

Avis

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

Transmission au ministre : 2 mai 2016

Publication officielle : 30 juin 2016

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

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

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

- la pertinence clinique;
- la 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

Frédéric Breton, B. Sc.

Andrée Fortin, Ph. D.

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

Catherine Gravel, M. Sc.

Simon Bélanger, M. Sc., MBA

Mélanie Martin, 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

Mise en page

Patricia Labelle

Révision linguistique

Madeleine Fex

Vérification bibliographique

Denis Santerre

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2016

Bibliothèque et Archives Canada, 2016

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)

ISBN 978-2-550-76071-9 (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 dix analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* Québec, Qc : INESSS; 261p.

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

- Consultante en éthique

Guy Fink, Ph. D.

- Biochimiste clinique, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

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

- Anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM

Annie-Claude Labbé, M.D., FRCPC

- Microbiologiste infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

David Rosenblatt, M.D., FRCPC

- Pédiatre, généticien, Hôpital général de Montréal

Maude Saint-Jean, M.D.

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

Membre citoyen

Suzanne K. Bédard

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

LISTE DES ANALYSES

RECHERCHE DE MUTATIONS CIBLÉES DANS LES EXONS 2, 3 ET 4 DU GÈNE <i>NRAS</i> DANS LES TUMEURS COLORECTALES MÉTASTATIQUES (RÉFÉRENCE – 2014.03.007R)	1
AUTOANTICORPS ANTINEURONAUX – DÉTECTION DE L'ANTI-PCA2 DANS LES CAS D'ATTEINTE AUTO-IMMUNE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL (RÉFÉRENCE – 2014.03.008)	29
ANALYSE SÉROLOGIQUE D'AUTOANTICORPS ANTINEURONAUX: AMPHIPHYSINE, CV2, MA2 (TA), RI, HU ET YO DANS LES CAS D'ATTEINTE AUTO-IMMUNE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL (RÉFÉRENCE – 2014.03.008)	44
DÉTECTION DES AUTOANTICORPS ANTINEURONAUX ANTI-VGKC (ANTI-LGI1, ANTI-CASPR2) DANS LES CAS D'ATTEINTE AUTO-IMMUNE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL (RÉFÉRENCE – 2014.03.008)	64
MYRIAD MYRISK ^{MD} – PANEL DE 25 GÈNES ASSOCIÉS AUX CANCERS HÉRÉDITAIRES ANALYSÉS PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (RÉFÉRENCE – 2015.01.001)	85
MÉTHYLATION DU PROMOTEUR DU GÈNE DE L'O ⁶ -MÉTHYLGUANINE-ADN MÉTHYLTRANSFÉRASE (<i>MGMT</i>) PAR PCR SPÉCIFIQUE DE LA MÉTHYLATION (RÉFÉRENCE – 2015.01.001)	133
DÉTECTION DE MUTATIONS DANS LES GÈNES <i>IDH1</i> (R132) ET <i>IDH2</i> (R172) PAR SNAPSHOT ^{MC} (RÉFÉRENCE – 2015.03.01)	168
STRATIFICATION PRONOSTIQUE DES LEUCÉMIES MYÉLOÏDES AIGÜES PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION - PANEL DE GÈNES (RÉFÉRENCE – 2015.01.003)	190
RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LES GÈNES <i>BRCA1</i> ET <i>BRCA2</i> PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (RÉFÉRENCE – 2015.03.002)	226
SÉQUENÇAGE DES EXONS 23 ET 25 DU GÈNE <i>ALK</i> DANS LES CAS DE NEUROBLASTOME (RÉFÉRENCE – 2015.03.004)	251

RECHERCHE DE MUTATIONS CIBLÉES DANS LES EXONS 2, 3 ET 4 DU GÈNE *NRAS* DANS LES TUMEURS COLORECTALES MÉTASTATIQUES (RÉFÉRENCE – 2014.03.007R)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Hôpital général juif de Montréal
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le D^r David S. Rosenblatt et le D^r François Rousseau n'ont pas participé aux délibérations et se sont retirés au moment de formuler la recommandation. Le D^r Jean-Luc Dionne, consulté à titre d'expert externe aux fins de la validation de cet avis, déclare avoir été rémunéré en 2015 par Amgen Inc. à titre de conférencier invité.

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 la validation de cet avis, les experts consultés sont :

- D^r Benoît Samson, hématologue et oncologue médical à l'Hôpital Charles LeMoine et membre du Comité de l'évolution des pratiques en oncologie (CEPO) de l'INESSS
- D^r Jean-Luc Dionne, hémato-oncologue à l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Recherche de mutations ciblées dans les exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS* par test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) en temps réel à l'aide de sondes TaqMan^{MC}

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

Le demandeur utilise la trousse *NRAS* Mutation Analysis Kit de la compagnie EntroGen, Inc. (Tarzana, CA, É.-U.). La trousse contient les amorces et les sondes TaqMan^{MC} nécessaires à l'amplification en chaîne par polymérase (ou PCR) et à la détection spécifique de chacune des mutations ciblées (exon 2 du gène *NRAS* : G12D, G12C, G12S, G13R, et G13V; exon 3 du gène *NRAS* : Q61H, Q61L, Q61K et Q61R; exon 4 du gène *NRAS* : A146T).

La quantité totale d'ADN nécessaire à l'amplification est vérifiée en incluant des amorces pour amplifier un gène témoin, la β 2 microglobuline. La détection des séquences amplifiées contenant une mutation repose sur l'hydrolyse de sondes fluorescentes (TaqMan^{MC}). Chaque sonde contient un fluorophore (FAM^{MC} ou VIC^{MC}) à l'extrémité 5'. L'autre extrémité est marquée par une molécule qui masque la fluorescence par le principe FRET, sigle de l'anglais *fluorescence resonance energy transfer*¹. Pendant l'amplification PCR, au moment de l'élongation des amorces, si l'ADN polymérase rencontre une sonde TaqMan^{MC} parfaitement hybridée en aval, celle-ci sera hydrolysée. Par contre, si l'hybridation n'est pas parfaite, la sonde sera déplacée et donc, conservée intacte [Livak, 1999]. L'hydrolyse de la sonde génère une fluorescence qui s'intensifie d'un cycle de PCR à l'autre, mesurable en temps réel [De Kok *et al.*, 2002] (voir le schéma illustré dans l'annexe A du présent avis). Les sondes *NRAS* sont marquées avec un fluorophore FAM^{MC}, alors que la sonde témoin β 2 microglobuline est marquée avec un fluorophore VIC^{MC}. Le signal du VIC^{MC} devrait être détecté dans tous les échantillons, alors que celui du FAM^{MC} devrait être détecté uniquement dans les échantillons contenant une mutation dans le gène *NRAS*.

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons de tumeurs colorectales sur lesquels les analyses moléculaires des gènes *RAS* peuvent être réalisées proviennent d'une biopsie ou d'une résection chirurgicale. Les échantillons tumoraux enrobés de paraffine sont acheminés au Centre de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif (HGJ) de Montréal. Une coupe du bloc est montée sur une lame, colorée et examinée par un anatomopathologiste qui estimera le pourcentage de cellules tumorales dans l'échantillon. L'anatomopathologiste marque la partie contenant les cellules malignes sur la lame colorée. L'ADN est ensuite extrait de la coupe et la PCR est effectuée.

2.4 Société ou concepteur

EntroGen, Inc. (Tarzana, CA, É.-U.).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

- Canada : recherche seulement
- États-Unis : recherche seulement

¹ Le principe du FRET repose sur la proximité physique entre un fluorophore rapporteur et une molécule qui masque la fluorescence (désactivateur) sur la sonde intacte.

- Union européenne : diagnostic (CE-IVD)² et recherche

2.6 Valeur pondérée : 201,50

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients atteints de cancer colorectal métastatique (CCRm) chez lesquels un traitement anti-EGFR³ est envisagé, soit Erbitux^{MC} (cétuximab) ou Vectibix^{MC} (panitumumab)

3.2 Description de la maladie visée

Les plus récentes statistiques montrent que le cancer colorectal (CCR) est le deuxième cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes et le troisième chez les femmes au Canada. De même, on estimait qu'au Québec, en 2015, le nombre de nouveaux cas de CCR était de 3 700 chez les hommes et de 2 900 chez les femmes, soit respectivement 14,9 % et 11,5 % de tous les nouveaux cas de cancers diagnostiqués. Le CCR figure également parmi les cancers les plus mortels en nombre absolu; on estime qu'en 2015, 2 450 personnes sont mortes par CCR au Québec, soit l'équivalent d'environ 12 % de tous les décès par cancer dans la même période [SCC, 2015].

Au moment du diagnostic, environ 25 % des patients présentent d'emblée une maladie métastatique, tandis que 50 % des patients bénéficiant d'une chirurgie à visée curative développeront des métastases à distance [CEPO, 2011; Sasson et Sigurdson, 2002]. La résection chirurgicale de la tumeur primaire ainsi que des métastases hépatiques, lorsque possible, représente une composante du traitement du CCRm. Le 5-fluorouracil et la leucovorine en adjuvant, combinés à l'irinotécan (FOLFIRI) ou à l'oxaliplatine (FOLFOX), font partie du traitement standard à visée palliative du CCRm non résécable ou récidivant [CEPO, 2011; De Gramont *et al.*, 2000; Cunningham et Glimelius, 1999].

L'EGFR est surexprimé dans 60 % à 80 % des carcinomes colorectaux, faisant de la voie de l'EGF une cible thérapeutique de choix [Field et Lipton, 2007]. Cette surexpression est entre autres responsable de l'activation du cycle cellulaire, de l'envahissement tumoral et de la stimulation de l'angiogénèse [CEPO, 2011; Mendelsohn et Baselga, 2000]. Le cétuximab (Erbitux^{MC}, ImClone LLC) et le panitumumab (Vectibix^{MC}, Amgen Inc.) ont été conçus pour inactiver la voie de l'EGF. Le cétuximab est un anticorps monoclonal chimérique murin et humain qui se lie de façon spécifique au récepteur de type 1 du EGF humain, désigné par HER1 (sigle de l'anglais *human epidermal growth factor receptor 1*), inhibant la cascade tyrosine kinase afin d'induire l'arrêt de la croissance cellulaire et l'apoptose [Saridaki *et al.*, 2010]. Le panitumumab est un anticorps monoclonal recombinant, entièrement

² Le marquage CE (CE-IVD) indique qu'un dispositif de diagnostic in vitro est conforme à la Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro et qu'il peut être commercialisé et distribué légalement dans l'Union européenne (UE).

³ EGFR : Récepteur du facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor receptor*). L'EGFR est un récepteur à tyrosine kinase nécessaire à la croissance et la différenciation cellulaire. L'EGFR est un proto-oncogène, c'est pourquoi il est la cible de thérapies anticancéreuses.

humain, dont le mode d'action est le même que celui du cétuximab [Keating, 2010]. Malgré une amélioration marquée de l'arsenal chimiothérapeutique, le taux de survie à 5 ans demeure faible (13 %) chez les patients atteints d'un CCRm [ACS, 2015].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime à 500 le nombre prévu d'analyses, par année, dans la population desservie par l'HGJ. En ce qui concerne le nombre prévu d'analyses dans la population du Québec au cours de chacune des trois prochaines années, le demandeur l'estime à 2 079. Ce nombre est calculé à partir des statistiques de 2015 sur le cancer colorectal au Québec, soit 6 600 nouveaux cas par année.

3.4 Spécialités médicales concernées

L'anatomopathologie (biologie moléculaire) et l'hémo-oncologie sont concernées.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Selon les études, l'analyse du profil d'un marqueur moléculaire peut s'effectuer de différentes façons. Concernant la recherche de mutations somatiques dans les gènes *RAS*, la PCR ciblée suivie d'un séquençage de type Sanger ou d'un pyroséquençage sont des techniques fréquemment utilisées. Les experts consultés sont d'avis que dans un proche avenir, le séquençage de nouvelle génération (SNG) permettra d'effectuer, dans le contexte du cancer du côlon, l'ensemble des analyses dans les gènes *RAS* et *BRAF*.

Indications et contre-indications des anti-EGFR

Selon la liste des médicaments disponibles en établissement⁴ (mise à jour en février 2016), le cétuximab et le panitumumab sont indiqués, en monothérapie, pour le traitement de troisième intention du CCRm exprimant l'EGFR chez les personnes qui présentent, entre autres, un gène *KRAS* exempt de mutation (exon 2 seulement) et qui sont réfractaires aux chimiothérapies à base d'irinotécan et d'oxaliplatine.

