l'optimisation de la stratification du risque et de l'intensification de la chimiothérapie [De Rooij *et al.*, 2015]. Toutefois, chez les patients pédiatriques dont la leucémie est causée par un réarrangement impliquant le gène *MLL*, la survie varie de 10 % à 40 % selon le gène partenaire [Marschalek, 2015]. En dépit des traitements intenses, environ 30 % des patients pédiatriques vont subir une récurrence et 5 % à 10 % vont décéder à la suite de complications de la maladie ou d'effets secondaires des médicaments [De Rooij *et al.*, 2015; Kaspers *et al.*, 2013; Sander *et al.*, 2010].

Les tableaux 7, 8 et 9 présentent le risque de récurrence associé à 13 des 14 translocations évaluées dans le présent avis, soit les translocations impliquant le gène *MLL*, les translocations n'impliquant pas le gène *MLL* et les translocations caractéristiques de la LMCA, respectivement. L'incidence cumulative de récurrence (ICR) associée à la majorité de ces translocations est élevée, plus particulièrement pour les trois translocations n'impliquant pas le gène *MLL* (tableau 8) atteignant 83 % à 4 ans pour la t(5;11). Par ailleurs, pour les translocations t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q) (tableau 7) et t(1;22) RMB15-MKL1 (tableau 9), on a rapporté une ICR de 4 % et de 6 % à 9 % respectivement.

Tableau 7 Risque de récurrence associé aux translocations impliquant le gène *MLL*

ÉTUDE	PRÉVALENCE DE LA TRANSLOCATION (%)	ICR À 5 ANS
t(1;11)(q21;q23) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	25 (3,3)	4 % c. 35 % (cohorte) p < 0,001 c. autres s-gr.
t(9;11)(p22;q23) KMT2A-MLLT3		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	328 (43,4)	29 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
Von Neuhoﬀ <i>et al.</i> , 2010	32 (7)*	42 % † NS c. cohorte
t(11;19)(q23;p13.1) KMT2A-ELL		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	34 (4,5)	42 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-MLLT1 (ENL)		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	25 (3,3)	21 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
t(10;11)(p12;q23) KMT2A-MLLT10		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	98 (13)	52 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
Von Neuhoﬀ <i>et al.</i> , 2010	11 (2,4)	71 % p = 0,019 c. cohorte
t(6;11)(q27;q23) KMT2A-MLLT4		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	35 (4,6)	54 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A-LASP1		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	12 (1,6)	41 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.

Abréviations : ICR : incidence cumulative de récurrence; NS : non significatif; s-gr. : sous-groupe.

* Ces 32 cas avaient la t(9;11) uniquement, 13 autres cas (2,9 %) présentaient la translocation t(9;11) et une anomalie cytogénétique supplémentaire.

† Incidence cumulative de récurrence à 5 ans pour les cas présentant la t(9;11) uniquement. Pour les cas qui avaient la t(9;11) et une anomalie cytogénétique supplémentaire, l'ICR à 5 ans était de 61 % (p = 0,028 c. cohorte).

Tableau 8 Risque de récurrence associé aux translocations n'impliquant pas le gène *MLL*

ÉTUDE	NOMBRE DE CAS (%)	RISQUE DE RÉCURRENCE ICR (%) OU FRÉQUENCE N (%)
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98-NSD1		
Hollink <i>et al.</i> , 2011	12 (3,8)	Récurrence : 10/12 (83,3 %) < 9 mois après RÉM-C ICR 4 ans : 83 % c. 45 %; p < 0,001 SSR : RRI 2,55 (1,54 - 4,22); p < 0,001 (multivarié)
t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214		
Sandahl <i>et al.</i> , 2014	54 (0,7)	Récurrence : 25 (46,3 %) ICR 5 ans : 60 % (N = 50); p = NS c. t(6;9) avec AS
Tarlock <i>et al.</i> , 2014	48 (1,7) *	Récurrence : 64 % c. 42 %; p = 0,04
t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10		
Borel <i>et al.</i> , 2012	18 †	Récurrence : 5 (41,7 %) ‡ Décès : 12 (66,7 %)

Abréviations : AS : anomalie supplémentaire; ICR : incidence cumulative de récurrence; N : nombre de patients; NS : non significatif; RÉM-C : rémission complète; SSR : survie sans récurrence

* Ces 48 cas incluent 12 cas avec t(6;9) seule, 24 cas avec t(6;9) et FLT3-ITD et 12 cas avec t(6;9) avec ou sans anomalie cytogénétique supplémentaire.

† Cette étude porte sur 18 cas de LMA présentant la translocation t(10;11) et non sur une cohorte de patients atteints de LMA présentant diverses translocations. Parmi ces 18 cas, 8 cas (44,4 %) présentaient la translocation seule et 10 cas (55,5 %) avaient une anomalie génétique additionnelle.

‡ Parmi les 12 patients qui ont atteint une rémission complète, 5 (41,7 %) ont subi une récurrence.

Tableau 9 Risque de récurrence associé aux translocations présentes dans les cas de LMCA

ÉTUDE	NOMBRE DE CAS (%)	RISQUE DE RÉCURRENCE ICR (%) OU FRÉQUENCE N (%)
t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A		
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	9 (12,3)	ICR 5 ans : 56 % c. 54 % cas nég. p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	14 (9)	ICR 4 ans : 36 % p = 0,03
inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2		
Masetti <i>et al.</i> , 2013	20 (8,4)	Récurrence : 10 (50 %)
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	8 (11)	ICR 5 ans : 81 % c. 51 % cas nég. p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	24 (16)	ICR 4 ans : 42 % p = 0,03
t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1		
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	11 (15,1)	ICR 5 ans : 9 % c. 62 % cas nég. p = 0,004
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	18 (12)	ICR 4 ans : 6 % p = 0,03

Abréviations : ICR : incidence cumulative de récurrence; N : nombre de patients; nég.: négatif; NS : non significatif

4.4 Validité analytique

Quatre études utilisant la RT-PCR pour détecter certaines translocations ont été retenues afin d'illustrer la valeur ajoutée de cette technique comparativement à l'analyse cytogénétique classique, particulièrement dans le cas des translocations cryptiques. Parmi les études retenues, deux portaient sur la détection de certaines translocations impliquant le gène *MLL* [Ko *et al.*, 2015; Cho *et al.*, 2012], une portait sur la détection de la translocation t(5;11) NUP98-NSD1 [Hollink *et al.*, 2011] et une sur la détection des translocations associées à la LMCA [De Rooij *et al.*, 2016] (tableau 10).

L'étude de Cho et ses collaborateurs [2012] avait pour objectif de comparer la détection de translocations par RT-PCR et par analyse cytogénétique classique chez 121 patients atteints de leucémie aiguë (LMA : 77; LLA : 37; LAPM²⁶ : 7) incluant 32 enfants (âge médian : 9 ans; 1 à 16 ans). La méthode RT-PCR en multiplex de la trousse commerciale HemaVision^{MC} (BioRad Laboratories, USA) permettant la détection de 28 translocations a été simplifiée à 15 translocations jugées courantes et d'intérêt pronostique. Parmi ces translocations, les 6 incluses dans le panel proposé par le centre demandeur (tableau 10) ont été détectées par RT-PCR chez 9 (11,7 %) patients atteints de LMA. Une concordance de 90,8 % a été obtenue entre les deux méthodes de détection pour les cas de LMA comparativement à 91,7 % pour l'ensemble de la cohorte. Parmi les 76 patients atteints de LMA et dont les données cytogénétiques avaient été obtenues, la RT-PCR a permis de détecter des translocations cryptiques (KMT2A-MLLT3 : 2; KMT2A-MLLT4 : 1; PML-RARA : 1) parmi les 4 patients initialement classés à caryotype normal. Par ailleurs, la RT-PCR n'a pas détecté la présence de translocation pourtant révélée par l'analyse cytogénétique chez 3 patients atteints de LMA (3,9 % de faux négatifs) dont un avec la translocation t(11;19) KMT2A-ELL incluse dans le panel proposé par le centre demandeur. Les auteurs concluent que bien que la détection des translocations cryptiques par RT-PCR permet d'obtenir des informations génétiques supplémentaires, cette méthode ne peut pas remplacer totalement l'analyse cytogénétique classique.

Une étude de cas a par ailleurs mis en évidence la présence de la translocation KMT2A-MLLT10 par RT-PCR chez un patient âgé de 17 ans [Ko *et al.*, 2015]. Cette translocation, détectée au moyen de la trousse HemaVision^{MC} (RT-PCR multiplex), n'avait pas été détectée par l'analyse cytogénétique classique ni par FISH. À la lumière de ce résultat, les auteurs soulignent l'utilité de la RT-PCR pour la détection de réarrangements cryptiques du gène *MLL* non détectés par FISH.

La détection de la translocation t(5;11) NUP98-NSD1 par RT-PCR a été rapportée par Hollink et ses collaborateurs [2011] dans une cohorte de 293 patients pédiatriques atteints de LMA dont 62 avaient un caryotype normal. Cette translocation cryptique, détectée par RT-PCR chez 13 (4,4 %) patients dont 10 avec caryotype normal, n'avait pas été détectée par l'analyse cytogénétique classique. Ces auteurs affirment également que l'utilisation de techniques moléculaires supplémentaires dans le but de repérer les patients porteurs de cette translocation au moment du diagnostic est justifiée.

De Rooij et ses collaborateurs [2016] ont rapporté la fréquence de détection des trois translocations associées à la LMCA incluses dans le panel proposé par le centre demandeur (NUP98-KDM5A, CBFA2T3-GLIS2 et RBM15-MKL1). Au total, les RT-PCR spécifiques à ces 3 translocations ont été réalisées sur 153 patients de la cohorte. L'analyse cytogénétique,

²⁶ LAPM : leucémie aiguë à phénotype mixte.

rendue difficile en raison de la myélofibrose fréquemment associée à la LMCA, a pu être réalisée pour 119 cas (77,7 %). Le caryotype n'a pas permis de révéler les translocations cryptiques CBFA2T3-GLIS2 et NUP98-KDM5A, pour 24 et 14 patients respectivement. Parmi ces 38 patients, 10 n'avaient pas de résultats de caryotype (échantillon insuffisant) et les 28 autres n'avaient pas de translocation perceptible par l'analyse du caryotype. Par RT-PCR, il a été possible de détecter ces translocations et de classer ces 38 patients dans la catégorie de risque intermédiaire. Les auteurs recommandent la détection de ces translocations, en combinaison avec l'analyse cytogénétique classique, chez les patients atteints de LMCA afin d'améliorer la stratification du risque et de moduler l'intensité du traitement en fonction des caractéristiques du clone leucémique en cause.

Tableau 10 Détection des translocations cryptiques par RT-PCR

ÉTUDE	PATIENTS	TRANSLOCATIONS RECHERCHÉES	FRÉQUENCE DE DÉTECTION N (%)		CONCORDANCE (%)	FAUX NÉGATIF RT-PCR (%)
			CYTOG.	RT-PCR		
Cho <i>et al.</i> , 2012	77	15 translocations dont 6 du panel du centre demandeur : KMT2A-MLLT4 KMT2A-MLLT3 KMT2A-MLLT10 KMT2A-ELL KMT2A-MLLT1(ENL) DEK-NUP214	34 (44,7) N = 76	35 (45,5) N = 77	69/76 (90,8)*	3/76 (3,9)*
Ko <i>et al.</i> , 2015	1	KMT2A-MLLT10	TND	TD	s.o.	s.o.
Hollink <i>et al.</i> , 2011	293	NUP98-NSD1	TND	13 (4,4)	n.d.	n.d.
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153	NUP98-KDM5A CBFA2T3-GLIS2 RBM15-MKL1	TND N = 119	38 (24,8) †	n.d.	n.d.

Abréviations : Cytog. : analyse cytogénétique; TD : translocation détectée; N : nombre de patients; TND : translocation non détectée; n.d. : donnée non disponible; RT-PCR : transcription inverse et réaction en chaîne par polymérase; s.o.: sans objet.

* Le taux de concordance entre les analyses cytogénétiques et la RT-PCR ainsi que le pourcentage de faux négatifs prennent en compte les 15 translocations recherchées par la trousse HemaVision^{MC} et non seulement les 6 translocations incluses dans le panel proposé par le centre demandeur.

† Par RT-PCR, les translocations cryptiques CBFA2T3-GLIS2 et NUP98-KDM5A ont été détectées chez 38 patients : CBFA2T3-GLIS2 (24) et NUP98-KDM5A (14).

4.5 Données fournies par le demandeur

Résultats de validation de la RT-PCR nichée pour les 14 translocations du panel proposé par le centre demandeur

Les résultats de validation présentés à l'annexe B montrent les différents points de fusion connus et publiés ou mis en évidence chez les patients²⁷. Chaque translocation a été validée

²⁷ Information transmise par Virginie Dormoy-Raclet, Ph.D. (CHU Sainte-Justine), communication électronique du 22 juin 2016.

en présence d'un échantillon témoin normal (négatif), d'un échantillon témoin positif²⁸ et dans certains cas d'un échantillon provenant d'un prélèvement effectué chez un patient qui avait la translocation à valider.

Aucune photo du gel de la réaction RT-PCR n'est disponible pour la translocation t(1;11) KMT2A-EPS15 en raison de l'absence d'échantillon témoin positif pour analyser cette translocation. Les amorces qui ont été utilisées sont celles publiées dans l'étude de Pallisgaard et ses collaborateurs [1998]²⁹.

Résultats d'analyse par RT-PCR nichée des translocations de 5 patients atteints de LMA

Pour chacun des 5 patients énumérés ci-dessous, sont présentés à l'annexe C les résultats de la RT-PCR nichée de l'analyse cytogénétique (caryotype) et du séquençage du point de fusion des gènes impliqués dans la translocation détectée. Pour chacun de ces patients, le caryotype n'a pas permis de déceler la translocation détectée par RT-PCR nichée.

- Patients 1 et 2 : t(11;12) NUP98-KDM5A
- Patient 3 : inv(16) CBFA2T3-GLIS2
- Patient 4 : t(11;17) KMT2A-LASP1
- Patient 5 : t(10;11) PICALM-MLLT10

Résultats d'analyse par RT-PCR nichée pour l'ensemble des patients évalués depuis 2013

La recherche de translocations a été effectuée chez les patients lors du diagnostic ou lors du suivi d'une translocation détectée au diagnostic (tableau 11). Selon le demandeur :

- Toutes les translocations associées aux leucémies mégacaryoblastiques (translocations cryptiques) étaient négatives en cytogénétique, mais positives en RT-PCR.
- Les translocations impliquant le gène *MLL* ont été détectées par RT-PCR dans tous les cas où le partenaire de fusion n'était pas identifié par FISH.
- Aucun faux négatif n'a été obtenu par RT-PCR, toutes les translocations cryptiques ont été détectées par RT-PCR.

²⁸ L'échantillon témoin positif est constitué d'une lignée cellulaire transfectée avec un plasmide exprimant l'ADNc de la translocation à valider.

²⁹ Information transmise par Virginie Dormoy-Raclet, Ph.D. (CHU Sainte-Justine), communication électronique du 17 août 2016.

Tableau 11 Résultats d'analyse RT-PCR pour chaque translocation

PANEL	TRANSLOCATION	FUSION (ALIAS)	ANNÉE	PATIENTS NÉGATIFS	PATIENTS POSITIFS
MLL (KMT2A)	t(1;11)(q21;q23)	KMT2A-MLLT11 (AF1Q)	2013	3	7
			2014	2	8
			2015	4	3
	t(1;11)(p32;q23)	KMT2A-EPS15 (AF1P)	n.d. *	n.d. *	n.d. *
	t(11;17)(q23;q12-21)	KMT2A-LASP1	2015-2016	6	7
	t(11;19)(q23;p13.1)	KMT2A-ELL	2015	3	2
			2016	2	0
	t(11;19)(q23;p13.3)	KMT2A-MLLT1 (ENL)	2015	3	6
			2016	3	0
	t(6;11)(q27;q23)	KMT2A-MLLT4 (AF6)	2014	1	3
			2015	5	0
			2016	1	0
	t(9;11)(p22;q23)	KMT2A-MLLT3 (AF9)	2015	13	2
			2016	7	0
	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A-MLLT10 (AF10)	2015	9	5
			2016	3	6
non MLL	t(5;11)(q35;p15.5)	NUP98-NSD1	n.d. *	n.d. *	n.d. *
	t(6;9)(p23;q34)	DEK-NUP214	2015	4	0
			2016	1	0
	t(10;11)(p13;q14-21)	PICALM-MLLT10	2015-2016	9	2
LMCA	t(11;12)(p15;p13)	NUP98-KDM5A	2014	0	8
			2015	0	1
	t(1;22)(p13;q13)	RBM15-MKL1	2016	5	4
	inv(16)(p13.3;q24.3)	CBFA2T3-GLIS2	2015	5	3
			2016	4	0

Abréviation : n.d. : donnée non disponible

Total : 93

67

* Pour les translocations t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P) et t(5;11) NUP98-NSD1, aucun cas présentant ces translocations n'a été diagnostiqué jusqu'à maintenant.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës (LMA) pédiatriques. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 12 et repose principalement sur l'algorithme présenté à la figure 1 ainsi que sur les hypothèses suivantes :

- Selon le demandeur, il y aurait 15 à 20 nouveaux cas de LMA pédiatrique annuellement au Québec.
- Basé sur les données 2015-16 soumises par celui-ci (tableau 11), parmi ces nouveaux cas 70 % seraient testés pour les translocations impliquant le gène *MLL* (KMT2A), 13 % pour les translocations n'impliquant pas le gène *MLL* (non *MLL*) et 17 % pour les translocations associées à la LMCA.
- Le pourcentage de cas positifs découlant de ces analyses serait de 34 % parmi les patients testés pour les translocations *MLL* (KMT2A), 13 % parmi ceux testés pour les translocations non *MLL* et 73 % parmi ceux testés pour les translocations associées à la LMCA. Cela correspond respectivement à 5, 6 et 7 cas positifs pour chacune des 3 prochaines années advenant l'ajout du test au *Répertoire*.
- Selon le demandeur, ces patients positifs pour l'une des 14 translocations testés doivent être suivis 5 à 10 fois par année.
- Les analyses prévues par le demandeur représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.
- Aucune analyse n'a été envoyée hors Québec en 2014-2015.
- Les valeurs pondérées (VP) proposées par le demandeur sont de 143,68; 181,59 et 319,36 pour l'analyse respective de 1, 3 et 8 translocations.
- Selon les experts consultés, aucun autre coût n'est à considérer, outre ceux liés à l'ajout potentiel de cette analyse au *Répertoire* puisque cette dernière ne modifie pas significativement la prise en charge des patients pédiatriques atteints de LMA.

Figure 1 Algorithme présentant les analyses effectuées pour la détection de 14 translocations à pronostic défavorable chez les patients atteints de leucémie myéloïde aiguë pédiatrique ainsi que celles réalisées pour en assurer le suivi.