Selon la monographie des produits Erbitux^{MC} (cétuximab) et Vectibix^{MC} (panitumumab) révisée en janvier 2016 par Santé Canada :

Le cétuximab est contre-indiqué dans le traitement du CCR chez les patients dont les tumeurs présentent des mutations dans les gènes *RAS* (exons 2, 3, 4 du gène *KRAS* et exons 2, 3, 4 du gène *NRAS*) ou dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* n'est pas connu. Le panitumumab n'est pas indiqué dans le traitement des patients atteints d'un CCRm comportant une mutation dans un gène *RAS* (*KRAS* ou *NRAS*) ni dans le traitement des patients dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* (*KRAS* ou *NRAS*) n'est pas connu.

3.6 Données médico-administratives

Actuellement, l'analyse proposée n'est pas incluse dans le *Répertoire*. Toutefois, on y trouve 2 codes relatifs à l'analyse du profil de mutation dans le gène *KRAS*, soit :

⁴ La Liste des médicaments est définie et publiée par la Régie de l'assurance maladie du Québec.

- 20067 (valeur pondérée (VP) = 224) : Mutation du gène *KRAS* (Laboratoire de pathologie moléculaire de l'HGJ de Montréal) – Selon les données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS), 1 308 analyses ont été réalisées en 2014-2015, ce qui représente un coût total de 292 992 \$.
- 60152 (VP = 56) : Détection de mutation par TAAN en temps réel, analyse de fonte en haute résolution de séquençage (Laboratoire d'hématobiologie moléculaire du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)) – Selon les données du MSSS, 347 analyses ont été réalisées en 2014-2015, ce qui représente un coût total de 19 432 \$.
- Dans l'édition 2015-2016 du *Répertoire*, un code unique a été créé, soit 65070 (VP = 94)

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

La confirmation de l'absence de mutation somatique aux codons 12 et 13 de l'exon 2 du gène *KRAS* est actuellement un critère d'admissibilité pour qu'un patient atteint d'un CCRm chimioréfractaire puisse recevoir un traitement anti-EGFR. De nouvelles données cliniques confirment que les tumeurs colorectales associées à des mutations dans les exons 3 et 4 du gène *KRAS* et dans les exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS* sont d'emblée réfractaires à un traitement anti-EGFR. Le demandeur souhaite donc vérifier le profil de mutation du gène *NRAS*, en plus de celui du gène *KRAS*, afin d'exclure un traitement anti-EFGR chez des patients dont la tumeur comporte une mutation dans l'un ou l'autre de ces deux gènes (profil détaillé de mutation dans les gènes *RAS*, qui inclut l'analyse des exons 2, 3 et 4 du gène *KRAS* et des exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS*).

Le raffinement des critères d'admissibilité à un traitement anti-EGFR, à partir d'un résultat négatif à l'analyse du profil détaillé de mutation dans les gènes *RAS*, permettrait d'améliorer le rapport risques-avantages et de réduire les coûts de traitement.

3.8 Assurance qualité

Depuis peu, un programme de contrôle de qualité du CAP (College of American Pathologists) qui s'applique aux mutations dans le gène *NRAS*, soit le Multigene Tumor Panel, figure dans le catalogue *2016 Surveys and Anatomic Pathology Education Programs* [CAP, 2015].

3.9 Remplacement d'un autre test

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

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Le génome humain contient trois gènes *RAS* très homologues sur le plan des séquences nucléotidiques, mais fonctionnellement distincts, soit *KRAS*, *NRAS* et *HRAS*. Des mutations oncogéniques touchant l'un des gènes *RAS* sont détectées dans environ 30 % des cancers humains. La fréquence des mutations activatrices *KRAS* et

NRAS parmi les tumeurs colorectales est différente. En effet, Peeters et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude dont l'objectif était d'établir la prévalence des mutations somatiques *RAS*, globale et par exon, parmi 2 832 cas de CCRm ayant reçu le panitumumab au cours de 3 essais randomisés contrôlés de phase III [Peeters *et al.*, 2015], soit les études PRIME [Douillard *et al.*, 2013], 20050181 [Peeters *et al.*, 2014] et 20020408 [Peeters *et al.*, 2013].

Les résultats ont montré que la prévalence globale de mutations somatiques dans les gènes *RAS* détectées dans les tumeurs de patients atteints de CCRm était de 55,9 % [IC95 % : 53,9 % – 57,9 %], soit 1 354 mutations dans au moins 1 des gènes *RAS* (*KRAS* ou *NRAS*, exons 2, 3 et 4) des 2 423 tumeurs analysées et dont le résultat était disponible et interprétable. Concernant la prévalence de mutations par exon, les données sont les suivantes :

<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>
Exon 2 : 42,6 % [IC95 % : 40,7 %-44,5 %]	Exon 2 : 2,9 % [IC95 % : 2,1 %-3,9 %]
Exon 3 : 3,8 % [IC95 % : 2,9 %-4,9 %]	Exon 3 : 4,2 % [IC95 % : 3,2 %-5,4 %]
Exon 4 : 6,2 % [IC95 % : 5,0-7,6 %]	Exon 4 : 0,3 % [IC95 % : 0,1 %-0,7 %]

La prévalence de mutations activatrices aux exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS* est de 7,4 %, soit un gain de détection équivalent à 109 mutations additionnelles. Considérant l'utilisation de la trousse proposée par le demandeur, 6 mutations dans l'exon 2 n'auraient pas été détectées, soit G12V (3), G12A (1), G12R (1), G13C (1).

D'autres études ont rapporté des données exhaustives concernant la prévalence des mutations dans le gène *NRAS* parmi un grand nombre de cas de CCRm. Vaughn et ses collaborateurs [2011] ont réalisé une étude rétrospective dont l'objectif était de déterminer la fréquence des mutations moins communes dans les gènes *RAS* dans un échantillon de 2 121 adénocarcinomes colorectaux. Au total, 513 tumeurs sans mutation aux codons 12 et 13 du gène *KRAS* ont été analysées par pyroséquençage aux codons 12, 13 et 61 du gène *NRAS*. Cette méthode a permis de détecter 26 mutations additionnelles dans le gène *NRAS*, soit 5,1 % [Vaughn *et al.*, 2011].

L'étude rétrospective multicentrique publiée en 2010 par De Roock et ses collaborateurs visait à évaluer le profil de mutation des tumeurs de patients atteints d'un CCRm réfractaire aux chimiothérapies standard et ayant reçu le cétuximab combiné à une chimiothérapie. Dans les 644 tumeurs analysées en vue de déterminer le profil de mutation du gène *NRAS*, 17 mutations ont été détectées, soit 2,6 % [De Roock *et al.*, 2010]. L'ensemble des données de prévalence est présenté dans le tableau 1 qui suit.

Tableau 1 Fréquence des mutations dans le gène *NRAS* de tumeurs colorectales

ÉTUDE	TUMEURS ANALYSÉES, PROFIL <i>NRAS</i>	MÉTHODE	MUTATIONS DANS LE GÈNE <i>NRAS</i> N		
			GLOBALE	PAR POSITION	NON COUVERTES PAR L'ANALYSE ÉVALUÉE (N)
Peeters <i>et al.</i> , 2015 3 ERC phase III	Exon 2 : 1 421 Exon 3 : 1 410 Exon 4 : 1 468	Séquençage de type Sanger, SNG	109 (7,4)	G12 : 30 G13 : 11 Q61 : 61 A146 : 2 n. d. : 5	V(3), A(1), R(1) C(1) 0 0 s. o.
Vaughn <i>et al.</i> , 2011	513	PSQ	26 (5,1)	G12 : 9 G13 : 1 Q61 : 16	0 D(1) 0
De Roock <i>et al.</i> , 2010	644	MassARRAY ^{MC}	17 (2,6)	G12 : 4 G13 : 1 Q61 : 12	0 0 0

Sigles et abréviations : ERC : essai randomisé contrôlé; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; PSQ : pyroséquençage; SNG : séquençage de nouvelle génération; s. o. : sans objet

4.2 Valeur pronostique

L'analyse proposée n'a pas pour objet de préciser ou d'établir le pronostic des personnes atteintes d'un CCRm. Toutefois, l'étude de cohorte prospective de Schirripa et ses collaborateurs [2015] permet de supposer que la présence d'une mutation dans le gène *NRAS* aux codons 12, 13 ou 61, dans un contexte où les gènes *KRAS* et *BRAF* sont de type sauvage, est un facteur indépendant de mauvais pronostic, notamment en matière de survie globale. Parmi les 786 patients dont le profil de mutation dans le gène *NRAS* a été évalué, la médiane de survie globale des 47 patients porteurs d'une mutation confirmée dans le gène *NRAS* était significativement inférieure à celle des patients non porteurs (25,6 mois contre 42,7 mois; $p = 0,0013$). L'analyse de survie réalisée en tenant compte de certaines covariables pronostiques, soit le score à l'échelle d'évaluation du fonctionnement de l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), le site primaire de la tumeur, l'atteinte hépatique, l'étendue de la résection primaire et le délai précédant l'apparition de métastases, a montré que la présence d'une mutation dans le gène *NRAS* est associée à une augmentation du risque de décès de 75 %, comparativement à l'absence de mutation dans ce gène (rapport de risques instantanés (RRI) = 1,75; [IC95 % : 1,13-2,72]; $p = 0,013$) [Schirripa *et al.*, 2015].

4.3 Valeur prédictive

4.3.1 Avantages d'un traitement anti-EGFR pour les personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est négatif, évalués par méta-analyse

Sorich et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 7 ERC sur des patients soumis à un traitement anti-EGFR de première, deuxième ou troisième intention, administré seul ou combiné à la chimiothérapie, comparativement à un traitement de chimiothérapie seule ou aux meilleurs soins de soutien [Sorich *et al.*,

2015]. Selon les analyses regroupées de Sorich [2015], un profil négatif de mutation dans les gènes *RAS*, soit le profil *RAS*-, est prédictif d'un avantage clinique du traitement anti-EGFR seul ou combiné, peu importe l'intention de traitement, qui se traduit par :

- une réduction du risque de décès de 13 % (voir le tableau 2);
- une réduction du risque de progression de 38 % (voir le tableau 3);
- une augmentation de la probabilité de régression tumorale complète ou partielle de 3,71 fois (voir le tableau 4).

Pietrantonio et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 7 ERC sur des patients soumis à un traitement anti-EGFR en première intention combiné à la chimiothérapie, comparativement à un traitement de chimiothérapie seule ou combiné à un traitement anti-VEGF⁵ [Pietrantonio *et al.*, 2015]. Selon les analyses regroupées de Pietrantonio [2015], le profil *RAS*- est prédictif d'un avantage clinique du traitement combiné anti-EGFR et chimiothérapie en première intention de traitement, qui se traduit par :

- une réduction du risque de décès de 19 % (voir le tableau 2);
- une réduction du risque de progression de 23 % (voir le tableau 3);
- une augmentation de la probabilité de régression tumorale complète ou partielle de 1,33 fois (voir le tableau 4).

Khattak et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 3 ERC sur des patients soumis à un traitement anti-EGFR en première intention combiné à la chimiothérapie, comparativement à un traitement de chimiothérapie combiné à un traitement anti-VEGF [Khattak *et al.*, 2015]. Selon les analyses regroupées de Khattak [2015], le profil *RAS*- est prédictif d'un avantage clinique du traitement combiné anti-EGFR et chimiothérapie en première intention, qui se traduit par :

- une réduction du risque de décès de 23 % (voir le tableau 2);
- une augmentation de la probabilité de régression tumorale complète ou partielle de 1,46 fois (voir le tableau 4).

⁵ VEGF : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, en anglais *vascular endothelium growth factor*.

Tableau 2 Effets d'un traitement anti-EGFR sur la survie globale des personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est négatif, évalués par méta-analyse

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES				N PATIENTS RAS-	SURVIE GLOBALE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
	ÉTUDES PRIMAIRES	GROUPE À L'ÉTUDE	GROUPE TÉMOIN	N		RRI (IC95 %)	VALEUR DE P	I ²	TEST Q
PIETRANTONIO (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} intention	CT + anti-EGFR	CT CT + anti-VEGF	7	2 718	0,81 (0,71 - 0,92)	0,002	45 %	p = 0,09
			CT + anti-VEGF	3	1 171	0,80 (0,69 - 0,92)	0,003	40 %	p = 0,19
SORICH (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} à 3 ^e intention	MSS + anti-EGFR CT + anti-EGFR	MSS CT	7	2 513	0,87 (0,77 - 0,99)	0,04	n. d.	n. d.
KHATTAK (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} intention	CT + anti-EGFR	CT + anti-VEGF	3	1 103	0,77 (0,63 - 0,95)	0,016	n. d.	n. s.

Sigles et abréviations : CCRm : cancer colorectal métastatique; CT : chimiothérapie; ERC : essai randomisé contrôlé; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport des risques instantanés

Tableau 3 Effets d'un traitement anti-EGFR sur la survie sans progression des personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est négatif, évalués par méta-analyse

ÉTUDE	CARECTÉRISTIQUES				N PATIENTS RAS-	SURVIE SANS PROGRESSION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
	ÉTUDES PRIMAIRES	GROUPE À L'ÉTUDE	GROUPE TÉMOIN	N		RRI (IC95 %)	VALEUR de p	I ²	TEST Q
PIETRANTONIO (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} intention	CT + anti-EGFR	CT CT + anti-VEGF	6	2 137	0,77 (0,60 - 0,98)	0,03	79 %	p < 0,001
			CT	3	966	0,65 (0,55 - 0,77)	< 0,001	4 %	p = 0,35
SORICH (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} à 3 ^e intention	MSS + anti-EGFR CT + anti-EGFR	MSS CT	6	1 932	0,62 (0,50 - 0,76)	< 0,001	67 %	p = 0,009
KHATTAK (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} intention	CT + anti-EGFR	CT + anti-VEGF	3	1 103	0,92 (0,71 - 1,18)	0,50	n. d.	n. s.

Sigles et abréviations : CCRm : cancer colorectal métastatique; CT : chimiothérapie; ERC : essai randomisé contrôlé; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport des risques instantanés

Tableau 4 Effets d'un traitement anti-EGFR sur la réponse tumorale objective des personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes RAS est négatif, évalués par méta-analyse

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES				N PATIENTS RAS-	RÉPONSE TUMORALE OBJECTIVE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
	ÉTUDES PRIMAIRES	GROUPE À L'ÉTUDE	GROUPE TÉMOIN	N		RR OU RC (IC95 %)	VALEUR DE P	I ²	TEST Q
PIETRANTONIO (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} intention	CT + anti-EGFR	CT CT + anti-VEGF	5	1 522	1,33 (1,09 - 1,62)	0,004	76 %	p = 0,003
			CT	3	966	1,55 (1,20 - 2,02)	< 0,001	68 %	p = 0,05
SORICH (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} à 3 ^e intention	MSS + anti-EGFR CT + anti-EGFR	MSS CT	6	1 932	3,71 (2,16 - 6,36)	< 0,001	n. d.	n. d.
KHATTAK (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} intention	CT + anti-EGFR	CT + anti-VEGF	3	1 103	1,46 (1,13 - 1,90)	0,004	n. d.	n. s.

Sigles et abréviations : CCRm : cancer colorectal métastatique; CT : chimiothérapie; ERC : essai randomisé contrôlé; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RC : rapport de cotes; RR : risque relatif

4.3.2 Effets d'un traitement anti-EGFR chez les personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes RAS est positif, évalués par méta-analyse

Sorich et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 7 ERC de patients soumis à un traitement anti-EGFR en première, deuxième ou troisième intention, administré seul ou combiné à la chimiothérapie, comparativement à un traitement de chimiothérapie seule ou aux meilleurs soins de soutien [Sorich *et al.*, 2015]. Selon les analyses regroupées de Sorich [2015], la présence d'une mutation dans les gènes *RAS*, soit le profil *RAS*+, est prédictif d'un effet délétère du traitement anti-EGFR seul ou combiné, et ce, peu importe l'intention de traitement (voir les tableaux 5 et 6).

Therkildsen et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une revue systématique avec méta-analyse à partir de 22 études de cohorte de patients atteints d'un CCRm soumis à un traitement anti-EGFR et dont les données concernant le profil de mutation dans plusieurs gènes, dont *KRAS* et *NRAS*, et celles sur les résultats cliniques étaient disponibles [Therkildsen *et al.*, 2014]. Selon les analyses regroupées de Therkildsen [2014], le profil *RAS*+ est prédictif d'un effet délétère du traitement anti-EGFR, qui se traduit par :

- une augmentation du risque de décès de 85 % (voir le tableau 5);
- une augmentation du risque de progression de 130 % (voir le tableau 6);
- une réduction de la probabilité de régression tumorale complète ou partielle de 80 % (voir le tableau 7).

Tableau 5 Effets d'un traitement anti-EGFR sur la survie globale des personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est positif, évalués par méta-analyse

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES				N PATIENTS <i>RAS</i> +	SURVIE GLOBALE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
	ÉTUDES PRIMAIRES	GROUPE À L'ÉTUDE	GROUPE TÉMOIN	N		RRI (IC95 %)	VALEUR DE P	I ²	TEST Q
THERKILDSEN (2014)	Cohortes 1 ^{re} à 3 ^e intention	anti-EGFR	Ø anti-EGFR	2	n. d.	1,85 (1,23 - 2,78)	n. d.	0 %	p = 0,77
SORICH (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} à 3 ^e intention	MSS + anti-EGFR CT + anti-EGFR	MSS CT	6	2 513	1,08 (0,97 - 1,21)	0,14	19 %	p = 0,29

Sigles et abréviations : CCRm : cancer colorectal métastatique; CT : chimiothérapie; ERC : essai randomisé contrôlé; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport des risques instantanés

Tableau 6 Effets d'un traitement anti-EGFR sur la survie sans progression des personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est positif, évalués par méta-analyse

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES				N PATIENTS <i>RAS</i> +	SURVIE SANS PROGRESSION		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
	ÉTUDES PRIMAIRES	GROUPE À L'ÉTUDE	GROUPE TÉMOIN	N		RRI (IC95 %)	VALEUR DE P	I ²	TEST Q
THERKILDSEN (2014)	Cohortes 1 ^{re} à 3 ^e intention	anti-EGFR	Ø anti-EGFR	2	n. d.	2,30 (1,30 - 4,07)	n. d.	30 %	p = 0,23
SORICH (2015)	ERC phases II-III 1 ^{re} à 3 ^e intention	MSS + anti-EGFR CT + anti-EGFR	MSS CT	6	1 932	1,12 (0,94 - 1,34)	0,20	63 %	p = 0,02

Sigles et abréviations : CCRm : cancer colorectal métastatique; CT : chimiothérapie; ERC : essai randomisé contrôlé; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport des risques instantanés

Tableau 7 Effets d'un traitement anti-EGFR sur la réponse tumorale objective des personnes atteintes d'un CCRm dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est positif, évalués par méta-analyse

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES				N PATIENTS <i>RAS</i> +	RÉPONSE TUMORALE OBJECTIVE		HÉTÉROGÉNÉITÉ	
	ÉTUDES PRIMAIRES	GROUPE À L'ÉTUDE	GROUPE TÉMOIN	N		RC (IC95 %)	VALEUR DE P	I ²	TEST Q
THERKILDSEN (2014)	Cohortes 1 ^{re} à 3 ^e intention	anti-EGFR	Ø anti-EGFR	2	382	0,20 (0,04 - 1,07)	n. s.	0 %	p = 0,37

Sigles et abréviations : CCRm : cancer colorectal métastatique; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique) RC : rapport de cotes.

4.3.3 Effets d'un traitement anti-EGFR chez les personnes atteintes d'un CCRm en fonction du profil de mutations dans les gènes *RAS*, évalués par ERC.

Les revues systématiques avec méta-analyse présentées dans la section précédente ont permis de comparer les résultats de plusieurs ERC de phase II ou III ayant rapporté des

données d'efficacité clinique en fonction du profil de mutations dans les gènes *RAS*. Parmi les traitements à l'étude, l'anti-EGFR a été utilisé en première intention dans 6 études (voir les tableaux 8 et 10) et en deuxième ou troisième intention dans 3 études (voir les tableaux 9 et 11). Les tableaux 8 et 9 résument les effets mesurés chez les patients dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est négatif alors que les tableaux 10 et 11 présentent les résultats des patients dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est positif. Les résultats obtenus à la suite des analyses du profil de mutation dans les gènes *RAS*, effectuées auprès de personnes atteintes d'un CCRm traitées par chimiothérapie en combinaison avec un anti-EGFR, montrent que la population pouvant tirer un avantage du traitement ciblé doit être évaluée en considérant le profil de mutation dans les gènes *KRAS* et *NRAS*.

Parmi les études pivots incluses dans les méta-analyses citées plus haut, on remarque l'étude PRIME, dont l'objectif principal était d'évaluer le bénéfice clinique associé à l'ajout du panitumumab au FOLFOX en première intention chez 512 patients qui ne présentaient aucune mutation dans les gènes *KRAS* et *NRAS* [Douillard *et al.*, 2013]. Les résultats montrent que l'ajout du panitumumab a été associé à une amélioration significative des valeurs médianes de survie sans progression (SSP), soit 10,1 mois contre 7,9 mois, et de survie globale (SG), soit 25,8 mois contre 20,2 mois. À l'inverse, parmi les 108 patients qui présentaient une mutation dans les gènes *RAS* (*RAS*+), un effet délétère significatif a été associé à la prise du panitumumab.

L'étude PEAK, également considérée comme une étude pivot, avait pour principal objectif d'évaluer l'ajout du panitumumab au FOLFOX6 comparé à l'ajout du bévacizumab au FOLFOX en première intention de traitement d'un CCRm [Schwartzberg *et al.*, 2014]. L'étude a montré que les patients au profil *RAS*- du groupe traité au panitumumab affichaient une médiane de SSP significativement plus élevée que celle du groupe traité au bévacizumab, soit 13,0 mois contre 9,5 mois. En ce qui a trait à la SG, les résultats se sont avérés meilleurs chez les patients au profil *RAS*- ayant reçu l'anti-EGFR, soit des médianes de 41,3 mois contre 28,9 mois, sans toutefois atteindre un seuil statistiquement significatif.

L'étude OPUS a évalué l'efficacité clinique du FOLFOX combiné au cétuximab en première intention pour traiter un CCRm [Bokemeyer *et al.*, 2015]. Les résultats ont montré que l'absence de mutation dans les gènes *KRAS* et *NRAS* était associée à une amélioration des valeurs médianes de SSP, soit 12,0 mois contre 5,8 mois respectivement, par rapport à celles du groupe ayant reçu le FOLFOX seulement. Ces données indiquent un gain de 6,2 mois alors que les résultats initiaux, calculés relativement au profil *KRAS*- seulement, montraient une amélioration de la SSP de 1,1 mois (8,3 mois contre 7,2 mois). L'étude OPUS montre également un effet délétère de l'anti-EGFR dans la population ayant un profil *RAS*+. En effet, l'ajout du cétuximab à la chimiothérapie est associé à une réduction significative de la SSP, soit 5,6 mois contre 7,8 mois.

Finalement, l'étude CRYSTAL avait pour objectif d'évaluer les effets cliniques associés à l'ajout du cétuximab au FOLFIRI comparé au FOLFIRI seul, en première intention de traitement d'un CCRm [Van Cutsem *et al.*, 2015]. Les analyses ont montré que les patients au profil *RAS*- du groupe traité avec cétuximab et FOLFIRI affichaient une médiane de SSP significativement plus élevée que celle du groupe traité au FOLFIRI seul, soit 11,4 mois contre 8,4 mois. La même observation a été faite relativement aux médianes de SG, soit 28,4 mois contre 20,2 mois.