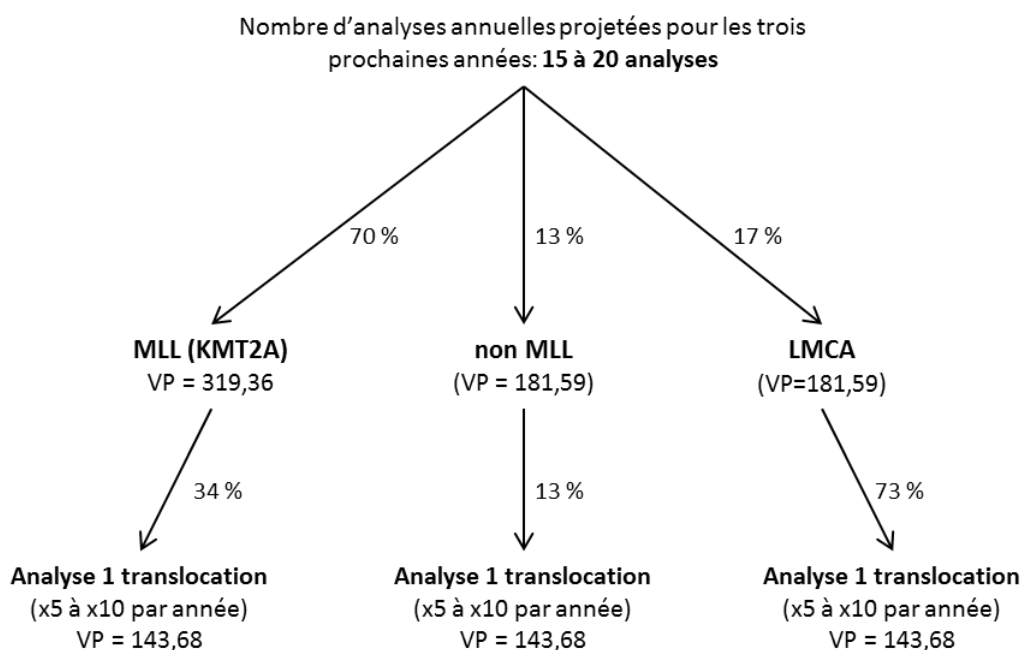


Tableau 12 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre de cas LMA pédiatrique	15	18	20	53
Nombre d'analyses				
MLL (KMT2A)	11	13	14	38
non MLL	2	2	3	7
LMCA	2	3	3	8
Coût en analyses	4 239 \$	5 060 \$	5 561 \$	14 860\$
Nombre de cas LMA pédiatrique positifs en suivi	5	6	7	18
Nombre d'analyses de suivi	25 à 50	30 à 60	35 à 70	90 à 180
Coût en analyse de suivi	3 592 \$ à 7 184 \$	4 310 \$ à 8 621 \$	5 029 \$ à 10 058 \$	12 931 \$ à 25 863 \$
Coûts totaux si introduction de l'analyse	7 831 \$ à 11 243 \$	9 370 \$ à 13 681\$	10 590 \$ à 15 619 \$	27 791 \$ à 40 543 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, il est estimé que les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse permettant la détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques au *Répertoire* pourraient varier de 27 791 \$ à 40 543 \$ au total pour les trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Environ 30 % des patients pédiatriques atteints de LMA vont subir une récurrence, tandis que 5 % à 10 % des patients vont décéder à la suite de complications de la maladie ou des effets secondaires du traitement. Ainsi, un traitement ciblé peut améliorer l'efficacité antileucémique et minimiser la mortalité et la morbidité liées au traitement [De Rooij *et al.*, 2015].

De plus, chez les patients pédiatriques atteints d'une LMA, la détection de translocations chromosomiques associées à un risque élevé de récurrence ou à une mauvaise réponse aux traitements permettrait d'éviter des souffrances inutiles découlant d'un traitement de chimiothérapie parfois inefficace et de donner accès à une greffe de cellules souches en première intention³⁰.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Un groupe d'experts du comité LMA de l'International BFM Study Group [Creutzig *et al.*, 2012] recommande que l'évaluation de routine des patients atteints de LMA devrait inclure minimalement les gènes de fusion suivants : RUNX1-RUNX1T1, CBFβ-MYH11, PML-PARA et les réarrangements du gène *MLL*. La recherche de certains gènes de fusion rares devrait aussi être réalisée afin de repérer les patients à risque défavorable. Parmi ces gènes de fusion, on mentionne entre autres t(6;9) DEK-NUP214, t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;11) MLL-MLLT4 et t(10;11) MLL-MLLT10 qui sont inclus dans le panel proposé par le centre demandeur [Creutzig *et al.*, 2012].

Les LMA avec t(6;9) DEK-NUP214, t(1;22) RBM15-MKL1 et t(9;11) KMT2A-MLLT3 sont des entités reconnues dans la classification de l'OMS 2016 [Arber *et al.*, 2016].

³⁰ Informations transmises par le demandeur (Dre Sonia Cellot, CHU Ste-Justine), communication téléphonique du 15 juillet 2016.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La recherche de translocations à pronostic défavorable par RT-PCR chez les patients pédiatriques atteints de LMA permettrait de préciser le diagnostic de LMA et d'effectuer la stratification pronostique initiale des patients afin d'offrir un traitement adapté au risque de récurrence. Les 14 translocations proposées ne seront pas analysées de front, mais en sous-groupe selon les résultats de cytologie, des analyses cytogénétiques préliminaires et le tableau clinique.

Valeur pronostique :

Parmi les 14 translocations visées par l'analyse proposée, 3 translocations sont des entités reconnues par l'OMS pour la LMA, soit : t(9;11), t(6;9) et t(1;22) (tableau 13).

Tableau 13 Résumé de l'état des connaissances sur les 14 translocations du panel proposé pour les LMA pédiatriques

	TRANSLOCATIONS	IMPACT PRONOSTIQUE	PARTICULARITÉS
MLL	t(6;11) KMT2A-MLLT4	Indicateurs indépendants de pronostic défavorable (analyse multivariée)	s.o.
	t(10;11) KMT2A-MLLT10		
	t(11;19) KMT2A-MLLT1 (ENL)	Aucun impact pronostique significatif	s.o.
	t(11;19) KMT2A-ELL		
	t(11;17) KMT2A-LASP1		
	t(9;11) KMT2A-MLLT3 *	Pas de consensus (2 études pronostiques favorables, 3 études sans impact significatif)	- Impact favorable FAB-M5 - Impact défavorable anomalies génétiques supplémentaires.
	t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P)	Impact pronostique incertain	Peu documenté
	t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)		
Non-MLL	t(5;11) NUP98-NSD1	Impact défavorable	Impact pronostique de la t(5;11) lié à la présence concomitante de FLT3-ITD
	t(6;9) DEK-NUP214 *	Impact défavorable	Présence concomitante fréquente FLT3-ITD, sans impact pronostique
	t(10;11) PICALM-MLLT10	Impact défavorable mais non significatif	Peu documenté
LMCA	t(11;12) NUP98-KDM5A	Indicateurs indépendants de pronostic défavorable (analyse multivariée)	s.o.
	inv(16) CBFA2T3-GLIS2		
	t(1;22) RBM15-MKL1 *	Non confirmé comme indicateur pronostique indépendant	Pronostic plus favorable que la t(11;12) et l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2

Abréviations : LMCA : leucémie mégacaryoblastique aiguë; s.o. : sans objet

* Entité LMA reconnue par l'OMS [Arber *et al.*, 2016]

Valeur thérapeutique :

Concernant les translocations impliquant le gène *MLL*, une excellente réponse au traitement est généralement observée. Cette perspective pronostique favorable est toutefois assombrie par un taux de récurrence pouvant varier de 4 % à 71 % selon le gène partenaire impliqué dans la translocation. Les translocations t(5;11) et t(6;9) sont associées à un bon taux de rémission complète, mais également à un taux élevé de récurrence. Concernant les trois translocations caractéristiques de la LMCA, une analyse rétrospective récente n'a pas permis de démontrer une influence favorable de la greffe de moelle osseuse sur le pronostic.

L'incidence cumulative de récurrence associée à la majorité des 14 translocations du panel proposé est élevée, plus particulièrement pour les translocations t(5;11), t(6;9) et t(10;11) PICALM-MLLT10. Par ailleurs, la t(1;22) RMB15-MKL1 et la t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q) ont été associées à une incidence cumulative de récurrence inférieure à 10 %.

Validité analytique :

Les études retenues ont montré que la détection des translocations cryptiques par RT-PCR permet d'obtenir des informations génétiques supplémentaires, particulièrement lorsque ces translocations n'ont pas été détectées par l'analyse cytogénétique. Toutefois, la RT-PCR ne peut pas remplacer totalement l'analyse cytogénétique classique.

Les données de validation analytique fournies par le demandeur ont montré que la RT-PCR a permis de détecter des translocations cryptiques non détectables par le caryotype.

Recommandations d'organisations en lien avec l'analyse proposée

Un groupe d'experts du comité LMA de l'International BFM Study Group recommande l'analyse des réarrangements du gène *MLL* et, entre autres, la recherche des translocations t(6;9) DEK-NUP214, t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;11) MLL-MLLT4 et t(10;11) MLL-MLLT10.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques.

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

- ✓ Les membres du comité reconnaissent la valeur du test et l'utilité clinique de certaines translocations incluses dans l'analyse au regard des données cliniques publiées et présentées en appui. Toutefois, l'utilité de certaines autres translocations devrait être davantage supportée par la littérature scientifique.
- ✓ Bien que la technique soit fiable et bien établie, la faible quantité de données concernant la validation analytique d'un test développé par le laboratoire a été soulevée par les experts du CSABM, et ce, même si les membres reconnaissent la rareté de la condition.

ANNEXE A

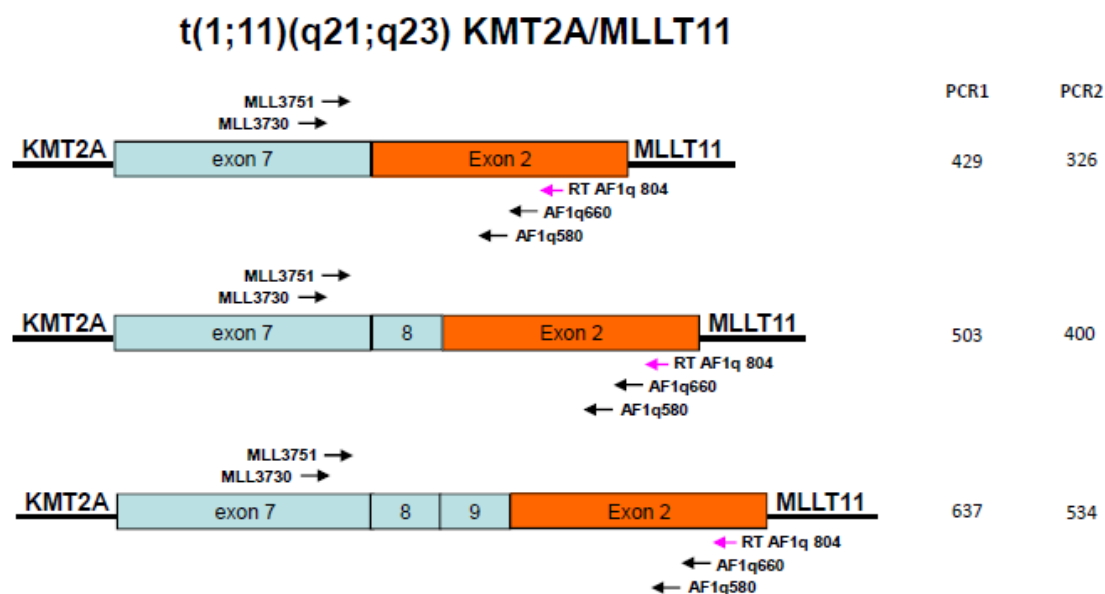
Lignées cellulaires utilisées comme témoins internes lors de la recherche des translocations.

Mégacaryoblastiques	
t(11;12) NUP98-JARID1A(KDM5a) (M7)	Cellules transfectées avec cDNA
Inv16 CBFA2T3-GLIS2 (M7)	M-07e (ACC104)
t(1;22) RBM15-MKL1 (M7)	Cellules transfectées avec cDNA
MLL	
t(1;11)	X
t(4;11)	RS4:11 (CRL-1873)
t(6;11)	ML-2 (ACC15)
t(9;11)	Mono-Mac 1 (ACC252)
t(10;11) MLL-MLLT10	X
t(11;19) ELL	
t(11;19) ENL	KOPN-8 (ACC552)
Autres translocations	
t(6;9)	FKH-1 (ACC614)
t(5;11) NUP98-NSD1	H293 transfectée avec pSC-133
t(10;11) PICALM-MLLT10	U937
t(11;17) MLL-LASP1	X

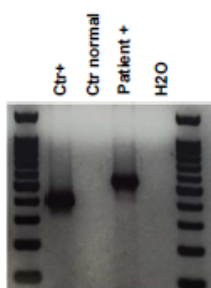
ANNEXE B

Résultats de validation de la RT-PCR nichée pour les 14 translocations du panel proposé par le centre demandeur.

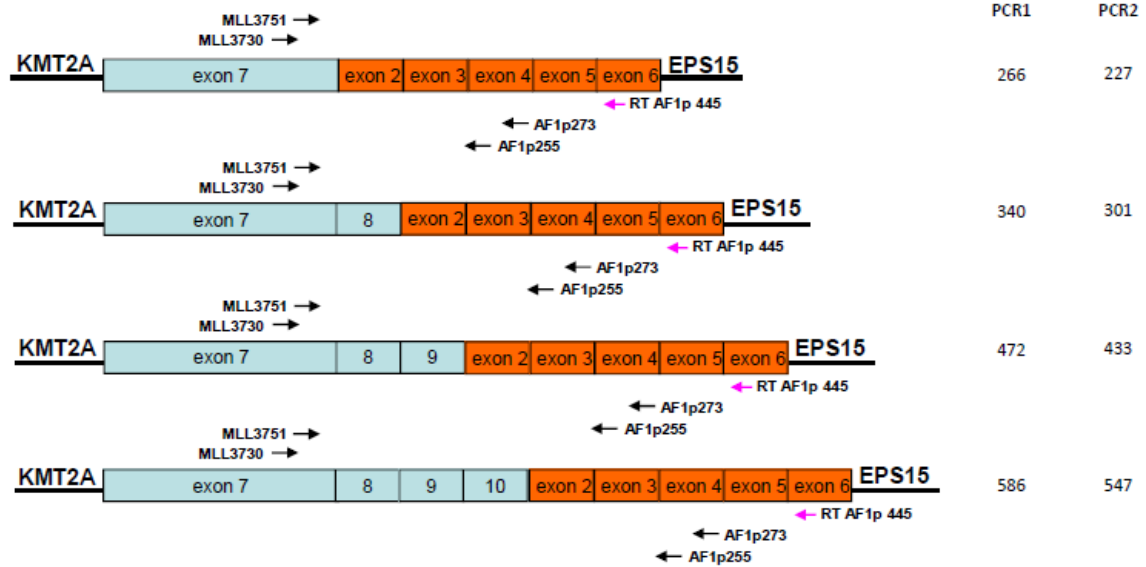
1. Translocations du panel MLL (8)



Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A(MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT11(AF1Q): NM_006818.3

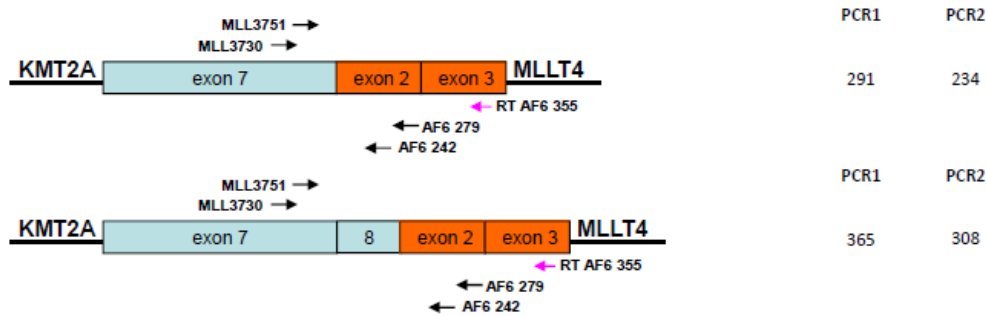


t(1;11)(p32;q23) KMT2A/ESP15

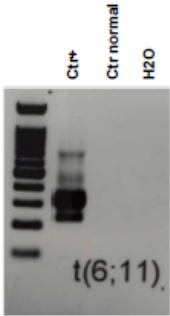


Date: 2015-08-20, RefSeq. KMT2A(MLL): NM_001197104.1, RefSeq. ESP15(AF1P): NM_001981

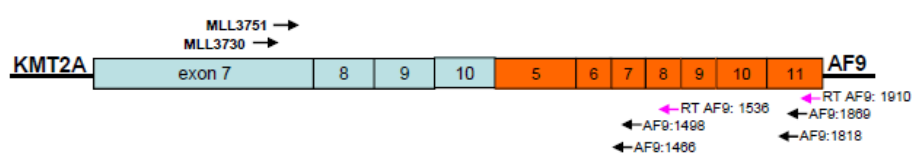
t(6;11)(q27;q23) KMT2A/MLLT4



Date: 2015-08-20, RefSeq. KMT2A(MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT4(AF6): NM_001040000.2

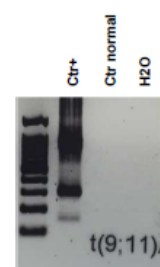
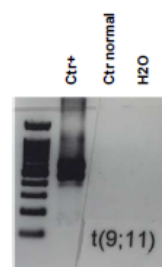


t(9;11)(p22;q23) KMT2A-MLLT3



	PCR1	PCR2
Mix A	1694	1622
Mix t(9;11)	1321	1272

	Mix A		Mix t(9;11)	
MLLex7/MLLT3ex5	1374	1302	1001	952
MLLex7/MLLT3ex6	668	596	296	247
MLLex7/MLLT3ex7	593	521	220	171
MLLex7/MLLT3ex9	363	291	x	x
MLLex7/MLLT3ex10	291	219	x	x
MLLex8/MLLT3ex5	1448	1376	1047	1026
MLLex8/MLLT3ex6	742	670	342	321
MLLex8/MLLT3ex7	667	595	266	245
MLLex8/MLLT3ex9	437	365	x	x
MLLex8/MLLT3ex10	365	293	x	x
MLLex9/MLLT3ex5	1580	1508	1207	1158
MLLex9/MLLT3ex6	874	802	502	453
MLLex9/MLLT3ex7	799	727	426	377
MLLex9/MLLT3ex9	569	497	x	x
MLLex9/MLLT3ex10	497	425	x	x
MLLex10/MLLT3ex5	1694	1622	1321	1272
MLLex10/MLLT3ex6	988	916	616	567
MLLex10/MLLT3ex7	913	841	540	491
MLLex10/MLLT3ex9	683	611	x	x
MLLex10/MLLT3ex10	611	539	x	x

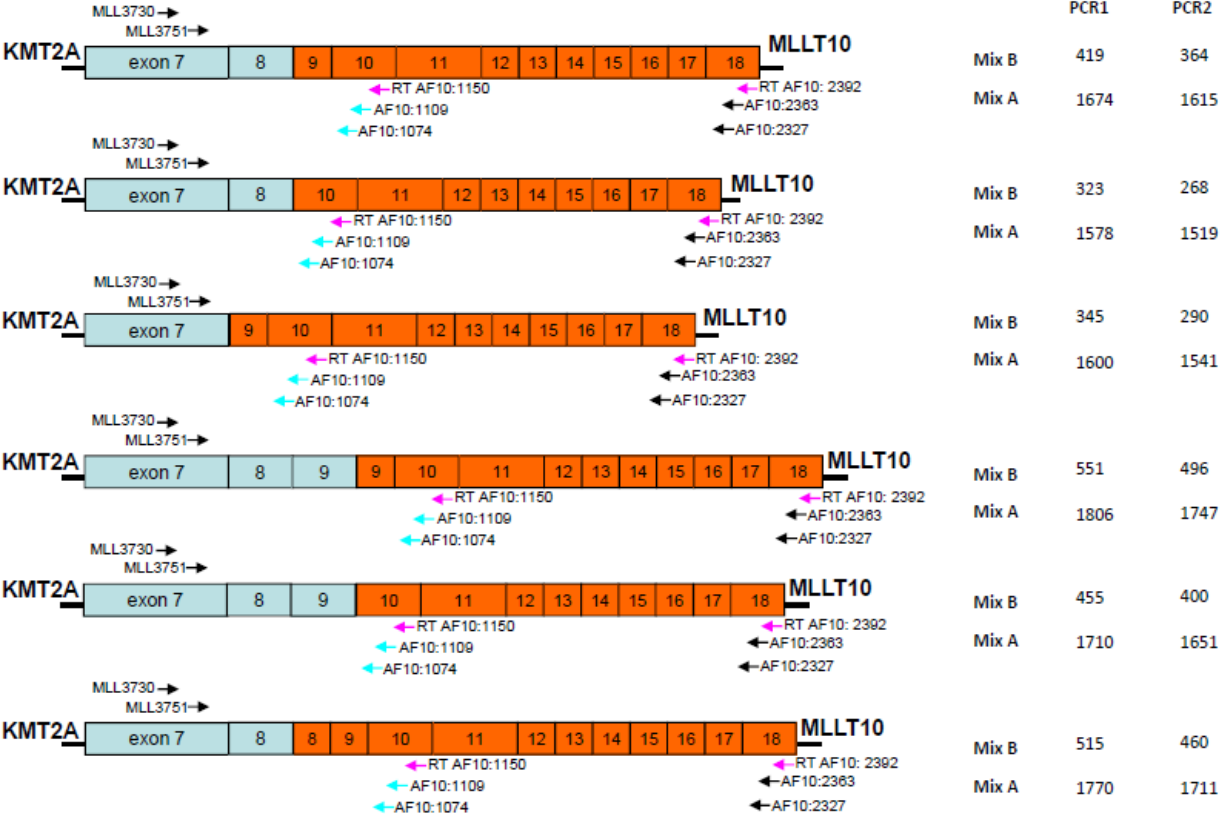


5

Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT3 (AF9): NM_004529.3

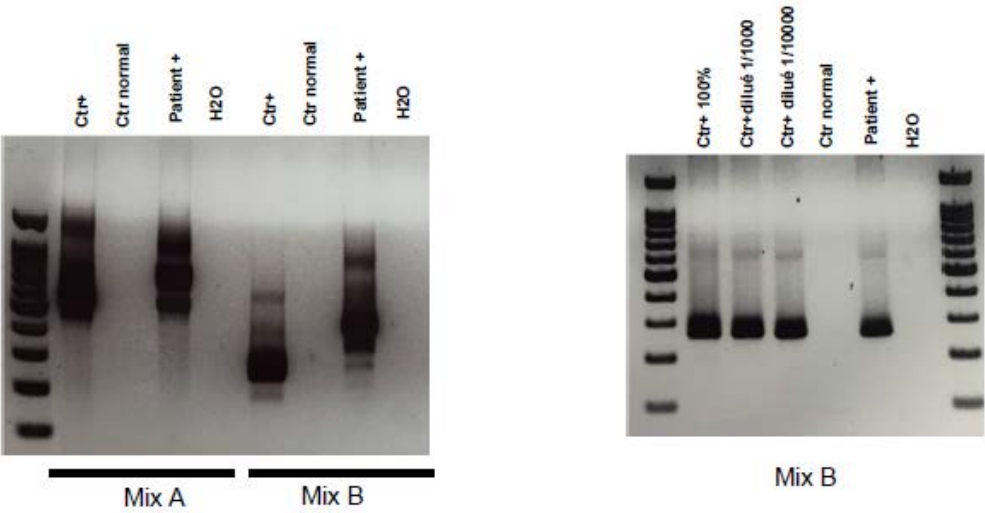
t(10;11)(p12;q23) KMT2A-MLLT10

Fusions pédiatriques

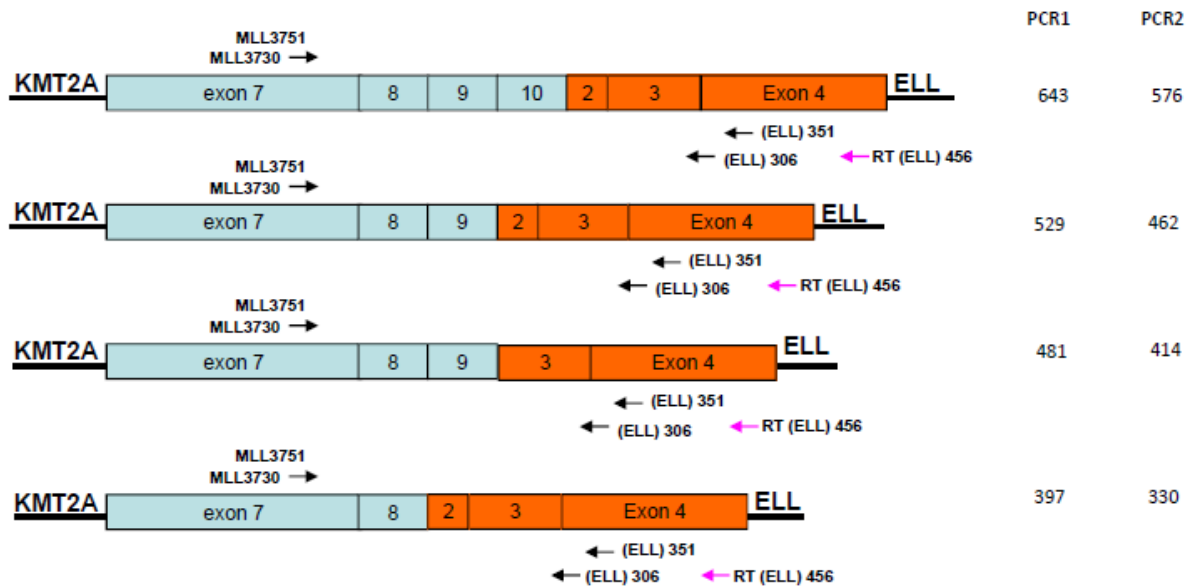


6

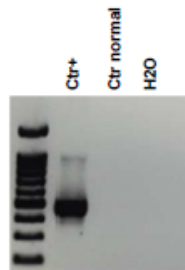
Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT10 (AF10): NM_004641.3



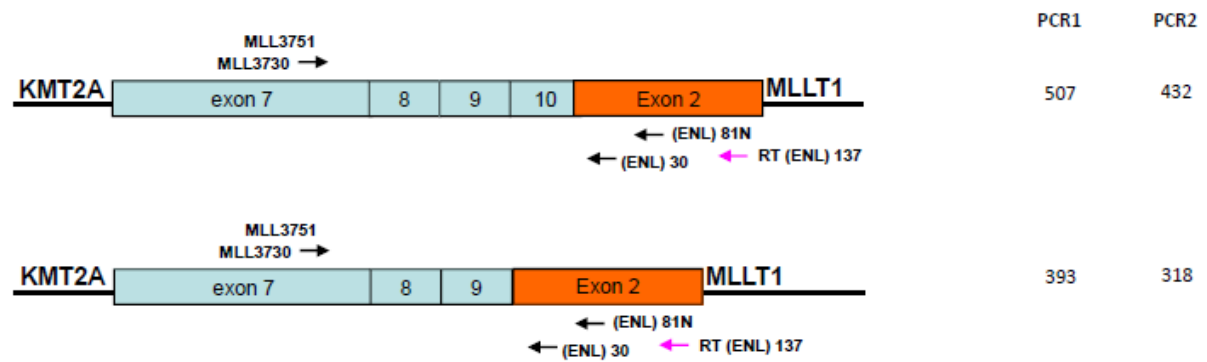
t(11;19) (q23;p13.1) KMT2A-ELL



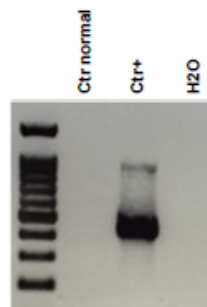
Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. ELL: NM_006532.3



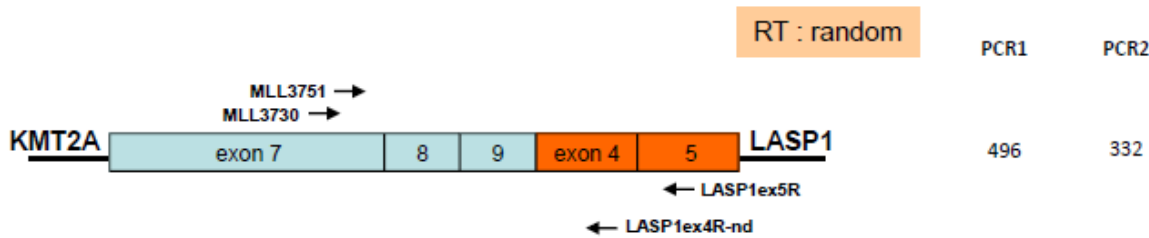
t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-MLLT1 (ENL)



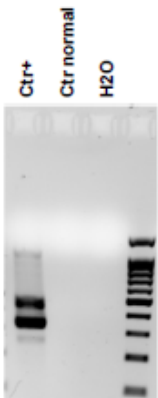
Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT1 (ENL): NM_005934.3



t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A/LASP1

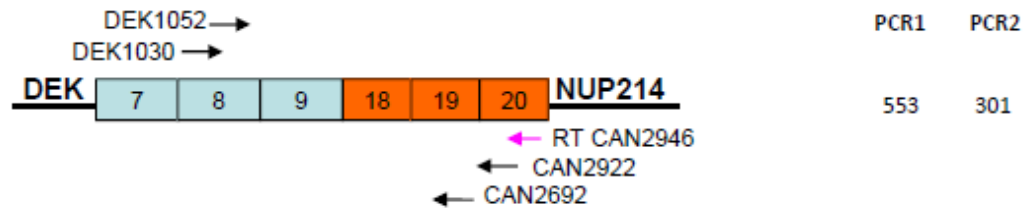


Date: 2015-08-21, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. LASP1: NM_006148.3

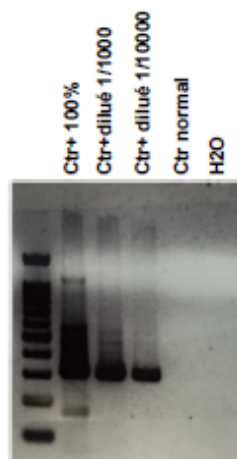


2. Translocations du panel LMA n'impliquant pas le gène *MLL* (3)

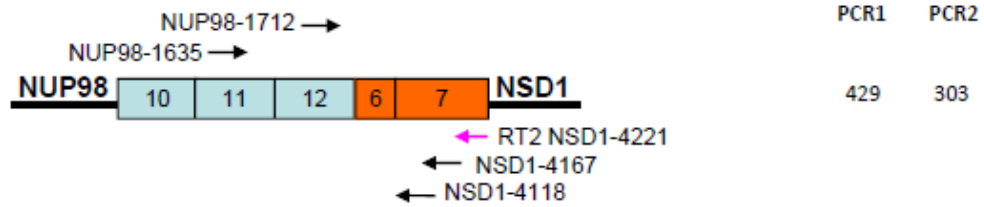
t(6;9)(p23;q34) DEK/NUP214



Date: 2014.02, RefSeq. DEK: NM_003472.3 , RefSeq. NUP214: NM_005085.3



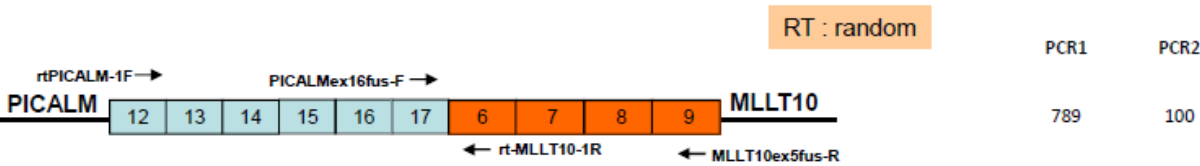
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98/NSD1



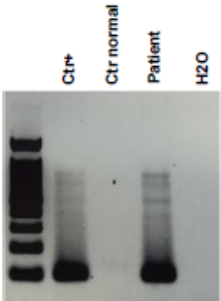
Date: 2014.02, RefSeq. NUP98: NM_016320.4 , RefSeq. NSD1: NM_022455.4



t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10

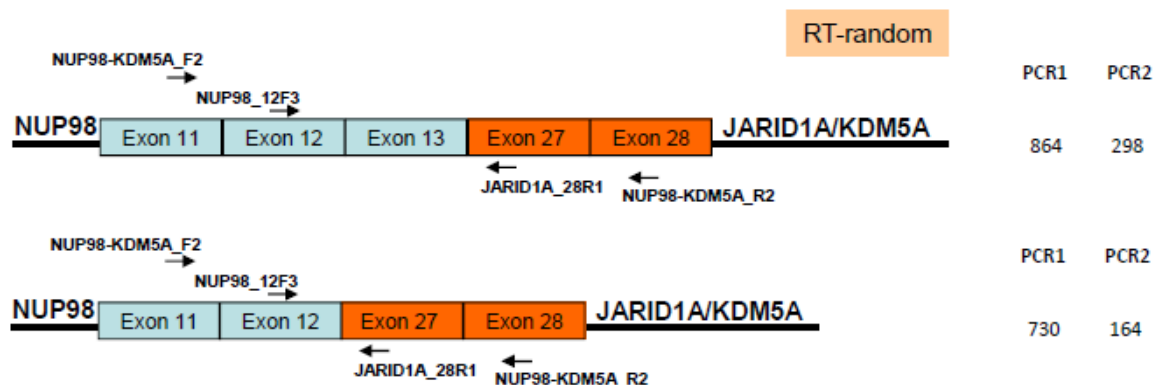


Date: 2015-12-02, RefSeq. PICALM : NM_007166, RefSeq. MLLT10 : NM_004641

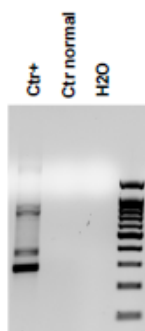


3. Translocations du panel leucémies mégacaryoblastiques (3)

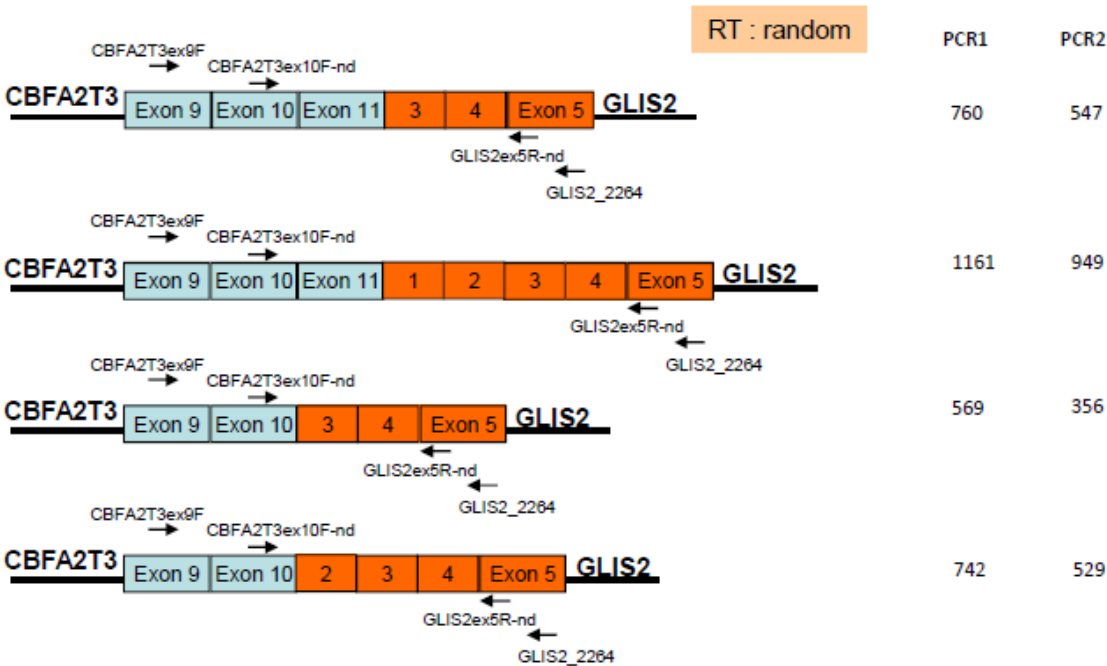
t(11;12)(p15;p13) NUP98/KDM5A M7



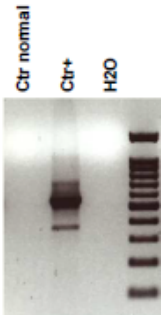
Date: 2015-10-21, RefSeq. NUP98: NM_016320.4 RefSeq. JARID1A/KDM5A: NM_001042603.2



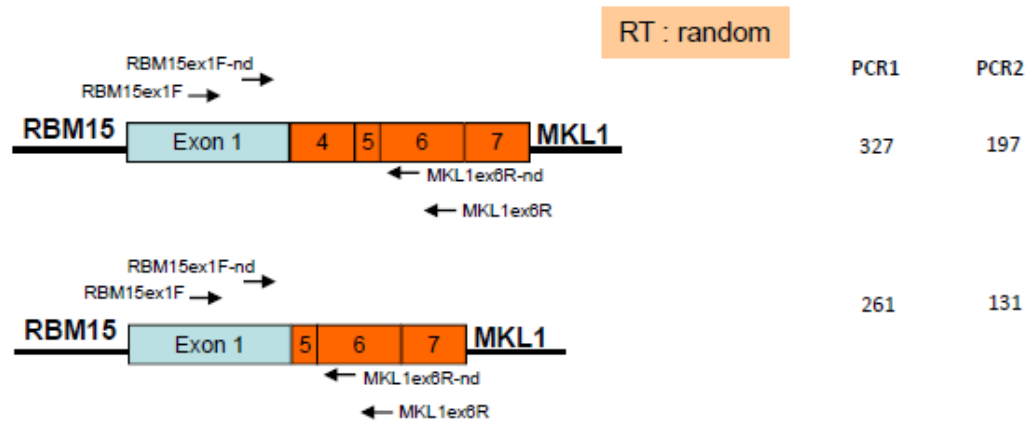
Inv(16) (p13.3;q24.3) CBFA2T3/GLIS2 M7



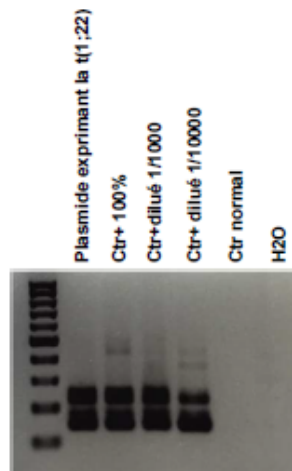
Date: 2015-08-21, RefSeq. CBFA2T3: NM_005187.5 RefSeq. GLIS2: NM_032575.2



t(1;22)(p13;q13) RBM15/MKL1 M7



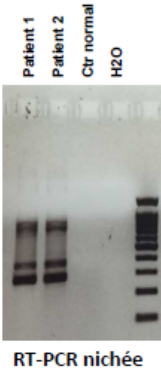
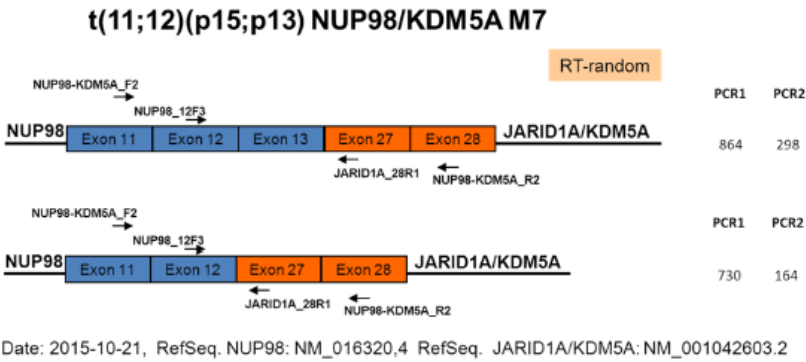
Date: 2015-02-09, RefSeq. OTT=RBM15=NM_022768.4 MAL=MKL1=NM_020831.4



ANNEXE C

Résultats d'analyse des translocations de 5 patients atteints de LMA.