Tableau 8 Effets d'un traitement anti-EGFR de première intention chez les personnes atteintes d'un CCRm ayant un profil négatif de mutation dans les gènes RAS, évalués par ERC

ÉTUDE	TRAITEMENTS À L'ÉTUDE ET TÉMOIN	N PATIENTS RAS-	SURVIE	
			MÉDIANES (MOIS); RRI (IC95 %)	
			Survie sans progression	Survie globale
PRIME Phase III Douillard <i>et al.</i> , 2013	FOLFOX ± panitumumab	512	10,1 c. 7,9 0,72 (0,58 - 0,90); p = 0,004	25,8 c. 20,2 0,77 (0,64 - 0,94); p = 0,009
PEAK Phase II Schwartzberg <i>et al.</i> , 2014	FOLFOX + panitumumab ou bévacicumab	170	13,0 c. 9,5 0,65 (0,44 - 0,96); p = 0,029	41,3 c. 28,9 0,63 (0,39 - 1,02); p = 0,058
OPUS Phase II Bokemeyer <i>et al.</i> , 2015	FOLFOX ± cétuximab	87	12,0 c. 5,8 0,53 (0,27 - 1,04); p = 0,062	19,8 c. 17,8 0,94 (0,56 - 1,56); n. s.
FIRE-3 Phase III Heinemann <i>et al.</i> , 2014	FOLFIRI + cétuximab ou bévacicumab	475	10,4 c. 10,2 0,93 (0,74 - 1,17); n. s.	33,1 c. 25,6 0,70 (0,53 - 0,92); p = 0,011
CRYSTAL Phase III Van Cutsem <i>et al.</i> , 2015	FOLFIRI ± cétuximab	367	11,4 c. 8,4 0,56 (0,41 - 0,76); p < 0,001	28,4 c. 20,2 0,69 (0,54 - 0,88); p = 0,002
CALGB/SWOG 80405 Phase III Venook <i>et al.</i> , 2014	FOLFOX; FOLFIRI + cétuximab ou bévacicumab	526	11,4 c. 11,3 1,10 (0,90 - 1,30); n. s.	32,0 c. 31,2 0,90 (0,70 - 1,10); n. s.

Sigles et abréviations : c. : contre; IC : intervalle de confiance à 95 %; N : nombre; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport de risques instantanés

Tableau 9 Effets d'un traitement anti-EGFR de deuxième ou troisième intention chez les personnes atteintes d'un CCRm ayant un profil négatif de mutation dans les gènes RAS, évalués par ERC

ÉTUDE	TRAITEMENTS À L'ÉTUDE ET TÉMOIN	N PATIENTS RAS-	SURVIE	
			MÉDIANES (MOIS); RRI (IC95 %)	
			Survie sans progression	Survie globale
20050181 Phase III Peeters <i>et al.</i> , 2014	FOLFIRI ± panitumumab	421	6,4 c. 4,6 0,70 (0,54 - 0,91); p = 0,007	16,2 c. 13,9 0,81 (0,63 - 1,03); n. s.
PICCOLO Seymour <i>et al.</i> , 2013	Irinotécan ± panitumumab	415	n. d. 0,77 [0,62 - 0,96]; n. d.	n. d. 0,97 [0,79 - 1,18]; n. d.
20020408 Peeters <i>et al.</i> , 2013	MSS ± panitumumab	138	n. d. 0,39 [0,27 - 0,56]; p < 0,001	n. d. 1,03 (0,71 - 1,48); n. s.

Sigles et abréviations : c. : contre; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport de risques instantanés

Tableau 10 Effets d'un traitement anti-EGFR de première intention chez les personnes atteintes d'un CCRm ayant un profil positif de mutation dans les gènes RAS, évalués par ERC

ÉTUDE	TRAITEMENTS À L'ÉTUDE ET TÉMOIN	N PATIENTS RAS+	SURVIE	
			MÉDIANES (MOIS); RRI (IC95 %)	
			Survie sans progression	Survie globale
PRIME Phase III Douillard <i>et al.</i> , 2013	FOLFOX ± panitumumab	548	7,3 c. 8,7 1,31 (1,07 - 1,60); p = 0,008	15,6 c. 19,2 1,25 (1,02 - 1,55); p = 0,034
OPUS Phase II Bokemeyer <i>et al.</i> , 2015	FOLFOX ± cétuximab	167	5,6 c. 7,8 1,54 (1,09 - 2,29); p = 0,039	13,5 c. 17,8 1,29 (0,91 - 1,84); n. s.
FIRE-3 Phase III Heinemann <i>et al.</i> , 2014	FOLFIRI + cétuximab ou bévacicumab	178	7,5 c. 10,1 1,31 (0,96 - 1,78); n. s.	20,3 c. 20,6 1,09 (0,78 - 1,52); n. s.
CRYSTAL Phase III Van Cutsem <i>et al.</i> , 2015	FOLFIRI ± cétuximab	460	7,4 c. 7,5 1,10 (0,85 - 1,42); n. s.	16,4 c. 17,7 1,05 (0,86 - 1,28); n. s.

Sigles et abréviations : c. : contre; IC95 : intervalle de confiance; N : nombre; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport de risques instantanés

Tableau 11 Effets d'un traitement anti-EGFR de deuxième ou troisième intention chez les personnes atteintes d'un CCRm ayant un profil positif de mutation dans les gènes RAS, évalués par ERC

ÉTUDE	TRAITEMENTS À L'ÉTUDE ET TÉMOIN	N PATIENTS RAS+	SURVIE	
			MÉDIANES (MOIS); RRI (IC95 %)	
			Survie sans progression	Survie globale
20050181 Peeters <i>et al.</i> , 2014	FOLFIRI ± panitumumab	593	4,8 c. 4,0 0,86 (0,71 - 1,05); n. s.	11,8 c. 11,1 0,91 (0,76 - 1,10); n. s.
PICCOLO Seymour <i>et al.</i> , 2013	Irinotécan ± panitumumab	148	n. d. 1,22 [0,85 - 1,76]; n. s.	n. d. 1,22 [0,85 - 1,76]; n. s.
20020408 Peeters <i>et al.</i> , 2013	MSS ± panitumumab	213	n. d. 0,97 [0,73 - 1,29]; n. s.	n. d. 1,06 [0,79 - 1,42]; n. s.

Sigles et abréviations : c. : contre; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; MSS : meilleurs soins de soutien; N : nombre; n. d. : (donnée) non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RRI : rapport de risques instantanés

4.4 Validité analytique

Les données de validité analytique fournies par la compagnie EntroGen, Inc. (manuel du fabricant) sont présentées brièvement. Les performances analytiques de la trousse ont été validées relativement aux appareils de PCR en temps réel suivants : ABI StepOne, 7500 Fast, Qiagen Rotor-Gene^{MC} et Roche LightCycler 480^{MC}.

Limite de détection

Il est nécessaire d'effectuer la PCR sur approximativement 20 ng d'ADN. L'analyse de contrôle interne devrait donner une valeur de Ct variant de 26 à 31⁶. Une mutation présente dans seulement 1 % des séquences pourrait ne pas être détectée si la valeur de Ct de l'analyse de contrôle interne de l'échantillon est supérieure à 31.

⁶ Ct est l'abréviation de l'anglais *cycle threshold* se traduisant par « cycle du seuil ».

Répétabilité

La répétabilité de l'analyse a été établie en utilisant des échantillons témoins enrobés de paraffine et des échantillons témoins synthétiques. Les expériences ont été réalisées à partir de dilutions indépendantes de l'échantillon et de 2 lots de réactifs différents. Le tableau 12 présente les valeurs de Ct moyennes obtenues sur 18 répétitions en 3 jours.

Tableau 12 Répétabilité de la trousse *NRAS* Mutation Analysis Kit rapportée par le fabricant EntroGen, Inc.

Mutation	Valeur de Ct : FAM ^{MC} (écart-type)	Valeur de Ct : VIC ^{MC} (écart-type)
G12D	26,88 (0,0301)	24,34 (0,0453)
G12S	27,36 (0,0548)	24,24 (0,0895)
G12C	26,97 (0,0429)	24,33 (0,0156)
G13R	27,37 (0,1671)	24,30 (0,0632)
G13V	27,37 (0,121)	24,36 (0,0115)
Q61K	27,47 (0,0325)	24,35 (0,0613)
Q61L	27,87 (0,0815)	24,40 (0,0438)
Q61R	26,74 (0,0632)	24,33 (0,0349)
Q61H	27,24 (0,1354)	24,54 (0,033)
A146T	27,84 (0,8917)	24,35 (0,0158)

La précision

La précision de l'analyse a été établie à partir de l'ADN isolé de 121 échantillons de tumeurs colorectales enrobés de paraffine et de 5 lignées cellulaires comportant des mutations connues dans le gène *KRAS* ou dans le gène *BRAF*. L'expérience a été répétée 2 fois et les résultats ont été comparés à ceux obtenus par le séquençage bidirectionnel du même échantillon. Les résultats sont résumés dans le tableau 13 qui suit.

Tableau 13 Précision de la trousse *NRAS* Mutation Analysis Kit rapportée par le fabricant EntroGen, Inc.

MUTATION	PCR EN TEMPS RÉEL (N = 121)	SÉQUENÇAGE (N = 121)
Aucune	91	91
G12D	2	2
G12S	1	1
G12C	0	0
G13R	1	1
G13V	1	1
Q61K	10	10
Q61L	2	2
Q61R	13	13
Q61H	0	0
A146T	0	0

Réactivité croisée

Pour déterminer la réactivité croisée des amorces de PCR, celles-ci ont été évaluées sur des échantillons témoins synthétiques dilués à 20 % par la mesure des valeurs de Ct sur un appareil ABI 7500 Fast (voir le tableau 14).

Tableau 14 Réactivité croisée des amorces de la trousse *NRAS* Mutation Analysis Kit rapportée par le fabricant EntroGen, Inc.

AMORCE	G12D	G12S	G12C	G13R	G13V	Q61K	Q61L	Q61R	Q61H	A146T
G12D	29,85									
G12S		32,73								
G12C			31,63							
G13R				30,15						
G13V					31,62					
Q61K						32,38				
Q61L							29,85		35,73	
Q61R								33,05		
Q61H									30,9	
A146T										31,29

Note : La réactivité croisée peut différer si la matrice d'ADN a été isolée à partir d'échantillons tumoraux enrobés de paraffine.

Limite des blancs

Plusieurs lots de réactifs ont été utilisés au cours d'essais conçus pour évaluer l'ampleur du signal émis en absence de matrice d'ADN (bruit de fonds). Aucun signal en provenance des amorces destinées à l'amplification du gène témoin ou du gène *NRAS* n'a été enregistré.

Le demandeur a également fourni des données internes de validation⁷. Le tableau ci-dessous (rédigé en anglais) fournit les détails de ce qui a été réalisé :

Accuracy

TEST NAME	Mutation Analysis of Exons 2,3, and 4 of the <i>N-Ras</i> Oncogene
AIMS	To compare samples with and without mutations by 2 different methods, namely High Resolution Melting (HRM) and the Entrogen N-RAS kit.
SAMPLES	32 previously tested BRAF negative samples were screened by HRM to look for N-Ras mutation positive samples.
METHODOLOGY	Positive samples are sequenced for confirmation and characterization. These positive samples and some negative samples, identified by HRM are then tested using the Entrogen N-Ras kit.
EXPERIMENTAL RESULTS	One exon 2 mutation was found: G12D. Two exon 3 mutations were found: 2x Q61R. No exon 4 mutation was found by HRM. All 3 mutations were detected by the Entrogen kit. All negative samples tested negative by the Entrogen kit.

⁷ Transmis à l'INESSS par George Chong, Ph. D., le 27 janvier 2015.

INTERPRETATION	The Entrogen kit can accurately identify positive and negative samples.
OUTCOME/LIMITATIONS	- There is still the need to validate accuracy for the detection of all 10 mutations detectable by the EntroGen kit. Due to the rarity of some mutations and non-availability of commercial standards, this is an on-going process and both HRM and the EntroGen kit are run in parallel. - Standards from Horizon Dx will be used to complete accuracy validation as they become available commercially.

Limit of detection

TEST NAME	Mutation Analysis of Exons 2,3, and 4 of the <i>N-Ras</i> Oncogene
AIMS	To determine the limit of detection (LOD) of the EntroGen N-Ras kit for the exon 3 mutation Q61K
SAMPLES	Q61K Standard from Horizon Diagnostics (Cambridge, UK) at dilutions of 5%, 1% and 0.5%.
METHODOLOGY	Dilute 5% Stock Standard with 100% WT DNA. 5% ----- use undiluted 1% ----- 2uL 5% Q61K + 8uL WT 0.5% ----- 1uL 5% Q61K + 9uL WT
EXPERIMENTAL RESULTS	Refer to Table 1.
INTERPRETATION	LOD established at 1% at a Ct value of <40 on the Roche LC 480.

Ct values of the 3 dilutions of Q61K for 4 test runs

	Q61K 5%	Q61K 1%	Q61K 0.5%
Run #1 VIC	28.63	28.58	28.67
Run #2 VIC	28.48	28.48	28.69
Run #3 VIC	28.57	28.61	28.73
Run #4 VIC	28.63	28.48	28.73
Run #1 FAM Pos Ctrl 27.74	35.79	39.40	43.03
Run #2 FAM Pos Ctrl 27.22	37.45	40.20	40.74
Run #3 FAM Pos Ctrl 27.61	36.22	38.73	39.75
Run #4 FAM Pos Ctrl 27.69	34.91	38.84	39.50
Mean	36.09	39.29	40.76

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'évaluation de l'impact budgétaire tient compte des coûts associés à l'introduction dans le *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS* par TAAN en temps réel.