Patients 1 et 2 : t(11;12) NUP98/KDM5A

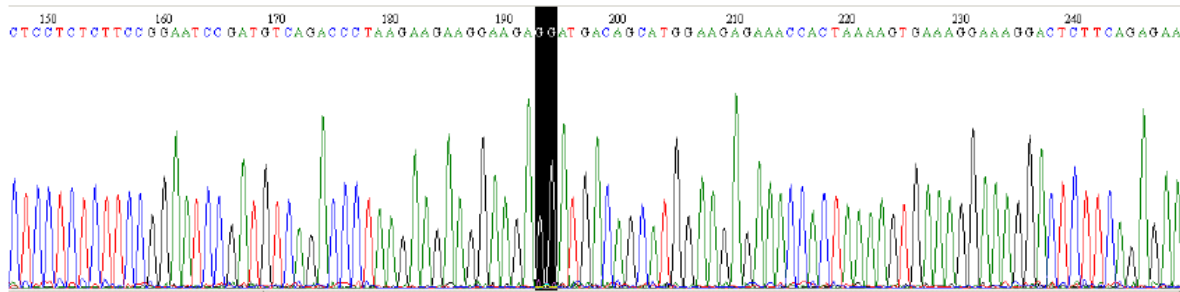


CARYOTYPE	
Patient 1	Patient 2
48,XY,t(6;13)(p21;q14),+der(6)t(6;13),+21[25]	46, XX, t(1;12)(p32;p1?2), t(11;16)(q11;q24), add(19)(p13?3),?add(21)(q11.2)[cp4]/46,XY[46]

Translocation t(11;12) non identifiée au caryotype

Patients 1 et 2 : t(11;12) NUP98/KDM5A, suite

Séquençage patient 1



Résultats de transcriptome patients 1 et 2

Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 1	NUP98	chr11	KDM5A	chr12	280
Patient 2	NUP98	chr11	KDM5A	chr12	101

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 1	ACTCTCTCTCTCCGGAATCCGATGTCAGACCCTAAGAAGAAGGAAGAG	GATGACAGCATGGAAGAGAAACCACTAAAAGTGAAGGAAAGGACTCTTC
Patient 2	ACTCTCTCTCTCCGGAATCCGATGTCAGACCCTAAGAAGAAGGAAGAG	GATGACAGCATGGAAGAGAAACCACTAAAAGTGAAGGAAAGGACTCTTC

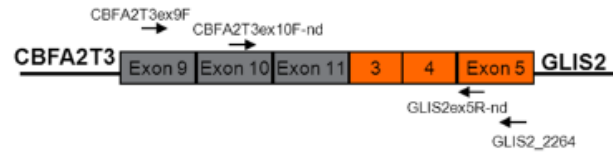


Séquençage du point de fusion

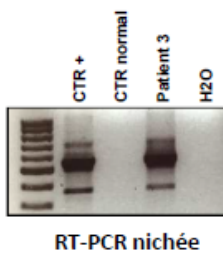
2

Patient 3 : INV16 CBFA2T3/GLIS2

Inv(16) (p13.3;q24.3) CBFA2T3/GLIS2 M7



Date: 2015-08-21, RefSeq. CBFA2T3: NM_005187.5 RefSeq. GLIS2: NM_032575.2



CARYOTYPE

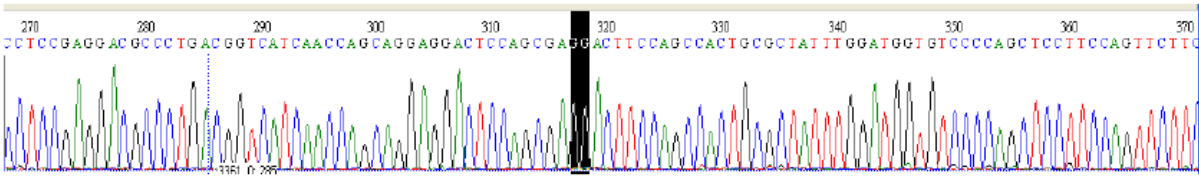
Patient 3

46,XY,t(1;16)(q21;p11.2).ish
t(1;16)(ABL2-;ABL2+,CBFB+)[22]

➡ Translocation INV16 non
identifiée au caryotype

Patient 3 : INV16 CBFA2T3/GLIS2, suite

Séquençage patient 3



Résultats de transcriptome patient 3

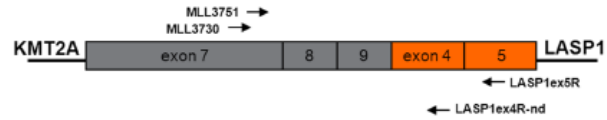
Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 3	CBFA2T3	chr16	GLIS2	chr16	83

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 3	CCTCCGAGGACGCCCTGACGGTCATCAACCAGCAGGAGGACTCCAGCGAG	GACTTCAGCCACTGCGCTATTTGGATGGTGTCCCCAGCTCCTTCAGTT


 Séquençage du point de fusion

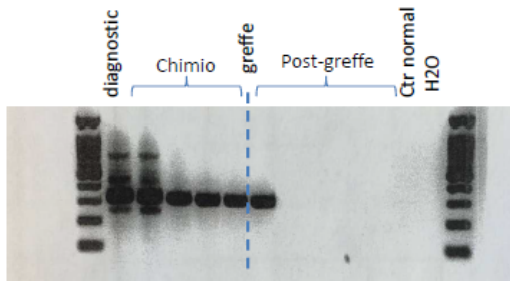
Patient 4 : t(11;17) KMT2A/LASP1

t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A/LASP1



Date: 2015-08-21, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. LASP1: NM_006148.3

Patient 4



RT-PCR nichée

CARYOTYPE

Patient 4

nuc ish(MLLx2)(5'MLL sep
3'MLLx1)[40/200],(TP53, D17Z1)x2[200]

➡ Translocation t(11;17) non
identifiée au caryotype

Patient 4 : t(11;17) KMT2A/LASP1, suite

Résultats de transcriptome patient 4

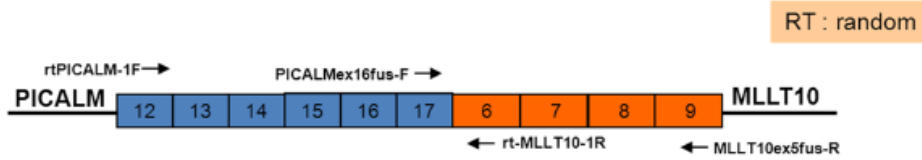
Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 4	MLL	chr11	LASP1	chr17	122

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 4	AGCAAAAAATTCCAGCAGATGGAGTCCACAGGATCAGAGTGGACTTTAAG	GTGCGCTACAAGGAGGAGTTTGAGAAGAACAAGGGCAAAGGTTTCAGCGT

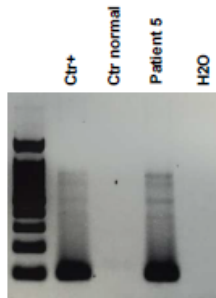
 Séquençage du point de fusion

Patient 5 : t(10;11) PICALM/MLLT10

t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10



Date: 2015-12-02, RefSeq. PICALM : NM_007166, RefSeq. MLLT10 : NM_004641



CARYOTYPE

Patient 5

46,XX,del(10)(p?11.2p?15)[3]/46,XX,ins(10;?)(p1?2;?)[2]/46,XX[26].ish ins(10;11)(p1?2;q13q2?3)(10pTEL006+, MLL+,D10S2290+)

↳ Translocation t(10;11) non identifiée au caryotype

Patient 5 : t(10;11) PICALM/MLLT10, suite

Résultats de transcriptome patient 5

Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 5	PICALM	chr11	MLLT10	chr10	39

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 5	ACTGGCAACCAAGGTTGCACCAACAACCGCTTGGAATGCTGCAACAATG	ACTTGCTACATTTGTGATGAACAAGGAAGAGAAAGCAAAGCAGCCACTGG



Séquençage du point de fusion

RÉFÉRENCES

- Abildgaard L, Ommen HB, Lausen B, Hasle H, Nyvold CG. A novel RT-qPCR assay for quantification of the MLL-MLLT3 fusion transcript in acute myeloid leukaemia. *Eur J Haematol* 2013;91(5):394-8.
- Akiki S, Dyer SA, Grimwade D, Ivey A, Abou-Zeid N, Borrow J, et al. NUP98-NSD1 fusion in association with FLT3-ITD mutation identifies a prognostically relevant subgroup of pediatric acute myeloid leukemia patients suitable for monitoring by real time quantitative PCR. *Genes Chromosomes Cancer* 2013;52(11):1053-64.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-405.
- Balgobind BV, Hollink IH, Arentsen-Peters ST, Zimmermann M, Harbott J, Beverloo HB, et al. Integrative analysis of type-I and type-II aberrations underscores the genetic heterogeneity of pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2011;96(10):1478-87.
- Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, Zimmermann M, Alonzo TA, Auvrignon A, et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: Results of an international retrospective study. *Blood* 2009;114(12):2489-96.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103(4):620-5.
- Borel C, Dastugue N, Cances-Lauwers V, Mozziconacci MJ, Prebet T, Vey N, et al. PICALM-MLLT10 acute myeloid leukemia: A French cohort of 18 patients. *Leuk Res* 2012;36(11):1365-9.
- Borel C, Huynh A, Chaufour X, Lousteau O, Demur C, Delabesse E, et al. Uterine chloroma, aortic thrombus and CALM/AF10 acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2010;34(4):e88-90.
- Burmeister T, Molkentin M, Meyer C, Lachmann N, Schwartz S, Friedrichs B, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in two patients with MLL-rearranged acute myeloid leukemia and haploidentical transplantation after relapse. *Exp Hematol Oncol* 2012;1(1):6.
- Busson-Le Coniat M, Salomon-Nguyen F, Hillion J, Bernard OA, Berger R. MLL-AF1q fusion resulting from t(1;11) in acute leukemia. *Leukemia* 1999;13(2):302-6.
- Cerveira N, Correia C, Doria S, Bizarro S, Rocha P, Gomes P, et al. Frequency of NUP98-NSD1 fusion transcript in childhood acute myeloid leukaemia. *Leukemia* 2003;17(11):2244-7.
- Cerveira N, Lisboa S, Correia C, Bizarro S, Santos J, Torres L, et al. Genetic and clinical characterization of 45 acute leukemia patients with MLL gene rearrangements from a single institution. *Mol Oncol* 2012;6(5):553-64.
- Cho YU, Chi HS, Park CJ, Jang S, Seo EJ. Rapid detection of prognostically significant fusion transcripts in acute leukemia using simplified multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. *J Korean Med Sci* 2012;27(10):1155-61.

- Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: Recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012;120(16):3187-205.
- Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D, Dworzak M, Stary J, Lehnbecher T. Early deaths and treatment-related mortality in children undergoing therapy for acute myeloid leukemia: Analysis of the multicenter clinical trials AML-BFM 93 and AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2004;22(21):4384-93.
- De Rooij JD, Hollink IH, Arentsen-Peters ST, van Galen JF, Berna Beverloo H, Baruchel A, et al. NUP98/JARID1A is a novel recurrent abnormality in pediatric acute megakaryoblastic leukemia with a distinct HOX gene expression pattern. *Leukemia* 2013;27(12):2280-8.
- De Rooij JD, Masetti R, van den Heuvel-Eibrink MM, Cayuela JM, Trka J, Reinhardt D, et al. Recurrent genetic abnormalities can be used for risk-group stratification in pediatric AMKL: Results of a retrospective intergroup study. *Blood* 2016;127(26):3424-30.
- De Rooij JD, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink M. Pediatric AML: From biology to clinical management. *J Clin Med* 2015;4(1):127-49.
- Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115(3):453-74.
- Gruber TA et Downing JR. The biology of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Blood* 2015;126(8):943-9.
- Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, et al. An Inv(16)(p13.3q24.3)-encoded CBFA2T3-GLIS2 fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012;22(5):683-97.
- Haferlach T, Bacher U, Kern W, Schnittger S, Haferlach C. Diagnostic pathways in acute leukemias: A proposal for a multimodal approach. *Ann Hematol* 2007;86(5):311-27.
- Harrison CJ, Hills RK, Moorman AV, Grimwade DJ, Hann I, Webb DK, et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2674-81.
- Hollink IH, van den Heuvel-Eibrink MM, Arentsen-Peters ST, Pratcorona M, Abbas S, Kuipers JE, et al. NUP98/NSD1 characterizes a novel poor prognostic group in acute myeloid leukemia with a distinct HOX gene expression pattern. *Blood* 2011;118(13):3645-56.
- Hourigan CS et Karp JE. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol* 2013;10(8):460-71.
- Inaba H, Zhou Y, Ablan O, Adachi S, Auvrignon A, Beverloo HB, et al. Heterogeneous cytogenetic subgroups and outcomes in childhood acute megakaryoblastic leukemia: A retrospective international study. *Blood* 2015;126(13):1575-84.
- Kaspers GJ, Zimmermann M, Reinhardt D, Gibson BE, Tamminga RY, Aleinikova O, et al. Improved outcome in pediatric relapsed acute myeloid leukemia: Results of a randomized trial on liposomal daunorubicin by the International BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2013;31(5):599-607.

- Ko K, Kwon MJ, Woo HY, Park H, Park CH, Lee ST, Kim SH. Identification of mixed lineage leukemia gene (MLL)/MLLT10 fusion transcripts by reverse transcription-PCR and sequencing in a case of AML with a FISH-negative cryptic MLL rearrangement. *Ann Lab Med* 2015;35(4):469-71.
- Kumon K, Kobayashi H, Maseki N, Sakashita A, Sakurai M, Tanizawa A, et al. Mixed-lineage leukemia with t(10;11)(p13;q21): An analysis of AF10-CALM and CALM-AF10 fusion mRNAs and clinical features. *Genes Chromosomes Cancer* 1999;25(1):33-9.
- Lie SO, Abrahamsson J, Clausen N, Forestier E, Hasle H, Hovi L, et al. Treatment stratification based on initial in vivo response in acute myeloid leukaemia in children without Down's syndrome: Results of NOPHO-AML trials. *Br J Haematol* 2003;122(2):217-25.
- Marschalek R. MLL leukemia and future treatment strategies. *Arch Pharm (Weinheim)* 2015;348(4):221-8.
- Masetti R, Pigazzi M, Togni M, Astolfi A, Indio V, Manara E, et al. CBFA2T3-GLIS2 fusion transcript is a novel common feature in pediatric, cytogenetically normal AML, not restricted to FAB M7 subtype. *Blood* 2013;121(17):3469-72.
- Meshinchi S, Alonzo TA, Stirewalt DL, Zwaan M, Zimmerman M, Reinhardt D, et al. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. *Blood* 2006;108(12):3654-61.
- Meyer C, Hofmann J, Burmeister T, Groger D, Park TS, Emerenciano M, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2013. *Leukemia* 2013;27(11):2165-76.
- Ney Garcia DR, de Souza MT, de Figueiredo AF, Othman MA, Rittscher K, Abdelhay E, et al. Molecular characterization of KMT2A fusion partner genes in 13 cases of pediatric leukemia with complex or cryptic karyotypes. *Hematol Oncol* 2016 [Epub ahead of print].
- Ostronoff F, Othus M, Gerbing RB, Loken MR, Raimondi SC, Hirsch BA, et al. NUP98/NSD1 and FLT3/ITD coexpression is more prevalent in younger AML patients and leads to induction failure: A COG and SWOG report. *Blood* 2014;124(15):2400-7.
- Pallisgaard N, Hokland P, Riishoj DC, Pedersen B, Jorgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood* 1998;92(2):574-88.
- Pigazzi M, Masetti R, Bresolin S, Beghin A, Di Meglio A, Gelain S, et al. MLL partner genes drive distinct gene expression profiles and genomic alterations in pediatric acute myeloid leukemia: An AIEOP study. *Leukemia* 2011;25(3):560-3.
- Pui CH, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: An update. *J Clin Oncol* 2011;29(5):551-65.
- Rao RC et Dou Y. Hijacked in cancer: The KMT2 (MLL) family of methyltransferases. *Nat Rev Cancer* 2015;15(6):334-46.
- Reinhardt D, Diekamp S, Langebrake C, Ritter J, Stary J, Dworzak M, et al. Acute megakaryoblastic leukemia in children and adolescents, excluding Down's syndrome: Improved outcome with intensified induction treatment. *Leukemia* 2005;19(8):1495-6.
- Reynaert N, Vandenberghe P, Boeckx N, Renard M, Uyttebroeck A, Labarque V. Translocation t(1;11)(q21;q23): A new finding in congenital acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2014;55(6):1435-6.

- Rubnitz JE, Raimondi SC, Tong X, Srivastava DK, Razzouk BI, Shurtleff SA, et al. Favorable impact of the t(9;11) in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2002;20(9):2302-9.
- Sandahl JD, Coenen EA, Forestier E, Harbott J, Johansson B, Kerndrup G, et al. t(6;9)(p22;q34)/DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: An international study of 62 patients. *Haematologica* 2014;99(5):865-72.
- Sander A, Zimmermann M, Dworzak M, Fleischhack G, von Neuhoff C, Reinhardt D, et al. Consequent and intensified relapse therapy improved survival in pediatric AML: Results of relapse treatment in 379 patients of three consecutive AML-BFM trials. *Leukemia* 2010;24(8):1422-8.
- Savage NM, Kota V, Manaloor EJ, Kulharya AS, Pierini V, Mecucci C, Ustun C. Acute leukemia with PICALM-MLLT10 fusion gene: Diagnostic and treatment struggle. *Cancer Genet Cytogenet* 2010;202(2):129-32.
- Schweitzer J, Zimmermann M, Rasche M, von Neuhoff C, Creutzig U, Dworzak M, et al. Improved outcome of pediatric patients with acute megakaryoblastic leukemia in the AML-BFM 04 trial. *Ann Hematol* 2015;94(8):1327-36.
- Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, Dewald G, Appelbaum FR, Larson RA, et al. A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare 'poor prognosis' myeloid malignancies. *Leukemia* 2006;20(7):1295-7.
- Takeda A, Shimada A, Hamamoto K, Yoshino S, Nagai T, Fujii Y, et al. Detection of RBM15-MKL1 fusion was useful for diagnosis and monitoring of minimal residual disease in infant acute megakaryoblastic leukemia. *Acta Med Okayama* 2014;68(2):119-23.
- Tarlock K, Alonzo TA, Moraleda PP, Gerbing RB, Raimondi SC, Hirsch BA, et al. Acute myeloid leukaemia (AML) with t(6;9)(p23;q34) is associated with poor outcome in childhood AML regardless of FLT3-ITD status: A report from the Children's Oncology Group. *Br J Haematol* 2014;166(2):254-9.
- Thiollier C, Lopez CK, Gerby B, Ignacimoutou C, Poglio S, Duffourd Y, et al. Characterization of novel genomic alterations and therapeutic approaches using acute megakaryoblastic leukemia xenograft models. *J Exp Med* 2012;209(11):2017-31.
- Von Neuhoff C, Reinhardt D, Sander A, Zimmermann M, Bradtke J, Betts DR, et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2682-9.