Aux fins de cette évaluation, deux scénarios ont été retenus. Le premier concerne l'usage du cétuximab ou du panitumumab en monothérapie dans le traitement en troisième intention du CCRm exprimant l'EGFR. Le second porte sur l'usage du panitumumab combiné au FOLFOX dans le traitement des patients atteints d'un CCRm ayant un profil *RAS*- qui n'ont reçu aucun traitement antérieur (première intention). Cette nouvelle indication de traitement est actuellement en cours d'évaluation par la Direction de l'évaluation des médicaments aux fins d'inscription à l'INESSS. L'évaluation détaillée de l'impact budgétaire de ce scénario sera donc présentée dans un avis au ministre rédigé par cette direction.

Les deux scénarios reposent principalement sur les éléments suivants :

- On estime que 2 079 patients atteints de CCRm seraient admissibles à recevoir un traitement de première intention, pour chacune des 3 premières années suivant l'introduction de l'analyse proposée dans le *Répertoire*. Cette estimation repose sur les données suivantes :
 - 6 600 personnes auraient obtenu un diagnostic de CCR en 2015;
 - 35 % de ces personnes présenteraient d'emblée ou éventuellement une maladie métastatique;
 - 90 % des patients atteints d'un CCRm seraient admissibles à recevoir une thérapie (10 % présentent une tumeur ou des métastases non résécables);
 - aucune augmentation du taux d'incidence n'est envisagée dans les trois années suivant l'introduction de l'analyse proposée dans le *Répertoire*.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur concernant la recherche de mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS* par TAAN en temps réel est de 201,5 et elle est de 94 concernant l'analyse du profil du gène *KRAS* (voir la section 3.6).

Scénario 1

Traitement anti-EGFR de troisième intention pour traiter les patients atteints de CCRm

Ce scénario repose sur les éléments suivants :

- La recherche de mutations dans le gène *NRAS* est effectuée chez 624 patients, compte tenu que 30 % des patients ayant reçu un traitement de première intention en recevront un de troisième intention éventuellement.
- La recherche de mutations dans le gène *KRAS* est actuellement réalisée chez tous ces patients.
- La prévalence de mutations dans le gène *NRAS* est d'environ 7 %.
- La médiane de survie sans progression (SSP) d'un patient dont le profil de mutation dans le gène *NRAS* est positif est estimée à 16 semaines. De plus, 75 % des patients reçoivent le panitumumab et 25 % reçoivent le cétuximab.

Tableau 15 Coûts directs associés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse proposé (recherche de mutations ciblées dans le gène *NRAS* par TAAN en temps réel)

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre prévu d'analyses	624	624	624	1 872
Coûts de l'introduction de l'analyse	125 736 \$	125 736 \$	125 736 \$	377 208 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces éléments et du fait que la recherche de mutations dans le gène *NRAS* par TAAN serait réalisée avant l'administration du traitement de troisième intention, les coûts associés à l'introduction de l'analyse proposée dans le *Répertoire* sont estimés à 125 736 \$, chaque année, dans les trois premières années, soit un total de 377 208 \$.

Par ailleurs, en considérant que les anti-EGFR ne seraient pas administrés en traitement de troisième intention aux patients dont le profil de mutation dans le gène *NRAS* est positif, une économie annuelle de 930 270 \$ est à prévoir dans les trois premières années, soit un total de 2 790 810 \$. Toutefois, comme ces patients recevront un autre traitement, ces économies seront moindres.

Scénario 2

Usage du panitumumab combiné au FOLFOX en traitement de première intention des patients atteints de CCRm – Évaluation conjointe par la Direction de l'évaluation des médicaments aux fins d'inscription (DEMFI) de l'INESSS.

Ce scénario repose sur les éléments suivants :

- La recherche de mutations dans le gène *NRAS* sera effectuée chez les 2 079 patients admissibles à un traitement de première intention.
- La recherche de mutations dans le gène *KRAS* sera aussi réalisée chez ces 2 079 patients, ce qui représente 1 455 analyses de plus que les 624 analyses actuellement effectuées avant l'administration d'un traitement de troisième intention.

Tableau 16 Coûts directs associés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse proposée (recherche de mutations dans le gène *NRAS* par TAAN en temps réel) et à l'augmentation du nombre d'analyses du profil de mutation dans le gène *KRAS*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyse du profil de mutation dans le gène <i>NRAS</i>				
Nombre prévu d'analyses	2 079	2 079	2 079	6 237
Coûts de l'introduction de l'analyse	418 919 \$	418 919 \$	418 919 \$	1 256 757 \$
Analyse du profil de mutation dans le gène <i>KRAS</i>				
Nombre prévu d'analyses additionnelles	1 455	1 455	1 455	6 237
Coûts	136 770 \$	136 770 \$	136 770 \$	410 310 \$
Analyse du profil de mutation dans les gènes <i>NRAS</i> et <i>KRAS</i>				
Coût total	555 689 \$	555 689 \$	555 689 \$	1 667 067 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations et du fait que la recherche de mutations dans le gène *NRAS* par TAAN serait réalisée chez tous les patients atteints de CCRm admissibles à un traitement de première intention, les coûts associés à l'introduction de l'analyse proposée dans le *Répertoire* sont estimés à 418 919 \$ chaque année, dans les trois premières années, soit un total de 1 256 757 \$. De plus, comme l'analyse du profil de mutation dans le gène *KRAS* est actuellement effectuée avant le traitement de troisième intention uniquement, il faut prévoir des coûts annuels additionnels de 136 770 \$ dans les trois premières années, soit un total de 410 310 \$.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Actuellement, au Québec, les critères d'admissibilité à un traitement anti-EGFR d'un patient atteint de CCRm comprennent seulement le profil négatif de mutation dans le gène *KRAS*. Les experts mentionnent que ce sont essentiellement les codons 12 et 13 de l'exon 2 qui sont analysés, bien que cette information ne soit pas mentionnée.

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

Programme pancanadien d'évaluation des médicaments oncologiques (pCODR) de l'Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé (ACMTS) – Le 3 décembre 2015, le pCODR recommande de rembourser le panitumumab combiné au FOLFOX en première intention de traitement des CCRm dont les gènes *RAS* ne présentent aucune mutation, à la condition que le ratio coût-efficacité atteigne un niveau acceptable⁸. En mars 2015, l'European Medicines Agency, a publié, dans l'European Public Assessment Report (EPAR), les indications reconnues du panitumumab dans le traitement des CCRm. Le

⁸ pan-Canadian Oncology Drug Review (pCODR). Final recommendation for Panitumumab (Vectibix). 2015. Disponible à : https://www.cadth.ca/sites/default/files/pcodr/pcodr_panitumumab_vectibix_mcrn_fn_rec.pdf.

résumé mentionne entre autres que le profil négatif de mutation dans les gènes *RAS* (*KRAS* et *NRAS*) du patient doit être confirmé par un laboratoire reconnu et une méthode validée avant que le patient soit admissible à recevoir le médicament⁹.

Les nouvelles directives de l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) adoptées en juillet 2015 stipulent que la recherche, sur un échantillon tumoral, de mutations dans les gènes *KRAS* et *NRAS*, aux exons 2 (codons 12 et 13), 3 (codons 59 et 61) et 4 (codons 117 et 146), de tous les patients admissibles à recevoir un traitement anti-EGFR devrait être effectuée dans un laboratoire certifié. L'ASCO juge que les données probantes actuelles indiquent qu'un traitement anti-EGFR devrait être considéré uniquement pour traiter des patients dont la tumeur ne présente aucune mutation dans les gènes *RAS* [Allegra *et al.*, 2016].

Selon le guide de pratique du National Comprehensive Cancer Network (NCCN) adopté en novembre 2015 [NCCN, 2016] :

- La recherche de mutations somatiques dans les gènes *RAS* (*NRAS* et *KRAS*) de tous les patients atteints d'un CCRm devrait être effectuée.
- Le traitement des patients chez lesquels une mutation dans le gène *KRAS* ou dans le gène *NRAS* a été détectée à la suite du génotypage du tissu tumoral ne devrait pas comporter de cétuximab ou de panitumumab.
- L'analyse du profil de mutation devrait être réalisée seulement dans des laboratoires certifiés par la réglementation CLIA-88 relativement à la réalisation d'analyses de pathologie moléculaire complexes. Toutefois, aucune méthodologie spécifique n'est favorisée.
- Le génotypage peut être réalisé sur des tissus enrobés de paraffine, autant sur un échantillon de la tumeur primaire que sur des métastases, car les études ont montré que les mutations dans les gènes *RAS* et *RAF* sont semblables dans les deux types d'échantillons.

L'Association of Clinical Pathologists Molecular Pathology and Diagnostics Group a publié les recommandations suivantes concernant l'analyse du profil de mutation dans les gènes *RAS* des tumeurs colorectales [Wong *et al.*, 2014]:

- L'analyse du profil de mutation dans les gènes *RAS* devrait comprendre au moins les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 du gène *KRAS* et les codons 12, 13, 59 et 61 du gène *NRAS*.
- Un corridor de services entre les centres de traitement et le laboratoire spécialisé devrait être mis en place afin de favoriser un génotypage rapide et robuste des échantillons tumoraux.
- Les échantillons provenant d'une tumeur primaire ou de métastases peuvent servir à l'analyse du profil de mutation dans les gènes *RAS*.
- Les échantillons de résection chirurgicale devraient avoir priorité sur ceux provenant d'une biopsie.

⁹ European Medicines Agency (EMA). EPAR summary for the public : Vectibix panitumumab. 2015. Disponible à : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000741/WC500047704.pdf.

- La quantité minimale de cellules tumorales nécessaires à l'analyse du profil de mutation dans les gènes *RAS* devrait être équivalente à deux fois la limite de détection de l'essai.
- Le temps de réponse devrait être inférieur à 7 jours ouvrables, de la réception de l'échantillon au laboratoire jusqu'à la production du rapport final d'anatomopathologie, et ce, pour 90 % des échantillons.
- La validation de l'analyse proposée devrait être réalisée et documentée avant d'offrir le test en clinique.
- Au minimum, les échantillons témoins suivants devraient être inclus pour chaque analyse : un échantillon contenant une mutation, un autre sans mutation et un dernier sans matrice d'ADN.
- Les laboratoires devraient revoir les résultats en audit afin de s'assurer que la proportion des cas qui présentent des mutations par rapport aux cas sans mutation, concernant chaque gène et chaque position à l'analyse, respecte les données publiées. En cas de discordance, la validité de l'essai devrait être vérifiée à chaque étape de l'analyse.
- Les laboratoires qui offrent le service de génotypage des gènes *RAS* devraient participer à des programmes reconnus d'assurance qualité et démontrer leur conformité.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Selon les cohortes et les méthodes de détection utilisées, de 5 % à 10 % des tumeurs colorectales présentent une mutation somatique additionnelle dans les exons 3 et 4 du gène *KRAS*; ce qui s'ajoute aux 40 % de mutations détectées de routine dans l'exon 2 du gène *KRAS*. De plus, jusqu'à 7 % des personnes atteintes d'un CCRm présentent des mutations somatiques dans le gène *NRAS*. Au total, de 55 % à 60 % des tumeurs colorectales présentent maintenant ces mutations. Bien que les données cliniques proviennent essentiellement d'études rétrospectives appuyées par des essais randomisés contrôlés (ERC), elles sont toutes concordantes et confirment l'absence d'avantage du traitement anti-EGFR chez les patients dont le profil de mutation dans les gènes *RAS* est positif (*RAS+*).

Globalement, lorsque le recours à un anti-EGFR est envisagé dans le traitement des personnes atteintes d'un CCRm, l'absence de mutations somatiques dans les gènes *KRAS* et *NRAS* est associée à un avantage clinique potentiel qui se traduit par :

- une augmentation de la probabilité de régression tumorale allant jusqu'à 3,71 fois;
- une réduction du risque de progression allant jusqu'à 38 %;
- une réduction du risque de décès allant jusqu'à 23 %.

Toutefois, lorsque la présence d'une mutation dans un des deux gènes est confirmée, l'utilisation d'un anti-EGFR combiné au FOLFOX est associée à un effet délétère potentiel pour le patient, qui se traduit par une augmentation significative des risques de progression et de décès.