DÉTECTION DE LA MUTATION L265P DU GÈNE *MYD88* PAR PCR (RÉFÉRENCE – 2016.02.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Hôpital général juif de Montréal
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 20 décembre 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 17 février 2017

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 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 respectif.

Aux fins de validation du présent avis, l'expert consulté est :

- D^r Bernard Lemieux, interniste et hémato-oncologue, Hôpital Notre-Dame du CHUM

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Détection de la mutation p.L265P du gène *MYD88* par PCR

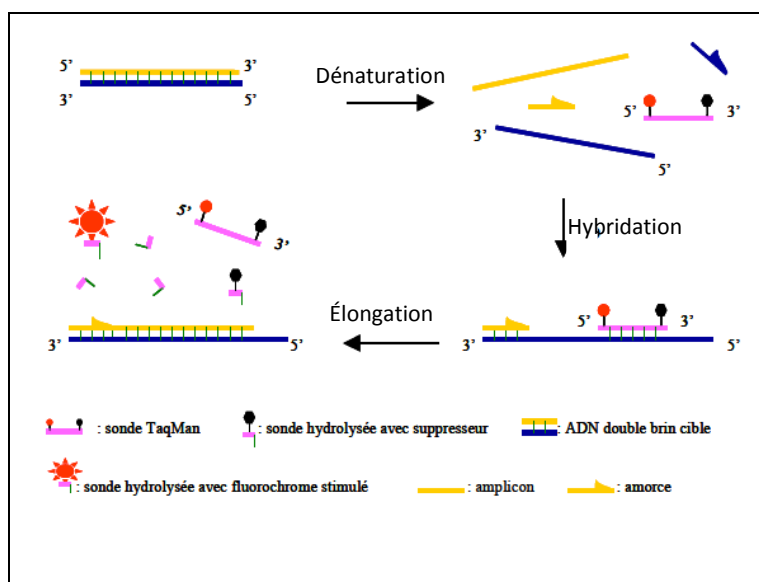
2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

L'analyse proposée permet de détecter la mutation p.L265P dans l'exon 5 du gène *MYD88* (*myeloid differentiation primary response 88*) par PCR en temps réel allèle-spécifique de type TaqMan^{MC}. Selon le demandeur, cette analyse a pour objectif :

- de préciser le diagnostic de la macroglobulinémie de Waldenström (MW);
- de vérifier la possibilité d'offrir un traitement à l'ibrutinib chez les patients ayant la mutation et étant atteints de MW, de lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) de types cellules B activées ou de LDGCB primitif cutané de type jambe;
- d'évaluer le risque de progression des patients atteints de gammapathie monoclonale d'immunoglobulines M (IgM) de signification indéterminée (MGUS-IgM) vers une MW.

La PCR en temps réel repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification. La technique proposée dans cette analyse est basée sur l'hydrolyse de sonde. Ainsi, deux sondes d'hydrolyse TaqMan^{MC} seront utilisées pour démontrer la présence de la mutation lors de la PCR en temps réel; l'une spécifique à la séquence de type sauvage et l'autre spécifique à la séquence mutée. La technologie TaqMan^{MC} est basée sur l'activité 5'-exonucléase de la Taq polymérase (Figure 1). La sonde contient deux fluorochromes; un émetteur et un suppresseur. Lorsqu'ils sont à proximité l'un de l'autre, le fluorochrome émetteur transfère son énergie au fluorochrome suppresseur, qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre la fluorescence. Étant donné que l'activité 5'-exonucléase de la Taq polymérase est spécifique à l'ADN double-brin, les sondes libres en solution demeurent intactes et n'émettent aucune fluorescence. Lors de l'étape d'hybridation de la PCR, la sonde et les amorces se fixent à leurs séquences complémentaires respectives. Puis, lors de l'étape d'élongation, la Taq polymérase synthétise le nouveau brin d'ADN à partir de l'amorce jusqu'à ce qu'elle rencontre la sonde hybridée qu'elle hydrolyse sur son passage. Le fluorochrome est ainsi libéré de l'environnement du suppresseur, ce qui permet l'émission de fluorescence. L'augmentation de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits pendant la réaction [Poitras et Houde, 2002].

Figure 1 Principe de la technologie TaqMan^{MC} lors d'une PCR en temps réel



Source : adaptée de Poitras et Houde, 2002.

L'analyse sera effectuée sur l'ADN extrait d'échantillons de sang, de moelle osseuse, de tissus frais ou de tissus fixé et enrobé de paraffine. Le demandeur a fourni deux algorithmes de traitement pour les patients atteints de la macroglobulinémie de Waldenström (annexe A).

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons de sang, de moelle osseuse et de tissus seront prélevés et acheminés au laboratoire du Centre de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif de Montréal où l'extraction de l'ADN et l'analyse seront effectuées. Le temps de réponse attendu est de dix jours ouvrables.

Les tissus fixés et enrobés de paraffine pourront être envoyés directement des départements de pathologies des hôpitaux. Les échantillons de sang et de moelle osseuse (5 ml) prélevés sur EDTA (acide éthylène-diamine-tétra-acétique) devront être envoyés à la température ambiante dans un délai de 24 heures. Les tissus frais congelés devront être envoyés sur glace sèche dans un délai de 24 heures.

2.4 Société ou concepteur

Analyse « maison » exécutée sur un appareil LightCycler^{MC} 480 ou LightCycler^{MC} 2.0 (Roche Diagnostics).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

L'analyse n'est pas homologuée.

2.6 Valeur pondérée : 73,92

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

- 1) Patients présentant une paraprotéinémie monoclonale d'IgM.
- 2) Patients avec suspicion d'un lymphome lymphoplasmocytaire dû à une infiltration médullaire, ganglionnaire ou autre.

3.2 Description des maladies visées

Macroglobulinémie de Waldenström

La MW est la principale maladie visée par le demandeur³¹. C'est un lymphome non hodgkinien indolent caractérisé par une infiltration de la moelle osseuse par des cellules lymphoplasmocytaires associée à la présence d'IgM monoclonales [Kapoor *et al.*, 2015; Kasi *et al.*, 2015; Treon *et al.*, 2014]. La MW est incurable et elle touche principalement les hommes caucasiens âgés (âge médian de 73 ans au diagnostic). Son incidence annuelle ajustée en fonction de l'âge est de 0,38 cas/100 000 personnes [Wang *et al.*, 2012] et le taux de survie médian est estimé à 7,0 ans [Nelson *et al.*, 2013]. Au Québec, de 20 à 40 nouveaux cas positifs sont attendus chaque année et la prévalence annuelle de la maladie est estimée à 150 à 200 personnes³². Différentes altérations génétiques sont présentes dans les cellules tumorales des patients atteints de la MW [Hunter *et al.*, 2014; Braggio et Fonseca, 2013] et la plus fréquente est la mutation p.L265P dans le gène *MYD88* qui est retrouvée chez plus de 90 % des patients [Jiménez *et al.*, 2013; Varettoni *et al.*, 2013a; Xu *et al.*, 2013].

Lymphome diffus à grandes cellules B de type cellules B activées

Le LDGCB est le lymphome non hodgkinien le plus courant (30 % à 40 % des cas)³³. Son incidence annuelle est estimée à 7,14 cas/100 000 personnes [Morton *et al.*, 2006]. L'Organisation mondiale de la Santé reconnaît l'existence de deux entités moléculaires de LDGCB, soit le type cellules B activées (LDGCB-ABC, tiré de l'anglais *activated B cell*) et le

³¹ Information transmise par Yury Monczak, Ph.D., co-directeur du laboratoire de diagnostic moléculaire de l'HGJ (12 septembre 2016).

³² Information transmise par le demandeur dans le formulaire de demande d'ajout d'une nouvelle analyse le 29 avril 2016. L'estimation de l'incidence québécoise de la macroglobulinémie de Waldenström est basée sur l'incidence des lymphomes non hodgkiniens estimée par la Société canadienne du cancer. La prévalence de la maladie est basée sur un taux de survie à 5 ans d'environ 78 %.

³³ Société canadienne du cancer (SCC). Lymphome diffus à grandes cellules B [site Web], disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/non-hodgkin-lymphoma/non-hodgkin-lymphoma/diffuse-large-b-cell-lymphoma/?region=qc> (consulté le 14 septembre 2016).

type centre germinatif (LDGCB-CG) [Swerdlow *et al.*, 2016]. Parmi les anomalies génétiques retrouvées dans le LDGCB-ABC, la mutation *MYD88* p.L265P est présente chez environ 30 % des patients [Rovira *et al.*, 2016; Bohers *et al.*, 2014; Ngo *et al.*, 2011]. De plus, au moins huit autres mutations dans le gène *MYD88* ont été identifiées et sont retrouvées chez environ 10 % des patients [Rovira *et al.*, 2016; Bohers *et al.*, 2014; Ngo *et al.*, 2011].

Lymphome diffus à grandes cellules B primitif cutané, de type jambe

Le LDGCB primitif cutané de type jambe (LDGCBPC-LT, tiré de l'anglais *leg type*) compte pour moins de 1 % des lymphomes non-hodgkiniens et se distingue du lymphome primitif cutané folliculaire par son agressivité et son phénotype. Le taux de survie à 5 ans associé au LDGCBPC-LT est d'environ 50 % [Willemze *et al.*, 2013] et son profil d'expression génique est similaire à celui du LDGCB-ABC [Campo *et al.*, 2011]. Parmi les anomalies génétiques retrouvées dans le LDGCBPC-LT, la mutation *MYD88* p.L265P est retrouvée chez 40 % à 69 % des patients [Koens *et al.*, 2014; Pham-Ledard *et al.*, 2014a; Pham-Ledard *et al.*, 2014b; Pham-Ledard *et al.*, 2012].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime qu'il effectuera de 100 à 120 tests par année chez des patients potentiellement atteints de la MW. Ces chiffres ne tiennent pas compte des patients atteints de LDGCB-ABC et de LDGCBPC-LT³⁴. Notons qu'une seule analyse sera faite par patient.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hématologie et pathologie.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic de la MW est confirmé par la présence d'une paraprotéinémie monoclonale d'IgM et par une biopsie de la moelle osseuse montrant au moins 10 % de cellules lymphoplasmocytaires clonales [Leblond, 2012]. La présence de la mutation *MYD88* p.L265P n'est actuellement pas recherchée chez les patients atteints de MW, de LDGCB-ABC et de LDGCBPC-LT.

3.6 Données médico-administratives

Selon les bases de données du MSSS, l'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec en 2012-2013, 2013-2014 et 2014-2015.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'analyse proposée permet de confirmer le diagnostic de la MW de façon rapide et très précise. De plus, la haute fréquence de la mutation *MYD88* p.L265P dans le MGUS-IgM (50 % des patients) et le LDGCBPC-LT (69 % des patients) permet un diagnostic rapide. Finalement, la présence de cette mutation permet d'offrir au patient le traitement à l'ibrutinib.

3.8 Assurance qualité

La qualité et la quantité d'ADN seront vérifiées par densité optique et par un test d'amplification des acides nucléiques. Ce dernier sera effectué sur une série de fragments standards de tailles différentes afin d'établir le degré de dégradation de l'ADN. Par la suite,

³⁴ Information transmise par Yury Monczak, Ph. D., co-directeur du laboratoire de diagnostic moléculaire de l'HGJ (4 octobre 2016).

chaque réaction analytique inclura un témoin positif (muté), un témoin négatif (non-muté, type sauvage), et une réaction sans ADN (vérification de la contamination des réactifs). Tous les échantillons seront analysés en duplicata. La valeur de cycle seuil (C_t) de chaque échantillon contrôle sera notée pour assurer la sensibilité d'une analyse à l'autre. Un échantillon positif sera réévalué toutes les 10 à 12 réactions pour assurer la reproductibilité. Chaque nouvelle préparation des réactifs sera comparée à l'ancienne pour assurer la qualité.

L'aptitude du laboratoire du Centre de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif de Montréal à produire un résultat de PCR en temps réel a été attestée par Agrément Canada (ISO 15189). De plus, le laboratoire a réussi l'épreuve du PCR au challenge du College of American Pathologists (CPA) et participe à un programme d'échange d'échantillons avec d'autres laboratoires canadiens.

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse n'est actuellement pas offerte au Québec et ne remplace aucune analyse inscrite au *Répertoire*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

La capacité de la PCR en temps réel allèle-spécifique à déterminer la présence de la mutation *MYD88* p.L265P a principalement été étudiée sur des échantillons provenant de patients atteints de la macroglobulinémie de Waldenström (MW).

Génotypage par PCR en temps réel allèle-spécifique contre séquençage de type Sanger

Un des objectifs de l'étude publiée par Xu et ses collaborateurs [2013] était de développer une approche sensible pour détecter la mutation *MYD88* p.L265P. L'étude comportait 240 patients dont 104 étaient atteints de la MW et 40 étaient des donneurs sains. Trois méthodes de génotypage ont été utilisées : le séquençage de type Sanger, une PCR classique allèle-spécifique et une PCR en temps réel allèle-spécifique. Les analyses ont été réalisées à partir de cellules mononucléaires CD19+ prélevées de la moelle osseuse pour les patients atteints de MW et dix donneurs sains, alors que des cellules CD19+ provenant du sang périphérique ont été utilisées pour les 30 autres donneurs sains. Le séquençage de type Sanger a détecté la mutation chez 93 patients (89 %) alors que les deux PCR allèle-spécifique ont détecté la mutation chez 97 patients (93 %). La sensibilité de ces derniers à détecter la mutation *MYD88* p.L265P était de 100 % et sa spécificité de 92,1 %. La valeur prédictive positive était de 95,9 % alors que la valeur prédictive négative était de 100 % [Xu *et al.*, 2013].

Une partie de l'étude publiée par Ansell et ses collaborateurs [2014], avait comme objectif de comparer l'efficacité du séquençage de type Sanger et de la PCR en temps réel allèle-spécifique à identifier la présence de la mutation *MYD88* p.L265P. Des échantillons de moelle osseuse dont les cellules CD19+ CD138+, sélectionnées ou non, ou des cellules issues de ganglions lymphatiques (non sélectionnées) ont été utilisées. Le génotype de 20 des 39 patients atteints de MW a été déterminé par les deux méthodes de génotypage. Au total, la mutation a été mise en évidence chez les 20 patients. Tous les échantillons positifs par séquençage ($n = 15$) l'étaient également par la PCR. Toutefois, l'utilisation de la PCR a permis de mettre en évidence 5 échantillons mutés supplémentaires, soit l'équivalent d'un

gain de sensibilité de 25 % [Ansell *et al.*, 2014].

Les résultats obtenus par PCR en temps réel allèle-spécifique ont aussi été comparés à ceux obtenus par le séquençage de type Sanger par Varettoni et ses collaborateurs [2013a]. L'étude comportait 58 patients atteints de MW. L'ADN a été extrait d'échantillons de moelle osseuse ou de sang périphérique dont les cellules mononucléaires ont été sélectionnées. Alors que la PCR a permis d'identifier la mutation *MYD88* p.L265P chez la totalité des patients, le séquençage de type Sanger a identifié la mutation chez 25 (43 %) d'entre eux [Varettoni *et al.*, 2013a].

Sélection des cellules B provenant des échantillons de moelle osseuse

Gustine et ses collaborateurs [2016] avaient pour objectif de déterminer si la sélection des cellules B provenant de la moelle osseuse augmente la précision de la PCR en temps réel allèle-spécifique. La présence de *MYD88* p.L265P a donc été testée sur des cellules mononucléaires non-sélectionnées de moelle osseuse et sur des cellules CD19+ pour chacun des 112 patients atteints de la MW. Une concordance de détection de la mutation *MYD88* p.L265P de 93 % (104/112) a été observée entre les cellules sélectionnées et non sélectionnées. Cette concordance était supérieure chez les patients qui n'avaient jamais reçu de traitement (46/46; 100 %) comparativement à ceux qui en avaient déjà bénéficié d'un (58/66; 84 %). Parmi les 8 patients (16 %) ayant déjà été traités et pour lesquels les résultats de détection étaient divergents, deux avaient la mutation *MYD88* p.L265P seulement dans les cellules CD19+ alors que les six autres avaient la mutation seulement dans les cellules non-sélectionnées. Une analyse par cytométrie de flux sur cinq de ces patients a permis de démontrer la présence de plasmocytes d'origine clonale, suggérant, selon l'auteur, l'importance d'inclure les plasmocytes dans l'évaluation de la présence de la mutation *MYD88* p.L265P chez les patients atteints de MW ayant déjà subi une thérapie [Gustine *et al.*, 2016].

Sélection des cellules B provenant des échantillons de sang périphérique

L'objectif de l'étude publiée par Xu et ses collaborateurs [2014] était de déterminer le potentiel d'utiliser la PCR en temps réel allèle-spécifique pour détecter la mutation *MYD88* p.L265P dans le sang périphérique des patients atteints de MW. L'étude comportait 220 patients, dont 118 (54 %) n'avaient jamais reçu de traitement pour la maladie. Les résultats ont démontré une sensibilité de la PCR de 39,5 % à détecter la mutation *MYD88* p.L265P dans les échantillons non-sélectionnés de sang périphérique des patients n'ayant jamais été traités alors que la sensibilité était de 98,2 % suite à la sélection des cellules CD19+. De plus, la sensibilité de la PCR était de 73,7 % pour les patients ayant déjà bénéficié d'un traitement (cellules CD19+). Dans tous les cas, les auteurs ont suggéré que le prélèvement d'un échantillon de moelle osseuse soit considéré en présence d'un résultat négatif obtenu sur un échantillon de sang périphérique afin de valider le statut mutationnel de *MYD88* [Xu *et al.*, 2014].

***MYD88* p.L265P comme marqueur de diagnostic différentiel/confirmation de diagnostic**

Plusieurs études utilisant la PCR en temps réel allèle-spécifique ont permis de mettre en évidence la fréquence élevée de *MYD88* p.L265P chez les patients atteints de MW. Bien que le pourcentage de patients ayant la mutation varie d'une étude à l'autre, il est toujours d'au moins 80 % (tableau 1) [Hamadeh *et al.*, 2015; Martinez-Lopez *et al.*, 2015; Jiménez *et al.*, 2013; Ondrejka *et al.*, 2013; Varettoni *et al.*, 2013a; Xu *et al.*, 2013]. La nature de

l'échantillon et l'utilisation de cellules sélectionnées ou non seraient principalement responsables des écarts observés [Martinez-Lopez *et al.*, 2015].

Jusqu'à présent, trois autres mutations affectant le gène *MYD88* ont été recensées chez les patients atteints de MW et ne pourraient pas être détectées par la méthode proposée par le demandeur. Il s'agit des mutations p.S243N (1 patient) et p.M232T (1 patient) et d'une mutation p.L265P (1 patient) provoquée par une substitution nucléotidique différente de celle ciblée par les sondes de l'analyse proposée [Treon *et al.*, 2015b].

La mutation *MYD88* p.L265P est aussi très fréquente chez les patients atteints de MGUS-IgM (50 % à 86 % des patients) (tableau 1) [Xu *et al.*, 2014; Jiménez *et al.*, 2013; Varettoni *et al.*, 2013a; Xu *et al.*, 2013]. Il est connu qu'une certaine proportion de MGUS-IgM progresse vers la MW (voir la section 4.2) [Turesson *et al.*, 2014; Kyle *et al.*, 2004; Kyle *et al.*, 2003].

Les lymphomes lymphoplasmocytaires (LPL), dont la MW, sont particulièrement difficiles à différencier des lymphomes de zone marginale (LZM). Alors que la présence de *MYD88* p.L265P peut aider à distinguer les deux types de lymphomes, elle ne peut pas être utilisée à elle seule pour définir un LPL puisqu'elle est aussi présente dans 5 % à 20 % des cas de LZM (tableau 1) [Hamadeh *et al.*, 2015; Martinez-Lopez *et al.*, 2015; Jiménez *et al.*, 2013; Ondrejka *et al.*, 2013; Varettoni *et al.*, 2013a; Xu *et al.*, 2013].

Tableau 1 Fréquence de *MYD88* p.L265P dans différentes conditions cliniques

ÉTUDE	TECHNOLOGIE	ÉCHANTILLON	SÉLECTION DES CELLULES	CONDITION CLINIQUE	PATIENT N	<i>MYD88</i> p.L265P N (%)
Jiménez <i>et al.</i> , 2014	PCR temps réel, TaqMan ^{MC}	Moelle osseuse ou ganglion lymphatique	Aucune	Macroglobulinémie de Waldenström	117	101 (86)
				MGUS-IgM	31	27 (86)
				LZM splénique	14	3 (21)
				LDGCB-ABC	48	9 (48)
				LDGCB-CG	28	0 (0)
				LDGCB non-classé	13	0 (0)
				HCL	35	0 (0)
				LLC	39	0 (0)
				MGUS-IgA ou MGUS-IgG	25	0 (0)
				Myélome multiple	24	0 (0)
				Amyloïdose	6	0 (0)
				LPL non IgM	9	0 (0)
				Neuropathie reliée à l'IgM	1	0 (0)
		Sang périphérique	Aucune	Aucune	38	0 (0)
Varettoni <i>et al.</i> , 2013a	PCR classique	Moelle osseuse ou sang périphérique	Cellules mononucléaires	Macroglobulinémie de Waldenström	58	58 (100)
				MGUS-IgM	77	36 (47)
				LZM splénique	84	5 (6)
				B-CLD	52	3 (4)

Abréviation : ABC : type cellules B activées, tiré de l'anglais *activated B cell*; ; B-CLD : syndrome lymphoprolifératif chronique des cellules B, tiré de l'anglais *B-cell chronic lymphoproliferative disorder*; CG : centre germinatif; LDGCB : lymphome diffus à grandes cellules B; HCL : leucémie à tricholeucocytes, tiré de l'anglais *hairy cell leukemia*; LLC : leucémie lymphoïde chronique; LPL : lymphome lymphoplasmocytaire; LZM : lymphome de zone marginale; MGUS : gammapathie monoclonale de signification indéterminée, tiré de l'anglais *monoclonal gammopathy of undetermined significance*; s.o. : sans objet.

ÉTUDE	TECHNOLOGIE	ÉCHANTILLON	SÉLECTION DES CELLULES	CONDITION CLINIQUE	PATIENT N	MYD88 p.L265P N (%)
Xu <i>et al.</i> , 2013	PCR temps réel, SYBR ^{MC} green	Moelle osseuse	CD19+	Macroglobulinémie de Waldenström	104	97 (93)
		Moelle osseuse	CD19+	MGUS-IgM	24	13 (54)
		Moelle osseuse ou sang périphérique	CD19+	LZM splénique	20	2 (10)
		Sang périphérique	CD19+ CD5+	LLC	26	1 (4)
		Moelle osseuse	CD138+	Myélome multiple	14	0 (0)
		Moelle osseuse	CD19+	MGUS-IgG	9	0 (0)
		Moelle osseuse ou sang périphérique	CD19+	Aucune	40	0 (0)
Xu <i>et al.</i> , 2014	PCR temps réel, SYBR ^{MC} green	Sang périphérique	CD19+	Macroglobulinémie de Waldenström	220	216 (98,2)
				MGUS-IgM	12	5 (41,7)
				Hyper-IgM	3	0 (0)
				LPL-IgG	1	1 (100)
				Aucune	40	0 (0)

Abréviation : LLC : leucémie lymphoïde chronique; LPL : lymphome lymphoplasmocytaire; LZM : lymphome de zone marginale; MGUS : gammapathie monoclonale de signification indéterminée, tiré de l'anglais *monoclonal gammopathy of undetermined significance*.

4.2 Valeur pronostique

Selon le demandeur, la détection de la mutation p.L265P du gène *MYD88* permettrait d'évaluer le risque de progression des patients atteints de MGUS-IgM vers une MW.

La MGUS-IgM est une condition clinique asymptomatique dans laquelle il y a une présence anormale d'IgM dans le sang. L'incidence de progression de la MGUS-IgM vers un trouble lymphoprolifératif est de 1 % à 1,5 % par année, et la progression vers une MW est le plus souvent observée (3 % à 20 %) [Turesson *et al.*, 2014; Kyle *et al.*, 2003].

Varettoni et ses collaborateurs [2013a] ont évalué l'impact de la mutation sur le risque de progression de la MGUS-IgM vers la MW et d'autres troubles lymphoprolifératifs. Des 77 patients atteints de MGUS-IgM, 36 patients (47 %) avaient la mutation *MYD88* p.L265P. Sept patients (6 *MYD88* p.L265P et 1 sans mutation sur ce gène; 9,1 %) ont progressé vers une MW alors que deux patients (1 *MYD88* p.L265P et 1 sans mutation sur ce gène; 2,6 %) ont progressé vers un LZM. En utilisant une approche cas-témoin, le risque d'évolution des patients *MYD88* p.L265P était significativement plus grand que celui des patients n'ayant pas de mutation dans ce gène (rapport des cotes : 4,7; [IC95 % : 0,8-48,7]; $p = 0,04$) [Varettoni *et al.*, 2013a].

Les mêmes auteurs ont publié une autre étude pour confirmer le rôle pronostic de *MYD88* p.L265P dans la MGUS-IgM auprès d'une cohorte de 136 patients, dont 71 (52 %) avaient la mutation. Au terme d'un suivi médian de 34 mois, 9 patients (8 *MYD88* p.L265P et 1 sans mutation sur ce gène; 6,6 %) ont progressé vers une MW alors que 2 patients (1 *MYD88* p.L265P et 1 sans mutation dans ce gène; 1,5 %) ont progressé vers un LZM. Une analyse multivariée a démontré que la présence de *MYD88* p.L265P (RRI : 5,45; $p = 0,04$) et la concentration d'IgM sérique (RRI : 3,96; $p < 0,001$) étaient des facteurs indépendamment associés à un risque accru de progression de la MGUS-IgM vers une MW ou un autre trouble lymphoprolifératif. En considérant le décès comme évènement concurrent à la progression de la MGUS-IgM dans un modèle de risque, l'incidence cumulative de progression à 5 ans et à 10 ans étaient respectivement de 15 % et 45 % chez les patients ayant le gène *MYD88* p.L265P comparativement à 2 % et 14 % chez les patients n'ayant pas de mutation sur ce gène ($p = 0,027$) [Varettoni *et al.*, 2013b].

4.3 Valeur thérapeutique

Selon le demandeur, un des principaux objectifs de la détection de *MYD88* p.L265P est de vérifier la possibilité d'offrir la thérapie à l'ibrutinib aux patients. Au Canada, l'ibrutinib (Imbruvica^{MC}) est homologué pour le traitement des patients atteints de la MW, de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et du lymphome à cellules du manteau en rechute ou réfractaire au traitement [Janssen, 2016]. Au Québec, l'ibrutinib a été inscrit sur la liste des médicaments d'exception en juillet 2015 pour le traitement de deuxième intention ou plus de la LLC et pour le traitement de première intention de la LLC chez les personnes présentant une délétion du chromosome 17p. La molécule est présentement sous étude à la Direction des médicaments de l'INESSS relativement aux 3 indications suivantes :

- Traitement de la MW;
- Traitement du lymphome à cellules du manteau;
- Traitement de la LLC ou du lymphome à petits lymphocytes.

Les recommandations de l'INESSS concernant l'ajout de ces indications ont été transmises au ministre le 29 décembre 2016.

Utilisation de l'ibrutinib pour le traitement des patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström

L'ibrutinib est un inhibiteur irréversible de la tyrosine kinase de Bruton qui déclenche l'apoptose des cellules exprimant la mutation *MYD88* p.L265P. Les données relatives à l'utilisation de l'ibrutinib pour le traitement des patients atteints de MW proviennent de deux études cliniques publiées [Treon *et al.*, 2015a; Advani *et al.*, 2013] et d'une étude clinique de phase III présentée lors du congrès annuel de l'European Hematology Association en juin 2016 à Copenhague au Danemark [Dimopoulos *et al.*, 2016].

Étude de phase I

Deux des objectifs de l'étude à devis ouvert d'Advani et ses collaborateurs [2013] étaient de déterminer la dose d'ibrutinib à administrer et la réponse des patients atteints de LLC ou de lymphome non-hodgkinien réfractaire ou récidivant. Parmi les 56 patients, 4 (7 %) étaient atteints de MW. Le statut mutationnel de *MYD88* n'a pas été investigué dans cette étude. Une réponse partielle (régression mesurable de la maladie) a été observée pour 3 patients et 1 patient avait une maladie stable (pas d'amélioration ni de progression) selon les critères de réponse pour les lymphomes malins définis par un groupe de travail international [Cheson *et al.*, 2007]. Le taux de réponse globale pour les patients atteints de MW était de 75 % [Advani *et al.*, 2013].

Étude de phase II

Une étude prospective et multicentrique de phase II avait pour objectifs de déterminer l'efficacité et l'innocuité de l'ibrutinib pour le traitement des patients atteints de MW et d'évaluer l'influence du statut mutationnel de *MYD88* et *CXCR4* (tiré de l'anglais *C-X-C chemokine receptor type 4*) sur le taux de réponse des patients. L'étude comportait 63 patients atteints de la MW ayant déjà reçu au moins un traitement pour cette indication. L'âge médian du groupe était de 63 ans (44 à 86 ans) et comprenait 48 hommes (76 %). Selon le International Prognostic Scoring System³⁵ de la MW [Morel *et al.*, 2009], le risque de mortalité était faible pour 14 patients (22 %), intermédiaire pour 27 patients (43 %) et élevé pour 22 patients (35 %). Au total, 56 patients (89 %) avaient la mutation *MYD88* p.L265P et 21 patients (34 %) avaient une mutation *CXCR4* WHIM³⁶. Tous les patients ayant une mutation *CXCR4* WHIM avaient aussi la mutation *MYD88* p.L265P [Treon *et al.*, 2015a]. Deux cas non mutés pour *CXCR4* avaient une mutation dans le gène *MYD88* qui n'avait pas pu être détectée par la PCR allèle-spécifique. Un patient avait la mutation *MYD88* p.S243N alors que l'autre patient avait une mutation *MYD88* p.L265P due à une substitution différente de celle habituellement observée [Treon *et al.*, 2015b]. Il n'y avait pas de différence significative entre les patients selon le statut mutationnel de *MYD88* et de *CXCR4* sauf pour une plus forte incidence d'adénopathie chez les patients ayant un *CXCR4* de type sauvage comparativement aux patients *CXCR4* WHIM (68,3 % contre 33,3 %; $p = 0,01$) [Treon *et al.*, 2015a].

³⁵ L'International Prognostic Scoring System de la macroglobulinémie de Waldenström détermine le risque de mortalité en fonction de 5 covariables : l'âge avancé (> 65 ans), le taux d'hémoglobine ($\geq 11,5$ g/dl), la numération plaquettaire ($\leq 100\,000/\text{ml}^3$), le niveau de β_2 -microglobuline (≥ 3 mg/l) et la présence de protéines monoclonales sériques ($\geq 7,0$ g/dl) [Morel *et al.*, 2009].

³⁶ *CXCR4* WHIM représente un ensemble d'une vingtaine de mutations à l'extrémité C-terminale de la protéine *CXCR4*. L'acronyme WHIM (tiré de l'anglais *warts, hypogammaglobulinemia, infections and myelokathexis*) est utilisé en référence au syndrome WHIM dans lequel les mêmes mutations sont retrouvées [Poulain *et al.*, 2016].

Les paramètres d'évaluation primaire étaient le taux de réponse globale (réponse mineure³⁷ ou mieux) et le taux de réponse majeure (réponse partielle³⁸ ou mieux) établis selon les critères du National Comprehensive Cancer Network [Anderson *et al.*, 2012]. Le plus haut taux de réponse a été obtenu chez les patients ayant une mutation dans *MYD88* et aucune mutation dans *CXCR4* et le plus bas taux de réponse chez les patients n'ayant pas de mutation dans les deux gènes (tableau 2). Les patients ayant une mutation dans *MYD88* et *CXCR4* avaient une réponse significativement moins bonne que les patients ayant seulement une mutation dans *MYD88* relativement à :

- la réduction du niveau d'IgM sérique (p = 0,003);
- l'augmentation du niveau d'hémoglobine (p = 0,03);
- l'augmentation du nombre absolu de lymphocytes (p = 0,04).

Le temps médian pour obtenir une réponse mineure était de 4 semaines et celui pour obtenir une réponse partielle était de 8 semaines. Les patients ayant une mutation dans *MYD88* et *CXCR4* ont eu un temps de réponse plus long que les patients ayant seulement une mutation dans *MYD88* [Treon *et al.*, 2015a].

Trois patients sont décédés pendant l'étude. À deux ans, le taux de survie sans progression était de 69,1 % (IC95 % : 53,2-80,5) et la survie globale était de 95,2 % (IC95 % : 86,0-98,4). Une analyse de sous-groupe a montré que l'absence de mutation dans *MYD88* et *CXCR4* était associée à une survie sans progression inférieure aux autres génotypes (les auteurs présentent uniquement les courbes Kaplan-Meier). Les auteurs ont conclu que la réponse à l'ibrutinib des patients atteints de MW est influencée par le statut mutationnel de *MYD88* et de *CXCR4* et ont suggéré que la combinaison d'un antagoniste de *CXCR4* à l'ibrutinib pourrait être bénéfique pour le traitement des patients ayant une mutation dans *MYD88* et *CXCR4* [Treon *et al.*, 2015a].

³⁷ Réduction du niveau d'IgM sérique supérieure ou égale à 25 % et inférieure à 50 %. Absence de nouveaux symptômes ou de signes de progression de la maladie [Anderson *et al.*, 2012].

³⁸ Réduction du niveau d'IgM sérique supérieure ou égale à 50 %, diminution de l'adénopathie/organomégalie. Absence de nouveaux symptômes ou de signes de progression de la maladie [Anderson *et al.*, 2012].

Tableau 2 Taux de réponse à l'ibrutinib suite au traitement des patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström

TYPE DE RÉPONSE	Tous les patients (N = 63)	MYD88 muté* CXCR4 sauvage (N = 36)	MYD88 p.L265P CXCR4 WHIM (N = 21)	MYD88 sauvage CXCR4 sauvage (N = 5)	p [†]
Réponse globale [‡] % (IC95 %)	90,5 (80,4 à 96,4)	100 (89,7 à 100,0) [§]	85,7 (63,7 à 97,0)	60 (n.d.)	0,005
Réponse majeure [¶] % (IC95 %)	73,0 (60,3 à 83,4)	91,7 (76,3 à 98,1) [§]	61,9** (38,4 à 81,9)	0 (n.d.)	<0,001

Source : Treon *et al.*, 2015a; 2015b.

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre.

* Trente-quatre patients avaient la mutation *MYD88* p.L265P habituelle, un patient avait une mutation *MYD88* p.L265P due à une substitution différente et un patient avait une mutation *MYD88* p.S243N.

† Les valeurs de p sont pour la comparaison entre les 3 groupes et ont été calculées en utilisant la méthode exacte de Fisher.

‡ Patients ayant une réponse mineure ou mieux (réduction du niveau d'IgM sérique supérieure ou égale à 25 % et absence de nouveaux symptômes ou de signes de progression de la maladie).

§ IC95 % représentant seulement les 34 patients ayant la mutation *MYD88* p.L265P habituelle.

|| Le seul IC95 % disponible représentait les patients *MYD88* de type sauvage avant le séquençage qui a permis de trouver que deux patients avaient des mutations dans le gène *MYD88* qui ne pouvaient pas être détectées par la PCR allèle-spécifique.

¶ Patients ayant une réponse partielle ou mieux (réduction du niveau d'IgM sérique supérieure ou égale à 50 %, diminution de l'adénopathie/organomégalie et absence de nouveaux symptômes ou de signes de progression de la maladie).

** Correspond à la valeur publiée dans la figure 1 de [Treon *et al.*, 2015a] et au tableau 1 [Treon *et al.*, 2015b]. Cependant, la valeur correspondante présentée dans la figure S2 de l'annexe de [Treon *et al.*, 2015a] est 57,1 %.

Étude de phase III

Une étude de phase III visant principalement à évaluer l'effet de l'addition de l'ibrutinib au rituximab³⁹ sur la survie sans progression des patients atteints de MW est présentement en cours (NCT02165397). Un des volets est une étude à devis ouvert sur 31 patients n'ayant pas répondu au rituximab. Les résultats préliminaires ont été présentés au congrès annuel de l'European Hematology Association [Dimopoulos *et al.*, 2016].

L'âge médian des 31 patients était de 67 ans (47 à 90 ans). Selon le International Prognostic Scoring System de la MW [Morel *et al.*, 2009], le risque de mortalité était faible pour 7 patients (23 %), intermédiaire pour 11 patients (35 %) et élevé pour 13 patients (42 %). Des 23 patients dont les résultats étaient disponibles, 16 (69,6 %) avaient seulement la mutation *MYD88* p.L265P, 6 (26,1 %) avaient une mutation sur *MYD88* et une sur *CXCR4* et 1 (4,3 %) n'avait pas de mutation sur les deux gènes [Dimopoulos *et al.*, 2016].

Le paramètre d'évaluation était le taux de réponse établi selon les critères définis lors du 6th International workshop on Waldenström macroglobulinemia [Owen *et al.*, 2013; Treon *et al.*, 2011]. Le taux de réponse globale était de 94 % pour les patients *MYD88* p.L265P n'ayant pas de mutation dans *CXCR4* et de 83 % pour ceux ayant une mutation WHIM dans *CXCR4* (tableau 3).

³⁹ Le rituximab (Rituxan^{MC} de Roche) est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre l'antigène CD20 fixé à la surface des lymphocytes B matures et de certaines cellules tumorales.

Tableau 3 Taux de réponse à l’ibrutinib suite au traitement des patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström

TYPE DE RÉPONSE	<i>MYD88</i> p.L265P <i>CXCR4</i> sauvage (N = 16)*	<i>MYD88</i> p.L265P <i>CXCR4</i> WHIM (N = 6)	<i>MYD88</i> sauvage <i>CXCR4</i> sauvage (N = 1)
Réponse partielle très bonne [†] , N	3	0	0
Réponse partielle [‡] , N	10	5	0
Réponse mineure [§] , N	2	0	0
Maladie stable , N	0	1	1
Réponse globale [¶] , %	94	83	0
Réponse majeure ^{**} , %	81	83	0

Source : Dimopoulos *et al.*, 2016.

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre.

* Un patient n’était pas évaluable.

[†] Réduction du niveau d’IgM sérique supérieure ou égale à 90 % ou niveau d’IgM normal et diminution de la lymphadénopathie/splénomégalie.

[‡] Réduction du niveau d’IgM sérique supérieure ou égale à 50 %, diminution de la lymphadénopathie/splénomégalie.