Les résultats obtenus à la suite des analyses du profil de mutation dans les gènes *RAS*, effectuées chez des personnes atteintes d'un CCRm traitées par chimiothérapie combinée à un anti-EGFR lors d'ERC, fournissent la preuve que le raffinement des critères de sélection des patients qui pourraient tirer un avantage du traitement ciblé doit être effectué en considérant le profil de mutation dans les gènes *KRAS* et *NRAS*. En effet, les études PRIME, PEAK, OPUS et CRYSTAL montrent que les avantages cliniques des anti-EGFR se limitent aux personnes dont le profil négatif de mutation dans les gènes *RAS* est confirmé. Les études PRIME et OPUS montrent un effet délétère significatif d'un anti-EGFR lorsque la présence d'une mutation dans le gène *KRAS* ou dans le gène *NRAS* est confirmée.

Les données de validation technique présentées par le fabricant ont respecté les normes de l'Union européenne concernant le marquage CE-IVD. Selon les données fournies par le demandeur, il semble que la trousse réponde aux exigences en matière de robustesse analytique.

Il est maintenant établi par Santé Canada, le NCCN et l'ASCO que le recours aux anti-EGFR dans le traitement d'un CCRm implique l'analyse du profil de mutation dans les gènes *RAS*, soit le gène *KRAS* et le gène *NRAS*.

9 RECOMMANDATIONS DE L'INESSS

Recherche de mutations ciblées dans le gène *NRAS* dans les tumeurs colorectales métastatiques (exons 2, 3 et 4 : aux codons 12,13, 61 et 146)

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

- ✓ Réévaluation de l'avis publié en avril 2015
- ✓ L'analyse proposée répond à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement par le *Répertoire*.
- ✓ L'analyse est complémentaire à la recherche de mutations dans le gène *KRAS*.
- ✓ Les données analytiques ont été jugées suffisantes.

BIBLIOGRAPHIE

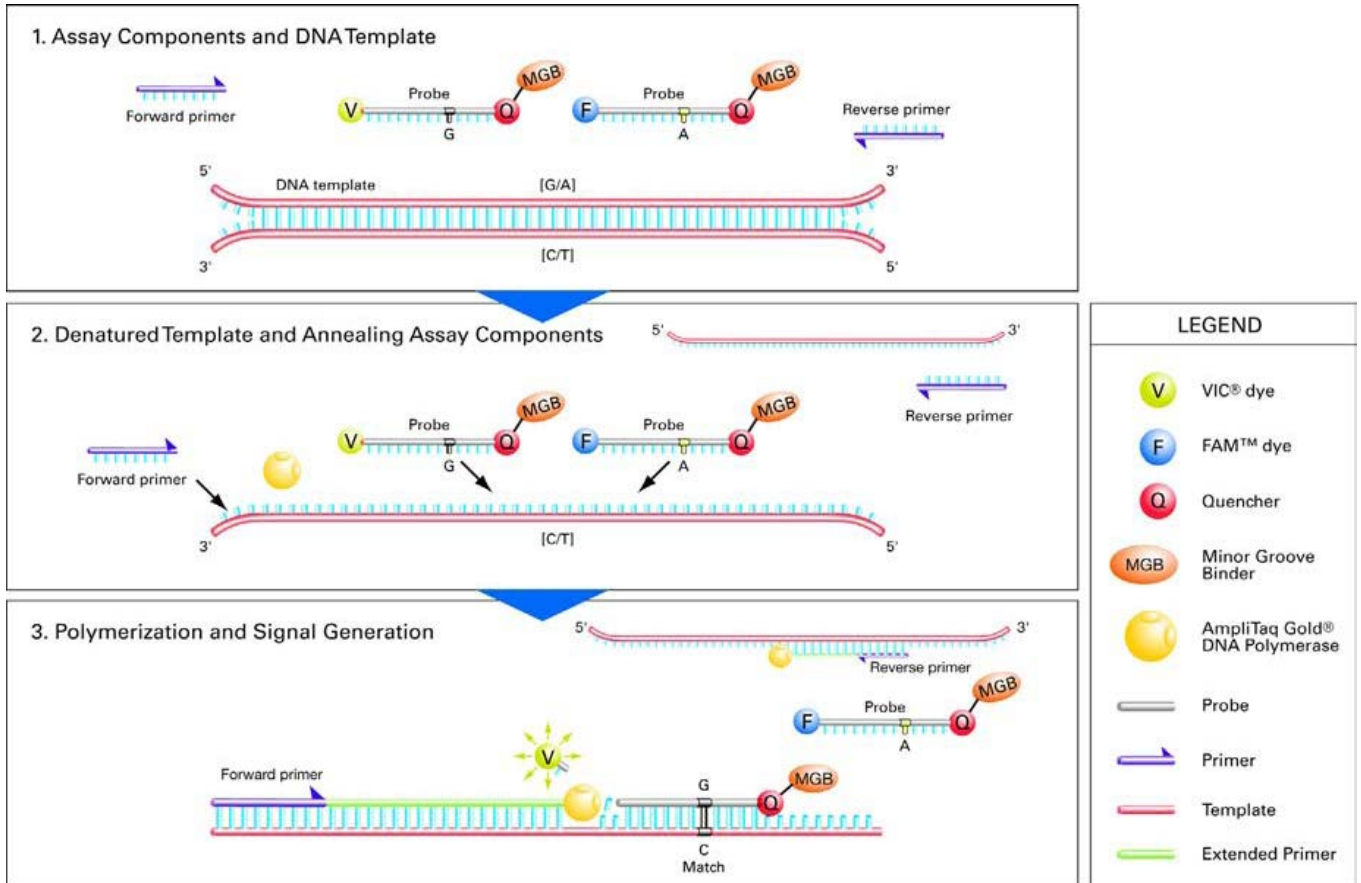
- Allegra CJ, Rumble RB, Hamilton SR, Mangu PB, Roach N, Hantel A, Schilsky RL. Extended RAS gene mutation testing in metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy: American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion update 2015. *J Clin Oncol* 2016;34(2):179-85.
- American Cancer Society (ACS). Cancer facts and figures 2015. Atlanta, GA : ACS; 2015. Disponible à : <http://www.cancer.org/Research/CancerFactsStatistics/cancerfactsfigures2015/cancer-facts-and-figures-2015>.
- Bokemeyer C, Kohne CH, Ciardiello F, Lenz HJ, Heinemann V, Klinkhardt U, et al. FOLFOX4 plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2015;51(10):1243-52.
- College of American Pathologists (CAP). 2016 Surveys and anatomic pathology education programs. Northfield, IL : CAP; 2015. Disponible à : <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/2016-surveys-catalog.pdf>.
- Comité de l'évolution des pratiques en oncologie (CEPO). Utilisation des anticorps monoclonaux de la classe des anti-EGFR pour le traitement de troisième intention ou plus du cancer colorectal métastatique. Québec, Qc : Direction québécoise du cancer; 2011. Disponible à : https://www.bibliotheque.assnat.qc.ca/DepotNumerique_v2/AffichageFichier.aspx?id=118370.
- Cunningham D et Glimelius B. A phase III study of irinotecan (CPT-11) versus best supportive care in patients with metastatic colorectal cancer who have failed 5-fluorouracil therapy. V301 Study Group. *Semin Oncol* 1999;26(1 Suppl 5):6-12.
- De Gramont A, Figer A, Seymour M, Homérin M, Hmissi A, Cassidy J, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18(16):2938-47.
- De Kok JB, Wiegerinck ET, Giesendorf BA, Swinkels DW. Rapid genotyping of single nucleotide polymorphisms using novel minor groove binding DNA oligonucleotides (MGB probes). *Hum Mutat* 2002;19(5):554-9.
- De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: A retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010;11(8):753-62.
- Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013;369(11):1023-34.

- Field K et Lipton L. Metastatic colorectal cancer-past, progress and future. *World J Gastroenterol* 2007;13(28):3806-15.
- Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran SE, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(10):1065-75.
- Keating GM. Panitumumab: A review of its use in metastatic colorectal cancer. *Drugs* 2010;70(8):1059-78.
- Khattak MA, Martin H, Davidson A, Phillips M. Role of first-line anti-epidermal growth factor receptor therapy compared with anti-vascular endothelial growth factor therapy in advanced colorectal cancer: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Colorectal Cancer* 2015;14(2):81-90.
- Livak KJ. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 1999;14(5-6):143-9.
- Mendelsohn J et Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene* 2000;19(56):6550-65.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Colon cancer, Version 2.2016. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- Peeters M, Kafatos G, Taylor A, Gastanaga VM, Oliner KS, Hechmati G, et al. Prevalence of RAS mutations and individual variation patterns among patients with metastatic colorectal cancer: A pooled analysis of randomised controlled trials. *Eur J Cancer* 2015;51(13):1704-13.
- Peeters M, Oliner KS, Price TJ, Cervantes A, Sobrero AF, Ducreux M, et al. Updated analysis of KRAS/NRAS and BRAF mutations in study 20050181 of panitumumab (pmab) plus FOLFIRI for second-line treatment (tx) of metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 2014;32(15 Suppl):abstract 3568.
- Peeters M, Oliner KS, Parker A, Siena S, Van Cutsem E, Huang J, et al. Massively parallel tumor multigene sequencing to evaluate response to panitumumab in a randomized phase III study of metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19(7):1902-12.
- Pietrantonio F, Cremolini C, Petrelli F, Di Bartolomeo M, Loupakis F, Maggi C, et al. First-line anti-EGFR monoclonal antibodies in panRAS wild-type metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015;96(1):156-66.
- Saridaki Z, Georgoulas V, Souglakos J. Mechanisms of resistance to anti-EGFR monoclonal antibody treatment in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2010;16(10):1177-87.
- Sasson AR et Sigurdson ER. Surgical treatment of liver metastases. *Semin Oncol* 2002;29(2):107-18.
- Schirripa M, Cremolini C, Loupakis F, Morvillo M, Bergamo F, Zoratto F, et al. Role of NRAS mutations as prognostic and predictive markers in metastatic colorectal cancer. *Int J Cancer* 2015;136(1):83-90.

- Schwartzberg LS, Rivera F, Karthaus M, Fasola G, Canon JL, Hecht JR, et al. PEAK: A randomized, multicenter phase II study of panitumumab plus modified fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (mFOLFOX6) or bevacizumab plus mFOLFOX6 in patients with previously untreated, unresectable, wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2014;32(21):2240-7.
- Seymour MT, Brown SR, Middleton G, Maughan T, Richman S, Gwyther S, et al. Panitumumab and irinotecan versus irinotecan alone for patients with KRAS wild-type, fluorouracil-resistant advanced colorectal cancer (PICCOLO): A prospectively stratified randomised trial. *Lancet Oncol* 2013;14(8):749-59.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2015. Sujet particulier : prévisions concernant le fardeau futur du cancer au Canada. Toronto, ON : SCC; 2015.
Disponible à :
<http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canada/n%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2015-FR.pdf?la=fr-CA>.
- Sorich MJ, Wiese MD, Rowland A, Kichenadasse G, McKinnon RA, Karapetis CS. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Oncol* 2015;26(1):13-21.
- Therkildsen C, Bergmann TK, Henriksen-Schnack T, Ladelund S, Nilbert M. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol* 2014;53(7):852-64.
- Van Cutsem E, Lenz HJ, Kohne CH, Heinemann V, Tejpar S, Melezinek I, et al. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015;33(7):692-700.
- Vaughn CP, Zobel SD, Furtado LV, Baker CL, Samowitz WS. Frequency of KRAS, BRAF, and NRAS mutations in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2011;50(5):307-12.
- Venook AP, Lenz HJ, Niedzwiecki D, Innocenti F, Blanke C, Mahoney MR, et al. CALGB/SWOG 80405: Phase III trial of irinotecan/5-FU/leucovorin (FOLFIRI) or oxaliplatin/5-FU/leucovorin (mFOLFOX6) with bevacizumab (BV) or cetuximab (CET) for patients (pts) with KRAS wild-type (wt) untreated metastatic adenocarcinoma of the rectum or colon (MCRC). *J Clin Oncol* 2014;32(15 Suppl):abstract LBA3.
- Wong NA, Gonzalez D, Salto-Tellez M, Butler R, Diaz-Cano SJ, Ilyas M, et al. RAS testing of colorectal carcinoma-a guidance document from the Association of Clinical Pathologists Molecular Pathology and Diagnostics Group. *J Clin Pathol* 2014;67(9):751-7.

ANNEXE A

Essai TaqMan^{MC}



(Tiré de Life Technologies. TaqMan[®] SNP genotyping assays. Product Bulletin. 2011. Disponible à : http://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/brochures/cms_040597.pdf)

AUTOANTICORPS ANTINEURONAUX – DÉTECTION DE L'ANTI-PCA2 DANS LES CAS D'ATTEINTE AUTO-IMMUNE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL (RÉFÉRENCE – 2014.03.008)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur :** CHUM – Hôpital Notre-Dame
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre :** 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis :** 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le Dr 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 la validation du présent avis, les experts consultés sont le Dr Martin Savard (neurologue, CHU de Québec) et la Dre Annie Dionne (neurologue spécialisée en maladies neuromusculaires, CHU de Québec).

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

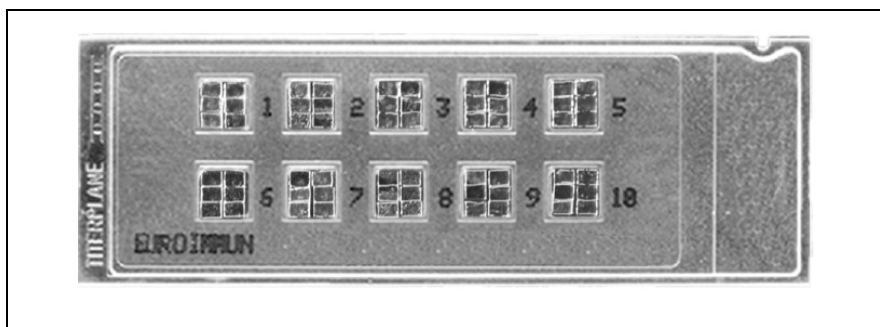
Analyse sérologique des autoanticorps anti-PCA2 par immunofluorescence indirecte sur coupe de tissu (en anglais *tissue-based assay*).

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

La trousse IIFT Neurology Mosaic 14 utilise la technique TITERPLANE^{MC} mise au point par EUROIMMUN (Figure 1), une technologie qui fait appel aux biopuces. Cette technologie consiste à utiliser des lamelles de verre couvertes de coupes de tissus ou de cellules transfectées exprimant la protéine d'intérêt. Ces lamelles sont coupées en fragments de quelques millimètres (biopuces), puis fixées sur une lame et disposées

en groupe (champ) pour en faciliter l'observation au microscope. Selon le format de la trousse, une lame peut contenir de 3 à 10 champs et de 1 à 8 biopuces par champ, ce qui permet l'analyse de plusieurs échantillons et anticorps à la fois.

Figure 1 Schéma d'une lame à biopuces pour immunofluorescence indirecte de EUROIMMUN



Source : EUROIMMUN France. Bio Advance : standardisation et modernisation de l'IFI [site Web], disponible à : <http://www.bio-advance.com/index.php/techniqueifi> (consulté le 3 février 2016).

Les échantillons ou les réactifs sont déposés dans les aires de réaction d'un support de lame. Les aires de réaction correspondent aux emplacements des biopuces de la lame. L'incubation est amorcée lorsque la lame avec biopuces est posée à l'envers sur le support de lame (TITERPLANE). Toutes les biopuces sont en contact avec les liquides et les réactions individuelles commencent simultanément dans les mêmes conditions.

Les échantillons de sérum ou de plasma dilués à raison de 1/10 (ou liquide céphalorachidien non dilué) sont ajoutés aux aires de réaction d'un support de lame, puis incubés en présence des cellules ou des tissus fixés aux biopuces. Par la suite, les anticorps présents dans les échantillons sont détectés à l'aide d'anticorps anti-immunoglobulines humaines couplés à la fluorescéine. Finalement, les biopuces sont couvertes d'un milieu d'inclusion à base de glycérol puis d'une lamelle, afin de permettre l'observation de la fluorescence au microscope. Une évaluation semi-quantitative peut aussi être réalisée pour déterminer le titre en anticorps par dilution en série des échantillons.

Chaque champ d'une lame de la trousse IIFT Neurology Mosaic 14 comporte deux biopuces recouvertes de tissus de primate (tissu de cervelet et tissu intestinal) permettant la détection des anticorps anti-PCA2, anti-PCA1 (anti-Yo) et anti-Tr. Le profil de fluorescence des anti-PCA1 diffère de celui des anti-PCA2, ce qui permet de les distinguer. Sur le tissu de cervelet, les anti-PCA1 réagissent avec le cytoplasme des cellules de Purkinje, tandis que les anti-PCA2 réagissent avec le cytoplasme et les dendrites des cellules de Purkinje. Étant donné que les anti-PCA1 (anti-Yo), les anti-PCA2, les anti-Ri et les anti-Hu présentent tous une réaction positive sur tissu de cervelet (noyau, cytoplasme, dendrites), une réaction positive sur le tissu intestinal indique la présence d'anti-Hu. Une réaction positive des noyaux neuronaux de cervelet associée à une réaction négative sur tissu intestinal indique pour sa part la présence d'anti-Ri.

AUTOANTICORPS	TISSU (SUBSTRAT)	
	CERVELET (NEURONES)	INTESTIN
Anti-PCA2	cytoplasme et dendrites	négatif
Anti-PCA1 (anti-Yo)	cytoplasme	négatif
Anti-Hu	noyau	positif
Anti-Ri	noyau	négatif

2.3 Modalités d'administration du test

Une fois que les autres causes possibles (traumatique, vasculaire, toxique, métabolique, médicamenteuse ou infectieuse) ont été éliminées, un bilan néoplasique (techniques d'imagerie) et un bilan paranéoplasique (autoanticorps antineuronaux) de base peuvent être demandés par le neurologue. Un échantillon de sang (et parfois de liquide céphalorachidien) est prélevé au centre de prélèvement puis acheminé vers le laboratoire central à des fins de centrifugation et de récolte du sérum, lequel sera congelé à -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Le temps de réponse est de 2 à 4 semaines.

2.4 Société ou concepteur

La trousse IIFT Neurology Mosaic 14 a été mise au point par la compagnie EUROIMMUN MEDIZINISCHE LABORDIAGNOSTIKA AG (Lübeck, Allemagne).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Trousse IIFT Neurology Mosaic 14 (cat. n° FA-1111-1005-14); Santé Canada (n° 74082) 2007-05-18

2.6 Valeur pondérée : 29,17

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients présentant des symptômes laissant supposer la présence d'un syndrome encéphalitique ou de dégénérescence cérébelleuse

3.2 Description des maladies visées

Les syndromes dits paranéoplasiques sont la conséquence d'une réaction immunitaire à certains antigènes neuronaux aussi exprimés par la tumeur [Karim et Jacob, 2012]. Généralement, la réponse immunitaire amorcée stoppe avec succès la croissance de la tumeur, ce qui rend cette dernière occulte au moment où le patient développe des symptômes neurologiques. Ainsi, parce que plusieurs années peuvent s'écouler avant la détection d'un cancer sous-jacent, un suivi étroit des patients qui présentent des anticorps paranéoplasiques est requis [Hoffmann *et al.*, 2008].

Lorsque, par ailleurs, la réponse immunitaire se manifeste dans le système nerveux central, l'atteinte des neurones par les autoanticorps occasionne divers symptômes et troubles neurologiques [Roberts et Darnell, 2004].

On distingue deux catégories de syndromes paranéoplasiques du système nerveux central, à savoir les syndromes classiques, où les anticorps sont dirigés contre des

protéines intracellulaires (aussi appelés anticorps onconeuronaux), et les syndromes où les anticorps sont dirigés contre des protéines membranaires ou synaptiques [Graus *et al.*, 2010]. Les principales caractéristiques de ces deux catégories de syndromes sont présentées dans le tableau 1 ci-après.

Tableau 1 Caractéristiques des syndromes paranéoplasiques du système nerveux central

	SYNDROMES CLASSIQUES¹⁰ À CIBLE INTRACELLULAIRE	SYNDROMES À CIBLE MEMBRANAIRE OU SYNAPTIQUE
ANTICORPS	Anticorps onconeuronaux : Hu (ANNA-1), Ri (ANNA-2), Yo (PCA1), Ma2/Ta (PNMA2), CV2 (CRMP5), amphiphysine, PCA2	NMDAR, VGKC* (Lgi1 et Caspr2), AMPAR, GABA(B)R
PATHOGÉNICITÉ	Aucune corrélation entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie (marqueur non pathogénique) (1)	Corrélation directe entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie (1)
CANCER ASSOCIÉ	La majorité des syndromes sont paranéoplasiques Cancer sous-jacent (> 90 % des cas) (cancer du poumon à petites cellules, cancer du sein et des ovaires, thymomes) (1, 2)	Moins souvent paranéoplasiques (2, 3, 4) Lgi1 (< 10 %) (5) Caspr2 (20 % à 40 %) (4, 5, 11, 13) GABA(B)R (60 %) (6) AMPAR (70 %) (7)
TRAITEMENT	Traitement de la néoplasie causale, résection de la tumeur, stabilisation des symptômes neurologiques (2)	Immunothérapie : prednisone, immunoglobulines intraveineuses, plasmaphérèse, Rituximab, cyclophosphamide (2, 8, 9)
RÉPONSE AU TRAITEMENT	Faible réponse à l'immunothérapie (2)	Bonne réponse au traitement (3, 5, 10), récupération significative ou complète chez 70 % à 80 % des patients (11)
PRONOSTIC	Pronostic défavorable (2)	Pronostic plus favorable (12)

Sources: (1) Karim et Jacob, 2012; (2) Honnorat, 2014; (3) Irani *et al.*, 2011; (4) Varley *et al.*, 2015; (5) Irani *et al.*, 2010; (6) Lancaster *et al.*, 2010; (7) Lai *et al.*, 2009; (8) Irani *et al.*, 2013; (9) Vincent *et al.*, 2004; (10) Irani *et al.*, 2008; (11) Lancaster *et al.*, 2011; (12) Le Dault *et al.*, 2016; (13) Leypoldt *et al.*, 2015.

* VGKC (*voltage-gated potassium channel complex*) est un complexe de protéines membranaires qui comprend Lgi1 et Caspr2.

En 2004, un regroupement international de neurologues a suggéré de définir un syndrome neurologique paranéoplasique (SNP) « confirmé » ou « probable » à partir de différents critères diagnostiques (Annexe A). Selon ces critères, en l'absence de cancer détecté, seuls les anticorps onconeuronaux « bien caractérisés » peuvent être utilisés pour que le trouble associé soit considéré comme étant un SNP confirmé [Graus *et al.*, 2004].

¹⁰ Le terme « syndrome classique » s'applique aux syndromes neurologiques qui sont souvent associés à un cancer. Le diagnostic d'un tel syndrome devrait mener à la recherche d'une tumeur occulte, sans qu'il soit tenu compte des anticorps détectés [Graus *et al.*, 2004].

Les anticorps onconeuronaux « bien caractérisés » sont ceux pour lesquels un profil réactionnel est reconnaissable en immunohistochimie et pour lesquels l'immunoblot sur protéine recombinante doit être utilisé pour en confirmer la spécificité [Graus *et al.*, 2004]. Actuellement, six anticorps onconeuronaux sont considérés comme étant « bien caractérisés », soit les anti-Hu, les anti-Yo, les anti-Ri, les anti-CV2, les anti-Ma2/Ta et les anti-amphiphysine. Contrairement à ces six anticorps, l'anti-PCA2 est considéré comme un anticorps partiellement caractérisé [Graus *et al.*, 2004]. La liste des divers syndromes et cancers fréquemment associés aux anticorps onconeuronaux est présentée dans le tableau 2 ci-après.

Tableau 2 Syndromes et principaux cancers associés aux anticorps onconeuronaux

ANTICORPS ONCONEURONAUX	PRINCIPAUX SYNDROMES ASSOCIÉS	PRINCIPAUX CANCERS ASSOCIÉS
Anti-Hu (anti-ANNA-1)	Encéphalomyélite, encéphalite limbique, dégénérescence cérébelleuse, neuropathie sensorielle	CPPC
Anti-Yo (anti-PCA-1)	Dégénérescence cérébelleuse	Cancer du sein et des ovaires
Anti-Ri (anti-ANNA-2)	Dégénérescence cérébelleuse, encéphalite du tronc cérébral	CPPC, cancer du sein
Anti-CV2 (anti-CRMP5)	Encéphalomyélite, dégénérescence cérébelleuse, chorée, neuropathie sensorielle, encéphalite limbique	CPPC, thymome
Anti-Ma2/Ta (PNMA2)	Encéphalite (limbique, tronc cérébral), dégénérescence cérébelleuse	Cancer des cellules germinales (testicules), cancer du poumon
Anti-amphiphysine	Syndrome de l'homme raide	Cancer du sein et du poumon
Anti-PCA2	Syndromes variés	CPPC

Source : adapté de Graus *et al.*, 2004.