[§] Réduction du niveau d’IgM sérique supérieure ou égale à 25 % et inférieure à 50 %.

^{||} Ne rencontre pas les critères de réponse mineure, partielle, partielle très bonne et complète ni ceux pour la maladie progressive (augmentation du niveau d’IgM sérique supérieure ou égale à 25 % ou progression de signes cliniques ou de symptômes dus à la maladie).

[¶] Patients ayant atteints une réponse mineure ou mieux (réduction du niveau d’IgM sérique supérieure ou égale à 25 %).

^{**} Patients ayant atteints une réponse partielle ou mieux (réduction du niveau d’IgM sérique supérieure ou égale à 50 % et diminution de la lymphadénopathie/splénomégalie).

Utilisation de l’ibrutinib pour le traitement des patients atteints de lymphome diffus à grandes cellules B de type cellules B activées

Une seule étude tenant compte du statut mutationnel de *MYD88* chez les patients atteints de LDGCB-ABC traités à l’ibrutinib a été repérée lors de la recherche documentaire.

L’étude de phase I/II avait comme objectif d’évaluer la réponse à l’ibrutinib chez les patients atteints de LDGCB-ABC et de LDGCB-CG. Sur les 80 patients ayant participé à cette étude, 38 (47,5 %) avaient un LDGCB-ABC, 20 (25,0 %) avaient un LDGCB-CG, 17 (21,3 %) avaient un LDGCB non-classé et 5 (6,25 %) avaient un LDGCB de type inconnu. Une réponse partielle a été observée chez 12 patients (15 %) et une réponse complète chez 8 patients (10 %). Une réponse complète ou partielle à l’ibrutinib a été obtenue dans une plus grande proportion de patients atteints de LDGCB-ABC, comparativement aux cas de LDGCB-CG (37 % contre 5 %; $p = 0,0106$) (tableau 4). Parmi les patients ayant un LDGCB-ABC, 12 (31,6 %) avaient une mutation dans le gène *MYD88*. Relativement au taux de réponse à l’ibrutinib, aucune différence statistiquement significative n’a été constatée entre les patients ayant une mutation dans *MYD88* (4 patients; 33,3 %) et ceux n’en ayant pas (10 patients; 40 %;) [Wilson *et al.*, 2015].

Tableau 4 Taux de réponse à l’ibrutinib suite au traitement des patients atteints de lymphome diffus à grandes cellules B et indifféremment du statut mutationnel de *MYD88*

PARAMÈTRE	LYMPHOME DIFFUS À GRANDES CELLULES B (N)			<i>p</i> [*]
	TOUS (80)	TYPE CELLULES B ACTIVÉES (38)	TYPE CENTRE GERMINATIF (20)	
Réponse globale N (%)	20 (25)	14 (37)	1 (5)	0,0106
Complète [†]	8 (10)	6 (16)	0 (0)	n.d.
Partielle [‡]	12 (15)	8 (21)	1 (5)	n.d.
Survie médiane (mois)				
Sans progression	1,64	2,02	1,31	0,004
Globale	6,41	10,32	3,35	n.s.

Source : Wilson *et al.*, 2015.

Abréviations : IC95 % : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre; n.d. : non déterminé; n.s. : non significatif.

^{*} Comparaison des valeurs du type cellules B activées et du type centre germinatif.

[†] Disparition de toutes les évidences de la maladie [Cheson *et al.*, 2007].

[‡] Régression mesurable de la maladie et absence de nouveaux sites [Cheson *et al.*, 2007].

Utilisation de l’ibrutinib pour le traitement des patients atteints de lymphome diffus à grandes cellules B primitif cutané, de type jambe

Aucune étude de cohorte visant à déterminer l’efficacité de l’ibrutinib pour le traitement du LDGCBPC-LT n’a été repérée lors de la recherche documentaire ou n’est enregistrée sur le site de ClinicalTrials.gov⁴⁰. Une étude de cas fait état d’un patient âgé de 62 ans atteint de LDGCBPC-LT (type ABC) récidivant à plusieurs reprises au niveau de la jambe. Environ sept ans après le diagnostic, une récurrence systémique a entraîné le début du traitement à l’ibrutinib et mené à une rémission complète du patient. Toutefois, le statut mutationnel de *MYD88* chez ce patient n’a pas été rapporté [Gupta *et al.*, 2015].

4.4 Validité analytique

La validité analytique de la PCR en temps réel allèle-spécifique pour la détection de la mutation *MYD88* p.L265P a principalement été étudiée sur des échantillons provenant de patients atteints de la MW.

Validité analytique de la PCR en temps réel allèle-spécifique – méthode TaqMan^{MC}

Un volet de l’étude de Jiménez et ses collaborateurs [2013] avait comme objectif de déterminer la sensibilité analytique de la PCR en temps réel allèle-spécifique. Pour ce faire, des dilutions de l’ADN d’un échantillon contenant 60 % de cellules tumorales provenant d’un patient atteint de MW hétérozygote pour la mutation *MYD88* p.L265P ont été réalisées en utilisant l’ADN d’un donneur sain. Une sensibilité de $2,5 \times 10^{-3}$ a été obtenue, ce qui correspond à la détection d’une cellule mutée pour 1 000 cellules normales [Jiménez *et al.*, 2013].

⁴⁰ ClinicalTrials.gov. Search Results – ibrutinib [site Web], disponible à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=ibrutinib&pg=1> (consulté le 3 novembre 2016).

L'étude publiée par Jiménez et ses collaborateurs [2014], avait comme objectif de développer la PCR en temps réel allèle-spécifique afin de détecter la mutation *MYD88* p.L265P. Les analyses ont été faites sur des échantillons de moelle osseuse provenant de 20 patients atteints de MW, 10 patients atteints de MGUS-IgM et 10 donneurs sains. Le génotype de tous les patients avait préalablement été déterminé au moyen d'une trousse commerciale. Les résultats obtenus avec la PCR ont été identiques à ceux obtenus avec la trousse commerciale. De plus, il y avait une différence de valeur de cycle seuil (C_t) supérieure à 11 cycles entre les patients ayant la mutation et les donneurs sains (tableau 5). Cette différence élevée de cycle seuil était due à l'introduction de modifications sur l'amorce d'amplification spécifique à la séquence mutée. Finalement, la PCR a pu détecter *MYD88* p.L265P dans un échantillon d'un patient hétérozygote dilué à 0,25 %, démontrant une sensibilité de l'ordre de 10^{-3} . Les auteurs ont conclu en mentionnant que la PCR en temps réel allèle-spécifique est robuste et peu coûteuse et qu'elle peut être considérée comme un outil moléculaire utile pour l'évaluation des troubles lymphoprolifératifs impliquant les cellules B [Jiménez *et al.*, 2014].

Tableau 5 Valeurs de cycle seuil obtenues pour la détection de *MYD88* p.L265P par la PCR en temps réel allèle-spécifique (technologie TaqMan^{MC})

	DONNEUR SAIN (N = 10)	MGUS-IgM (N = 10)	MACROGLOBULINÉMIE DE WALDENSTRÖM (N = 20)
Cycle seuil	> 50	33,4 à 38,4	29,6 à 38,1

Source : Jiménez *et al.*, 2014.

Abréviations : IgM-MGUS : gammopathie monoclonale d'IgM de signification indéterminée; N : nombre.

Validité analytique de la PCR en temps réel allèle-spécifique – méthode SYBR^{MC} green

L'étude publiée par Xu et ses collaborateurs [2013] a permis de mettre au point une PCR en temps réel allèle-spécifique utilisant le SYBR^{MC} green. Suite à une dilution sériée de l'ADN muté avec de l'ADN de type sauvage, la mutation *MYD88* p.L265P a pu être détectée à une dilution de 0,08 % avec plus de deux cycles de différence comparativement à l'ADN de type sauvage (33 et 35 cycles respectivement). Des études de précision ont été faites sur 12 répliques d'ADN tumoral/normal et sur 5 séries d'amplification séparées. Les coefficients de variation inter-essais étaient similaires pour les échantillons contenant 2 % d'ADN muté et ceux contenant 50 % d'ADN muté (tableau 6). Le coefficient de variation intra-essai pour la différence de cycle seuil (ΔC_t) était de 5,75 % pour les échantillons contenant 50 % d'ADN muté et de 1,90 % pour les échantillons contenant 2 % d'ADN muté. Des analyses de PCR ont ensuite été faites sur l'ADN de donneurs sains et de patients atteints de MW. Deux groupes de valeurs de ΔC_t ont été obtenus pour les patients atteints de la MW; un groupe de patients avait des valeurs de ΔC_t similaires aux donneurs sains (les patients n'avaient pas la mutation *MYD88* p.L265P) et un groupe de patients avait des valeurs de ΔC_t supérieures à celles des donneurs sains (les patients avaient la mutation *MYD88* p.L265P) (tableau 7) [Xu *et al.*, 2013].

Tableau 6 Coefficient de variation inter-essais de la PCR en temps réel allèle-spécifique (technologie SYBR^{MC} green)

PARAMÈTRE	COEFFICIENT DE VARIATION INTER-ESSAIS (%)	
	50 % MYD88 p.L265P	2 % MYD88 p.L265P
C _t normal	0,74	0,79
C _t L265P	0,56	0,96
Δ C _t	7,53	4,18

Source : Xu *et al.*, 2013.

Abréviations : C_t : cycle seuil; Δ C_t : différence de cycle seuil.

Tableau 7 Différences de cycle seuil obtenues lors de la détection de MYD88 p.L265P par la PCR en temps réel allèle-spécifique (technologie SYBR^{MC} green)

Δ C _t	DONNEURS SAINS (N = 40)	MACROGLOBULINÉMIE DE WALDENSTRÖM		
		TOUS (N = 104)	MYD88 SAUVAGE (N = 7)	MYD88 P.L265P (N = 97)
Médiane, cycle	14,1	1,9	13,8	1,9
Étendue, cycle	10,7 à 16,9	-0,2 à 15	9,6 à 15	-0,2 à 5,9
<i>p</i>	2,2 x 10 ⁻¹⁶		n.d.	n.d.

Source : Xu *et al.*, 2013.

Abréviations : C_t : cycle seuil; N : nombre.

4.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a participé à un échange d'échantillons avec deux laboratoires américains. Le premier échange a été fait avec Compass Diagnostics. Le laboratoire du demandeur a reçu 8 échantillons (4 positifs et 4 négatifs) qui avaient préalablement été testés. Suite au partage des résultats obtenus, une concordance des résultats de 100 % a été observée (tableau 8).

Tableau 8 Corrélation des données de génotypage obtenues par le laboratoire demandeur et Compass Diagnostics

ÉCHANTILLON	RÉSULTATS DU GÉNOTYPAGE DE MYD88 p.L265P	
	COMPASS DIAGNOSTIC	LABORATOIRE DU DEMANDEUR
MYD-01 A	Négatif	Négatif
MYD-01 B	Positif	Positif
MYD-05	Positif	Positif
MYD-06	Positif	Positif
MYD-10	Négatif	Négatif
MYD-11	Négatif	Négatif
MYD-12	Négatif	Négatif
MYD-16 B	Positif	Positif

Le deuxième échange a été fait avec Vanderbilt University Medical Center. Le laboratoire du demandeur a envoyé 7 échantillons (5 positifs et 2 négatifs) et a reçu 10 échantillons (2 positifs et 8 négatifs). Suite au partage des résultats obtenus, une concordance des résultats de 100 % a été observée (tableau 9).

Tableau 9 Corrélation des données de génotypage obtenues par le laboratoire demandeur et Vanderbilt University Medical Center

ÉCHANTILLON	RÉSULTATS DU GÉNOTYPAGE DE MYD88 p.L265P	
	VANDERBILT UNIVERSITY MEDICAL CENTER	LABORATOIRE DU DEMANDEUR
MYD88-1	Négatif	Négatif
MYD88-2	Négatif	Négatif
MYD88-3	Positif	Positif
MYD88-4	Négatif	Négatif
MYD88-5	Positif	Positif
MYD88-6	Négatif	Négatif
MYD88-7	Négatif	Négatif
MYD88-8	Négatif	Négatif
MYD88-9	Négatif	Négatif
MYD88-10	Négatif	Négatif
15,8	Positif	Positif
16,456	Positif	Positif
16,2012	Positif	Positif
16,2058	Positif	Positif
16,2203	Positif	Positif
16,2322	Négatif	Négatif
16,2376	Négatif	Négatif

Un troisième échange d'échantillons a été entrepris avec l'Hôpital général de Toronto, mais le demandeur s'attendait à recevoir les résultats au cours de la première semaine de novembre 2016⁴¹.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle p.L265P du gène *MYD88*. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 10 et repose principalement sur les hypothèses suivantes :

- La population cible correspond aux patients suspectés d'être atteints de la macroglobulinémie de Waldenström.
- Selon le demandeur, 100, 110 et 120 analyses sont prévues pour le Québec au cours de chacune des 3 premières années suivant l'introduction du test au *Répertoire*.
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.
- Aucune analyse n'est actuellement envoyée hors Québec.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 73,92.
- Selon les experts consultés, aucun autre coût n'est à considérer, outre ceux liés à l'ajout potentiel de cette analyse au *Répertoire*.

Tableau 10 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse mutationnelle p.L265P du gène *MYD88*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre d'analyses anticipées	100	110	120	330
Coûts si introduction de l'analyse	7 392 \$	8 131 \$	8 870 \$	24 394 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle p.L265P du gène *MYD88* au *Répertoire* sont estimés à un total de 24 394 \$ pour les trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

L'ibrutinib est présentement sous étude à la Direction des médicaments de l'INESSS relativement à différentes indications dont la MW.

⁴¹ Information transmise par Yury Monczak, Ph.D. co-directeur du laboratoire de diagnostic moléculaire de l'HGJ (18 octobre 2016).

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Macroglobulinémie de Waldenström

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a mis à jour sa classification des néoplasies lymphoïdes en 2016. Elle reconnaît la présence de *MYD88* p.L265P chez plus de 90 % des patients atteints de MW et son impact sur les critères diagnostiques même si la mutation n'est pas spécifique aux LPL [Swerdlow *et al.*, 2016].

Le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) a publié des recommandations pour la gestion de la MW en février 2016. Selon le NCCN, l'utilisation de la PCR allèle-spécifique pour détecter la mutation *MYD88* p.L265P sur un échantillon de moelle osseuse est essentielle pour différencier la MW du LPL non-IgM, du lymphome à petites cellules B et du myélome multiple. Si la mutation n'est pas détectée par cette méthode, le NCCN recommande de considérer le séquençage de type Sanger pour établir le statut mutationnel de *MYD88*. De plus, l'ibrutinib fait partie des traitements recommandés tant chez les patients atteints de MW recevant un premier traitement que chez les patients ayant déjà été traités [NCCN, 2016a].

Un groupe de travail du 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinemia a émis ses recommandations sur la gestion de la MW en 2016. La détection de *MYD88* p.L265P sur un échantillon de moelle osseuse fait partie des évaluations essentielles qui doivent être faites sur les patients atteints de la MW. La présence de la mutation peut aider à diagnostiquer un cas incertain ou suspecté de MW, sans toutefois tenir lieu de test de confirmation diagnostique de cette maladie. L'absence de la mutation p.L265P ne veut pas dire qu'il n'y a pas de mutation dans le gène *MYD88*. Selon ce groupe de travail, il n'y a pas de méthode standard pour la détection de la mutation. De plus, l'utilisation de cellules CD19+ du sang périphérique peut mener à des faux négatifs. Le groupe reconnaît l'existence de mutations dans le gène *CXCR4* et leur impact sur la présentation de la maladie et la réponse des patients à l'ibrutinib. Pour l'instant, un test de routine pour détecter le statut mutationnel de *CXCR4* n'est pas recommandé, mais son utilisation pourrait aider à anticiper le résultat des patients traités à l'ibrutinib [Castillo *et al.*, 2016].

Un autre groupe de travail du 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinemia a émis ses recommandations sur le traitement de la MW en 2016. Le groupe reconnaît l'utilisation de l'ibrutinib comme option de traitement pour les patients n'ayant jamais reçu de traitement et les patients ayant des récives. Toutefois, la définition de l'utilisation optimale de ce produit demeure un sujet de recherche. Le groupe recommande de vérifier la présence d'une mutation dans le gène *MYD88* chez les candidats au traitement par l'ibrutinib et reconnaît que des données additionnelles sont nécessaires pour ajuster les options de traitement en fonction du statut mutationnel de *MYD88* et de *CXCR4*. De plus, le groupe mentionne que d'autres inhibiteurs de la tyrosine kinase de Bruton sont en développement clinique et peuvent offrir des alternatives à l'ibrutinib [Leblond *et al.*, 2016].

L'European Society for Medical Oncology (ESMO) a publié des recommandations pour la gestion de la MW en 2013, qui ont été soutenues par la Japanese Society of Medical Oncology. La détection de *MYD88* p.L265P est abordée comme un outil additionnel permettant de diagnostiquer une MW et de la séparer de certaines autres conditions telles que le myélome multiple, la MGUS-IgM, le LZM splénique et le lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses. L'ibrutinib ne fait pas partie des traitements recommandés [Buske *et al.*, 2013].

Lymphome diffus à grandes cellules B de type cellules B activées

L'OMS reconnaît l'existence de différences génétiques entre le LDGCB-ABC et le LDGCB-CG mais mentionne que son impact clinique reste à déterminer. L'OMS reconnaît la présence de *MYD88* p.L265P dans 30 % des LDGCB-ABC [Swerdlow *et al.*, 2016].

Le NCCN a publié des recommandations pour la gestion du LDGCB-ABC en mars 2016. L'utilisation d'un test pour détecter la mutation p.L265P du gène *MYD88* n'y est pas mentionnée. De plus, l'ibrutinib ne fait pas partie des recommandations pour le traitement des patients [NCCN, 2016b].

L'ESMO a publié des recommandations pour la gestion du LDGCB-ABC en 2015. L'utilisation d'un test pour détecter la *MYD88* p.L265P n'y est pas mentionnée. Bien que l'ibrutinib ne fasse pas partie des recommandations pour le traitement des patients, son efficacité est abordée dans la section de la médecine personnalisée [Tilly *et al.*, 2015].

Lymphome diffus à grandes cellules B cutané primaire de type jambe

L'OMS reconnaît la présence de la mutation p.L265P du gène *MYD88* dans plus de 50 % des patients atteints de LDGCBPC-LT [Swerdlow *et al.*, 2016].

Le NCCN et l'ESMO ont publié des recommandations pour la gestion du LDGCBPC-LT en mars 2016 et 2013 respectivement. L'utilisation d'un test pour détecter la *MYD88* p.L265P n'y est pas mentionnée et l'ibrutinib ne fait pas partie des recommandations pour le traitement des patients [NCCN, 2016b; Willemze *et al.*, 2013].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La mutation *MYD88* p.L265P est présente chez plus de 90 % des patients atteints de MW, chez plus de 30 % des patients atteints de LDGCB-ABC et chez plus de 50 % des patients atteints de LDGCB-LT. Selon le demandeur, la présence de cette mutation permet d'offrir un traitement à l'ibrutinib aux patients. La PCR en temps réel allèle-spécifique permet de détecter la *MYD88* p.L265P de façon rapide et sensible. Un tel test n'est présentement pas offert au Québec et n'a pas non plus fait l'objet d'envoi hors Québec.

La PCR allèle-spécifique détecte la mutation *MYD88* p.L265P avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 92 % chez les patients atteints de MW. L'analyse ne peut cependant pas détecter les autres mutations dans le gène *MYD88* qui sont peu fréquentes chez les patients atteints de MW, mais qui représentent le quart des mutations de *MYD88* retrouvées chez les patients atteints de LDGCB-ABC. Le traitement à l'ibrutinib des patients atteints de MW engendre une réponse globale chez 90 % des patients, mais le statut mutationnel de *MYD88* et de *CXCR4* affecte le niveau de réponse des individus. La réponse au traitement à l'ibrutinib des patients atteints de LDGCB-ABC est indépendante du statut mutationnel de *MYD88*. Un rapport de cas a montré que le traitement à l'ibrutinib pouvait fonctionner chez un patient atteint de LDGCBPC-LT de type ABC. Les patients atteints de MGUS-IgM qui ont la mutation *MYD88* p.L265P ont un plus haut risque de progression vers une MW ou un LZM.

Les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse mutationnelle de *MYD88* p.L265P au *Répertoire* sont estimés à un total de 24 394 \$ pour les trois premières années.

L'OMS reconnaît la présence de *MYD88* p.L265P dans la MW, le LDGCB-ABC et le LDGCBPC-LT. La détection de la mutation sur des échantillons de moelle osseuse de patients atteints de la MW fait l'objet des recommandations du NCCN, de l'ESMO et d'un groupe de travail du 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinemia. Toutefois, l'absence de la mutation n'exclut pas la présence d'autres mutations sur le gène et un résultat négatif doit être confirmé par un séquençage de type Sanger. La thérapie par l'ibrutinib est une option de traitement reconnue pour la MW et pour laquelle la réponse est influencée par le statut mutationnel de *MYD88* et de *CXCR4*. La détection de *MYD88* p.L265P et le traitement à l'ibrutinib ne font pas partie des recommandations du NCCN et de l'ESMO pour la gestion et le traitement du LDGCB-ABC et du LDGCBPC-LT.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de la mutation L265P du gène *MYD88* par PCR

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

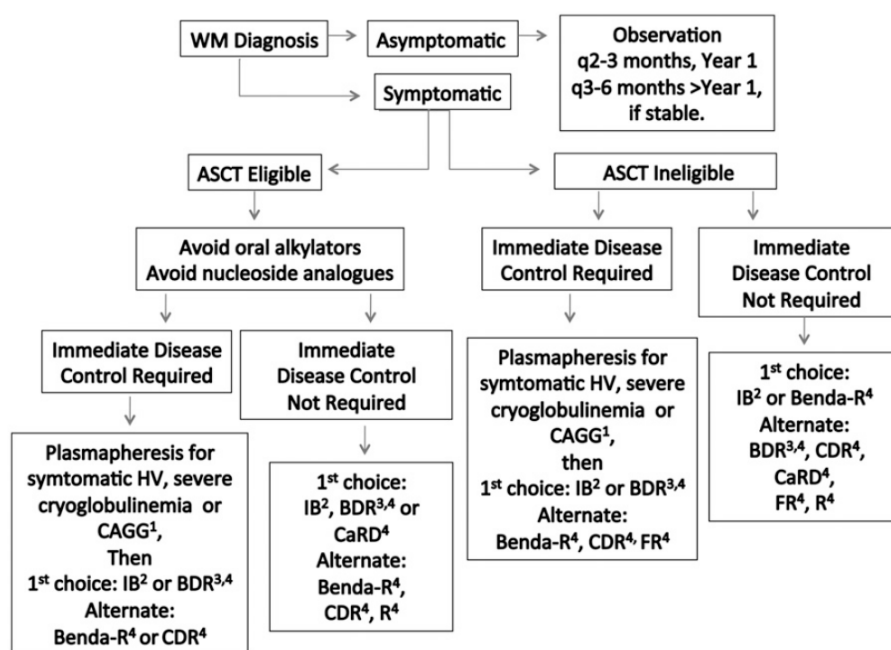
- ✓ Les membres du comité reconnaissent la valeur diagnostique du test pour la macroglobulinémie de Waldenström et sa valeur pronostique pour la gammopathie monoclonale d'IgM de signification indéterminée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui. Cependant, selon les experts consultés et les membres du comité, la valeur de ce test pour les autres indications suggérées n'est pas démontrée.
- ✓ Au regard de l'utilité du test avant le début d'un traitement à l'ibrutinib, le comité propose d'attendre le rapport de l'INESSS sur ce médicament.
- ✓ Concernant la validation analytique, l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons négatifs et positifs est souhaitable avant la mise en production du test.
- ✓ Les membres du comité suggèrent qu'un mécanisme d'échange avec d'autres laboratoires fasse partie intégrante d'un programme d'assurance-qualité.

ANNEXE A

Algorithmes de traitement des patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström

Le demandeur a fourni deux algorithmes de traitement pour les patients atteints de la MW provenant d'une publication de Steven P. Treon [Treon, 2015]. L'algorithme pour la thérapie primaire est présenté à la figure 2 et celui pour le traitement des patients traités antérieurement est présenté à la figure 3.

Figure 2. Algorithme de traitement pour la thérapie primaire de la macroglobulinémie de Waldenström.



Source : Treon, 2015.

Abréviations : HV : hyperviscosity; CRYO : cryoglobulinemia; CAGG : cold agglutininemia; BDR : bortezomib, dexamethasone, rituximab; Benda-R : bendamustine, rituximab; CaRD : carfilzomib, rituximab, dexamethasone; CDR : cyclophosphamide, dexamethasone, rituximab; FR : fludarabine, rituximab; IB : ibrutinib; R : rituximab.

¹ Consider blood warmers with plasmapheresis in patients with cryoglobulinemia or cold agglutininemia to avoid cryoprecipitation or agglutination.

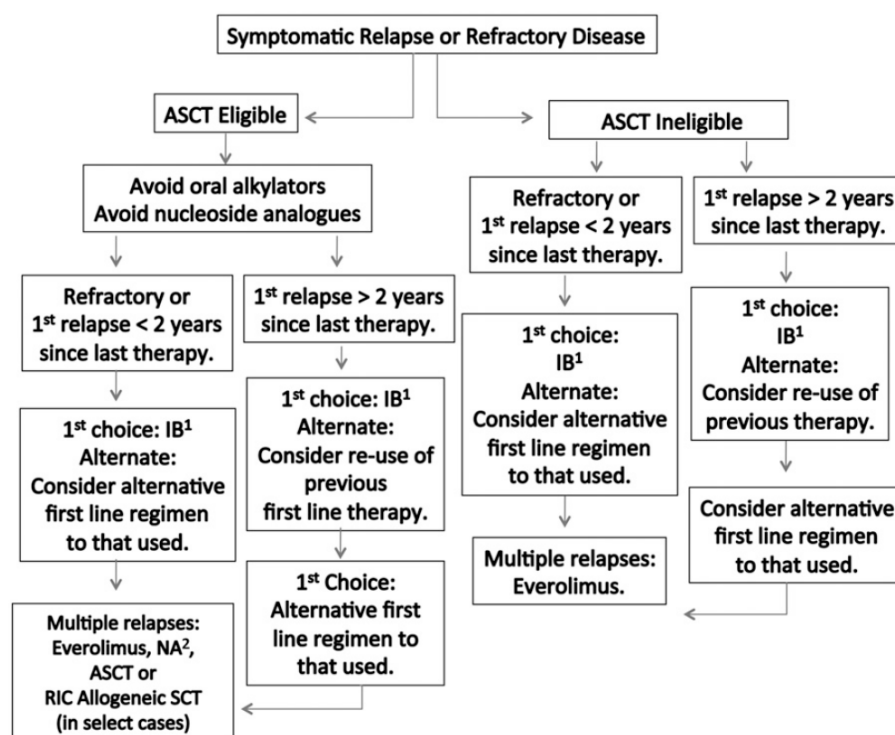
² Can be considered in patients who are not wild type for MYD88 and for those patients without bulky adenopathy or Bing-Neel syndrome.

³ For patients requiring immediate disease control, consider twice weekly dosed bortezomib for 1 to 2 cycles, and then if the patient is stable, switch to weekly bortezomib to reduce risk of treatment related peripheral neuropathy. In patients not requiring immediate disease control, the use of weekly dosed bortezomib is preferable. Bortezomib should be avoided in patients with disease related neuropathy. Bortezomib should be held for grade ≥ 2 treatment-related neuropathy. Acyclovir and famotidine (or equivalent) are strongly recommended for patients on proteasome inhibitor therapy.

⁴ Rituximab should be held in patients with symptomatic HV, severe CRYO or CAGG, and in asymptomatic patients with serum IgM > 4000 mg/dL to avoid an IgM flare and potentiation of symptoms. Ofatumumab may be considered for rituximab-intolerant patients. Consider maintenance rituximab for patients responding to a rituximab-containing regimen.

A clinical trial should be considered whenever possible.

Figure 3 Algorithme de traitement pour la macroglobulinémie de Waldenström traitée antérieurement.



Source : Treon, 2015.

Abréviations : ASCT: autologous stem cell transplant; RIC: reduced intensity allogeneic stem cell transplant; IB: ibrutinib; NA: nucleoside analog-based therapy.

¹ Can be considered in patients not previously treated with IB, who are not wild type for MYD88, and for those patients without bulky adenopathy or Bing-Neel syndrome.

² In patients being considered for an ASCT, stem cell collection should be undertaken before exposure to a nucleoside analog. Rituximab should be held in patients with symptomatic HV, severe CRYO or CAGG, and in asymptomatic patients with serum IgM > 4000 mg/dL to avoid an IgM flare and potentiation of symptoms. Ofatumumab may be considered for rituximab-intolerant patients. Consider maintenance rituximab for patients responding to a rituximab-containing regimen. Bortezomib should be held for grade ≥ 2 treatment-related neuropathy.

A clinical trial should be considered whenever possible.

RÉFÉRENCES

- Advani RH, Buggy JJ, Sharman JP, Smith SM, Boyd TE, Grant B, et al. Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI-32765) has significant activity in patients with relapsed/refractory B-cell malignancies. *J Clin Oncol* 2013;31(1):88-94.
- Anderson KC, Alsina M, Bensinger W, Biermann JS, Cohen AD, Devine S, et al. Waldenström's macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphoma, version 2.2013. *J Natl Compr Canc Netw* 2012;10(10):1211-9.
- Ansell SM, Hodge LS, Secreto FJ, Manske M, Braggio E, Price-Troska T, et al. Activation of TAK1 by MYD88 L265P drives malignant B-cell growth in non-Hodgkin lymphoma. *Blood Cancer J* 2014;4:e183.
- Bohers E, Mareschal S, Bouzeflen A, Marchand V, Ruminy P, Maingonnat C, et al. Targetable activating mutations are very frequent in GCB and ABC diffuse large B-cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2014;53(2):144-53.
- Braggio E et Fonseca R. Genomic abnormalities of Waldenström macroglobulinemia and related low-grade B-cell lymphomas. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2013;13(2):198-201.
- Buske C, Leblond V, Dimopoulos M, Kimby E, Jager U, Dreyling M. Waldenström's macroglobulinaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24(Suppl 6):vi155-9.
- Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: Evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011;117(19):5019-32.
- Castillo JJ, Garcia-Sanz R, Hatjiharissi E, Kyle RA, Leleu X, McMaster M, et al. Recommendations for the diagnosis and initial evaluation of patients with Waldenström macroglobulinaemia: A Task Force from the 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinaemia. *Br J Haematol* 2016;175(1):77-86.
- Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25(5):579-86.
- Dimopoulos MA, Trotman J, Tedeschi A, Matous JV, Macdonald D, Tam C, et al. Single-agent ibrutinib in rituximab-refractory patients with Waldenström's macroglobulinemia (WM): Updated results from a multicenter, open-label phase 3 substudy (iINNOVATE™). *Haematologica* 2016;101(S1):256-7 [abstract P652].
- Gupta E, Accurso J, Sluzevich J, Menke DM, Tun HW. Excellent outcome of immunomodulation or Bruton's tyrosine kinase inhibition in highly refractory primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type. *Rare Tumors* 2015;7(4):6067.
- Gustine J, Meid K, Xu L, Hunter ZR, Castillo JJ, Treon SP. To select or not to select? The role of B-cell selection in determining the MYD88 mutation status in Waldenström Macroglobulinaemia. *Br J Haematol* 2016 [Epub ahead of print].
- Hamadeh F, MacNamara SP, Aguilera NS, Swerdlow SH, Cook JR. MYD88 L265P mutation analysis helps define nodal lymphoplasmacytic lymphoma. *Mod Pathol* 2015;28(4):564-74.

- Hunter ZR, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. The genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood* 2014;123(11):1637-46.
- Janssen. Monographie avec renseignements destinés aux patients : Imbruvica^{MC}. Capsules d'ibrutinib, 140 mg. Toronto, ON : Janssen Inc.; 2016. 19 juillet 2016. Disponible à : http://www.janssen.com/canada/sites/www_janssen_com_canada/files/product/pdf/im_b07192016cpmf_snd_s_190730.pdf.
- Jiménez C, Chillon MDC, Balanzategui A, Puig N, Sebastian E, Alcoceba M, et al. Detection of MYD88 L265P mutation by real-time allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction. *Appl Immunohistochem Molecul Morphol* 2014;22(10):768-73.
- Jiménez C, Sebastian E, Chillon MC, Giraldo P, Mariano Hernandez J, Escalante F, et al. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenström's macroglobulinemia. *Leukemia* 2013;27(8):1722-8.
- Kapoor P, Paludo J, Vallumsetla N, Greipp PR. Waldenström macroglobulinemia: What a hematologist needs to know. *Blood Rev* 2015;29(5):301-19.
- Kasi PM, Ansell SM, Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia. *Clin Adv Hematol Oncol* 2015;13(1):56-66.
- Koens L, Zoutman WH, Ngarmmlertsirichai P, Przybylski GK, Grabarczyk P, Vermeer MH, et al. Nuclear factor-kappaB pathway-activating gene aberrancies in primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type. *J Invest Dermatol* 2014;134(1):290-2.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ 3rd. Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: The original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin Proc* 2004;79(7):859-66.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Remstein ED, Offord JR, Larson DR, et al. Long-term follow-up of IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2003;102(10):3759-64.
- Leblond V. Macroglobulinémie de Waldenström [site Web]. Paris, France : Orphanet; 2012. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=FR&Expert=33226 (consulté le 28 octobre 2016).
- Leblond V, Kastiris E, Advani R, Ansell SM, Buske C, Castillo JJ, et al. Treatment recommendations for Waldenström macroglobulinemia from the Eighth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Blood* 2016;128(10):1321-8.
- Martinez-Lopez A, Curiel-Olmo S, Mollejo M, Cereceda L, Martinez N, Montes-Moreno S, et al. MYD88 (L265P) somatic mutation in marginal zone B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39(5):644-51.
- Morel P, Duhamel A, Gobbi P, Dimopoulos MA, Dhodapkar MV, McCoy J, et al. International prognostic scoring system for Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2009;113(18):4163-70.
- Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* 2006;107(1):265-76.

- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Waldenström's macroglobulinemia / Lymphoplasmacytic lymphoma. Version 2. 2016. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016a. Disponible à : https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Non-Hodgkin's lymphomas. Version 3.2016. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016b. Disponible à : https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- Nelson S, Boise LH, Kaufman JL, Heffner LT, Shah NN, Lechowicz MJ, et al. Changing epidemiology and improved survival in patients with Waldenström macroglobulinemia: Review of surveillance, epidemiology, and end results (SEER) data. *Blood* 2013;122(21):3135.
- Ngo VN, Young RM, Schmitz R, Jhavar S, Xiao W, Lim KH, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature* 2011;470(7332):115-9.
- Ondrejka SL, Lin JJ, Warden DW, Durkin L, Cook JR, Hsi ED. MYD88 L265P somatic mutation: Its usefulness in the differential diagnosis of bone marrow involvement by B-cell lymphoproliferative disorders. *Am J Clin Pathol* 2013;140(3):387-94.
- Owen RG, Kyle RA, Stone MJ, Rawstron AC, Leblond V, Merlini G, et al. Response assessment in Waldenström macroglobulinaemia: Update from the VIth International Workshop. *Br J Haematol* 2013;160(2):171-6.
- Pham-Ledard A, Beylot-Barry M, Barbe C, Leduc M, Petrella T, Vergier B, et al. High frequency and clinical prognostic value of MYD88 L265P mutation in primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg-type. *JAMA Dermatology* 2014a;150(11):1173-9.
- Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Andrique L, Cappellen D, Vergier B, Martinez F, et al. Multiple genetic alterations in primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type support a common lymphomagenesis with activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol* 2014b;27(3):402-11.
- Pham-Ledard A, Cappellen D, Martinez F, Vergier B, Beylot-Barry M, Merlio J-P. MYD88 somatic mutation is a genetic feature of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type. *J Invest Dermatol* 2012;132(8):2118-20.
- Poitras E et Houde A. La PCR en temps réel : principes et applications. *Rev Biol Biotechnol* 2002;2(2):2-11.
- Poulain S, Roumier C, Venet-Caillault A, Figeac M, Herbaux C, Marot G, et al. Genomic landscape of CXCR4 mutations in Waldenström Macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 2016;22(6):1480-8.
- Rovira J, Karube K, Valera A, Colomer D, Enjuanes A, Colomo L, et al. MYD88 L265P mutations, but no other variants, identify a subpopulation of DLBCL patients of activated B-cell origin, extranodal involvement, and poor outcome. *Clin Cancer Res* 2016;22(11):2755-64.
- Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016;127(20):2375-90.
- Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, Jack A, Maignan M, Lopez-Guillermo A, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015;26(Suppl 5):v116-25.

- Treon SP. How I treat Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2015;126(6):721-32.
- Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in previously treated Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2015a;372(15):1430-40.
- Treon SP, Xu L, Hunter Z. MYD88 mutations and response to ibrutinib in Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2015b;373(6):584-6.
- Treon SP, Hunter ZR, Castillo JJ, Merlini G. Waldenström macroglobulinemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2014;28(5):945-70.
- Treon SP, Merlini G, Morra E, Patterson CJ, Stone MJ. Report from the Sixth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011;11(1):68-73.
- Turesson I, Kovalchik SA, Pfeiffer RM, Kristinsson SY, Goldin LR, Drayson MT, Landgren O. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood* 2014;123(3):338-45.
- Varettoni M, Arcaini L, Zibellini S, Boveri E, Rattotti S, Riboni R, et al. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms. *Blood* 2013a;121(13):2522-8.
- Varettoni M, Zibellini S, Arcaini L, Boveri E, Rattotti S, Pascutto C, et al. MYD88 (L265P) mutation is an independent risk factor for progression in patients with IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2013b;122(13):2284-5.
- Wang H, Chen Y, Li F, Delasalle K, Wang J, Alexanian R, et al. Temporal and geographic variations of Waldenström macroglobulinemia incidence: A large population-based study. *Cancer* 2012;118(15):3793-800.
- Willemze R, Hodak E, Zinzani PL, Specht L, Ladetto M. Primary cutaneous lymphomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24(Suppl 6):vi149-54.
- Wilson WH, Young RM, Schmitz R, Yang Y, Pittaluga S, Wright G, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med* 2015;21(8):922-6.
- Xu L, Hunter ZR, Yang G, Cao Y, Liu X, Manning R, et al. Detection of MYD88 L265P in peripheral blood of patients with Waldenström's Macroglobulinemia and IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* 2014;28(8):1698-704.
- Xu L, Hunter ZR, Yang G, Zhou Y, Cao Y, Liu X, et al. MYD88 L265P in Waldenström macroglobulinemia, immunoglobulin M monoclonal gammopathy, and other B-cell lymphoproliferative disorders using conventional and quantitative allele-specific polymerase chain reaction. *Blood* 2013;121(11):2051-8.