Abréviation : CPPC : cancer du poumon à petites cellules

Selon une étude menée par le PNS Euronetwork consortium (consortium européen regroupant 20 centres dans 11 pays) sur 979 patients [Giometto *et al.*, 2010], les SNP les plus fréquents sont la dégénérescence cérébelleuse (24,3 %), la neuropathie sensorielle (24,3 %, atteinte périphérique) et l'encéphalite limbique (10 %). Le profil d'anticorps onconeuronaux évalué chez ces patients a révélé que l'anti-Hu est l'autoanticorps le plus fréquent (38,8 %), suivi de l'anti-Yo (13,4 %). La fréquence des autres anticorps onconeuronaux était inférieure à 10 %. Par ailleurs, le cancer du poumon à petites cellules, le cancer du sein, le cancer des ovaires et le cancer du poumon non à petites cellules sont les cancers les plus fréquemment associés avec un SNP, ce qui représente 66,5 % des cancers identifiés.

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Selon le demandeur, de 25 à 50 analyses seront réalisées, par année, dans la population desservie par le centre demandeur et de 50 à 125, par année, au Québec, d'après une estimation des requêtes futures faite à partir d'extrapolations par des neurologues.

3.4 Spécialités médicales concernées

Neurologie, hémato-oncologie.

3.5 Brève description de la situation actuelle

La technique considérée comme la technique de référence pour la détection des anticorps onconeuraux est l'immunohistochimie sur coupes de cerveau combinée à l'immunoblot sur protéines recombinantes purifiées visant à confirmer la spécificité de ces anticorps [Maat *et al.*, 2013].

Par contre, puisque l'antigène reconnu par l'anti-PCA2 n'est pas connu, actuellement, aucun test antigène spécifique n'utilise une protéine recombinante [Jarius et Wildemann, 2015].

En immunohistochimie, le profil réactionnel des divers anticorps est similaire et il peut être difficile pour un utilisateur non expert de bien les distinguer. Ainsi, l'utilisation de différents tissus facilite la distinction entre les différents profils réactionnels des anticorps [Jarius et Wildemann, 2015].

3.6 Données médico-administratives

Aucune donnée issue du *Répertoire québécois* et système de mesure des procédures de biologie médicale n'est disponible aux fins de cette analyse, parce qu'il s'agit d'une nouvelle analyse. Aucun envoi hors Québec n'a été documenté dans la base de données du ministère de la Santé et des Services sociaux concernant l'année 2013-2014.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

La présence d'anticorps onconeuraux indique la nature paranéoplasique d'un trouble neurologique. Ainsi, la détection de ces anticorps permet de confirmer un diagnostic de syndrome neurologique paranéoplasique, mais également de limiter à certains organes la recherche d'un cancer sous-jacent (visée pronostique).

Étant donné que les profils de fluorescence de l'anti-PCA1 (anti-Yo) et de l'anti-PCA2 obtenus à l'aide de la trousse IIFT Neurology Mosaic 14 (voir la section 2.2) sont distincts, la recherche d'un cancer du sein et/ou des ovaires ou d'un cancer du poumon respectivement pourrait être amorcée (voir la section 4.1, étude de Vernino).

L'anti-PCA2 est associé au cancer du poumon [Graus *et al.*, 2004; Pittock *et al.*, 2004; Vernino et Lennon, 2000]. De plus, le cancer du poumon peut aussi être associé à l'anti-Hu, en partie à l'anti-Ri et à l'anti-CV2, puis à l'anti-amphiphysine (particulièrement en présence d'anti-Hu ou d'anti-CV2) (voir le tableau 2 et l'avis d'évaluation intitulé *Analyse sérologique d'autoanticorps antineuronaux*) [Horta *et al.*, 2014; Graus *et al.*, 2004]. Dans le cas où les résultats relatifs à tous ces anticorps

seraient négatifs, la recherche d'anti-PCA2 pourrait être utile pour repérer un cancer du poumon, bien qu'en pareil cas un tel diagnostic soit rarissime¹¹.

3.8 Assurance qualité

Des sérums positifs serviront au contrôle de qualité interne; la participation à des contrôles de qualité externes est prévue lorsqu'ils seront disponibles.

3.9 Remplacement d'un autre test

La détection de l'autoanticorps anti-PCA2 ne remplace aucune autre analyse incluse dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Bien que les autoanticorps anti-PCA2 soient peu fréquents, leur portrait immunohistochimique caractéristique et leur association à un type de cancer spécifique ont été rapportés dans les trois études repérées (Tableau 3). L'étude de Vernino et Lennon [2000] avait pour objectif de définir les critères immunohistochimiques permettant de distinguer les anti-PCA1, les anti-PCA2 et les anti-PCA-Tr. Une évaluation sérologique par immunofluorescence réalisée à la clinique Mayo a d'abord permis de désigner 10 sérums anti-PCA2+, dont un provenant d'un patient qui ne présentait aucun symptôme neurologique. L'analyse des sérums a été réalisée par immunohistochimie, puis confirmée par *western blot* sur protéines de cerveau de rat ou de tissu tumoral. Le portrait immunohistochimique de ces sérums anti-PCA2+ s'est avéré différent de celui d'un anti-PCA1 (anti-Yo) (associé au cancer du sein et des ovaires) ou d'un anti-Tr (associé au lymphome de Hodgkin). Par ailleurs, les patients chez lesquels l'anti-PCA2 a été détecté présentaient tous un cancer du poumon à petites cellules et une majorité avait d'autres anticorps. Les auteurs concluent qu'il est important de distinguer l'anti-PCA1 (anti-Yo), l'anti-PCA2 et l'anti-Tr, parce qu'ils sont associés à des cancers différents.

L'occurrence de symptômes neurologiques multifocaux pourrait être le reflet d'une réponse immunitaire dirigée contre plusieurs antigènes onconeuraux, générant ainsi la production de plusieurs autoanticorps. Afin de vérifier cette hypothèse, une étude a été menée par Pittock et ses collaborateurs [2004], dans l'objectif de mesurer la fréquence des autoanticorps coexistants, et du cancer qui y est associé, dans une cohorte de 60 000 patients, évalués entre le 1^{er} janvier 2000 et le 31 décembre 2003, chez lesquels un syndrome neurologique paranéoplasique (SNP) était suspecté. L'analyse sérologique a été réalisée par immunofluorescence indirecte, puis confirmée par *western blot*. Un autoanticorps a été détecté chez 553 patients (0,92 %) et, chez 31 % de ceux-ci, plus d'un autoanticorps a été détecté. L'anti-PCA2 a été détecté chez 36 (0,06 %) des 60 000 patients et a été fréquemment trouvé en présence d'anti-Hu, d'anti-CV2, d'anti-amphiphysine ou d'anti-ANNA-3. Ainsi, la fréquence cumulative d'anticorps coexistants était de 50 % concernant l'anti-PCA2, comparativement à 0 % concernant l'anti-PCA1 (anti-Yo). Parmi les patients

¹¹ Information obtenue du Dr Martin Savard (communication écrite du 26 février 2016).

dont les données cliniques étaient disponibles, un cancer du poumon à petites cellules ou non à petites cellules était présent chez 89 % des patients chez lesquels l'anti-PCA2 a été détecté et un cancer du sein, des ovaires ou de l'utérus était présent chez 91,2 % des patients chez lesquels l'anti-PCA1 (anti-Yo) a été détecté. Les auteurs concluent qu'une évaluation sérologique d'un profil d'autoanticorps permet de prédire un cancer spécifique qui n'est pas suspecté cliniquement par le profil neurologique, ce qui accélère le diagnostic du cancer et le traitement.

Une autre étude avait pour objectif d'évaluer si certains groupes d'autoanticorps permettaient de prédire le type de cancer associé à un SNP. Pour ce faire, une analyse mathématique des résultats d'évaluation des autoanticorps présents dans le sérum de 78 889 patients (de 2008 à 2011) chez lesquels le SNP était suspecté a été réalisée, puis validée à l'aide d'un groupe de 368 patients atteints d'un cancer du poumon, du thymus ou des amygdales. L'évaluation sérologique comprenait 15 autoanticorps, dont l'anti-Hu, l'anti-Ri, l'anti-Yo, l'anti-CV2, l'anti-amphiphysine et l'anti-PCA2. L'anti-PCA2 était présent chez 24 patients (0,03 %) et a été détecté plus fréquemment en combinaison avec l'anti-CV2 et l'anti-Hu. Les auteurs concluent que les anticorps onconeuraux coexistent généralement en groupes spécifiques, détectables par une analyse simultanée de plusieurs anticorps. De plus, ils affirment que ces combinaisons d'anticorps sont fortement prédictives de certains types de cancers, ce qui permet de limiter la recherche du cancer à certains organes [Horta *et al.*, 2014].

Tableau 3 Valeur diagnostique de l'anti-PCA2 et cancers associés

ÉTUDE	NOMBRE DE PATIENTS	ANTICORPS DÉTECTÉS (NOMBRE DE CAS OU %)	ANTICORPS COEXISTANTS (NOMBRE OU %)	CANCER DÉTECTÉ NOMBRE (%)
Vernino et Lennon, 2000	9 avec SN 58 sans SN + CPPC	PCA2 (10) dont 1 sans SN PCA2 seul (3) PCA2 groupé* (7)	PCA2 + AchR ou VGCC (6) PCA2 + CV2 (1)	CPPC
Pittock <i>et al.</i> , 2004	60 000 SNP suspecté	553/60 000 (0,92 %) Hu : 216 (0,36) CV2 : 210 (0,35) PCA1 (Yo) : 102 (0,17) PCA2 : 36 (0,06) Amph : 24 (0,04) Ri : 12 (0,02) ANNA-3 : 6 (0,01) [†]	Un Ac ou plus (31 %) <u>Fréquence cumulative</u> : PCA2 groupé* (50 %) (Hu, CV2, amphiphysine, ANNA-3) PCA1 (Yo) (0 %)	PCA2 : 17/19‡ (89) CPPC ou CPNPC 15/17 PCA1 : 62/68 (91,2) Sein, ovaires, utérus
Horta <i>et al.</i> , 2014	78 889 cas de SNP suspecté	PCA2 (24; 0,03)	PCA2 + CV2 (6; 25 %) PCA2 + Hu (5; 20,8 %)	ND pour l'anti-PCA2

Abréviations : Ac : anticorps; CPPC : cancer du poumon à petites cellules; CPNPC : cancer du poumon non à petites cellules;

ND : non déterminé; SN : symptômes neurologiques; SNP : syndrome neurologique paranéoplasique

* PCA2 groupé : anti-PCA2 détecté en présence d'au moins un autre anticorps.

† Le nombre total de cas qui présentaient des anticorps excède 553, parce que 31 % des patients présentent plus d'un autoanticorps.

‡ Des données cliniques adéquates étaient disponibles sur 19 patients qui présentaient des anti-PCA2 et 68 patients qui présentaient des anti-PCA1.

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude sur la capacité de l'analyse des anti-PCA2 à prévoir l'évolution de la maladie n'a été repérée.

4.3 Valeur thérapeutique

L'analyse de l'autoanticorps anti-PCA2 ne permet pas de choisir ou de modifier le traitement de patients atteint d'un syndrome neurologique paranéoplasique (SNP).

4.4 Validité analytique

Les données de validité analytique de la trousse IIFT Neurology Mosaic 14 proviennent de la brochure d'information fournie avec la trousse.

Réaction croisée

Aucune donnée de réaction croisée n'est connue d'EUROIMMUN

Interférence (effet de matrice)

Les échantillons hémolysés, lipémiques et ictériques n'ont montré aucune interférence sur l'analyse.

Reproductibilité intra-essai

L'analyse de 2 échantillons caractérisés a été réalisée en parallèle à 10 reprises. La variation d'intensité de fluorescence était inférieure à ± 1 niveau d'intensité de fluorescence. Selon EUROIMMUN, une valeur d'intensité de « 0 » signifie « aucune fluorescence spécifique » et une valeur de « 5 » signifie « fluorescence spécifique extrêmement élevée ».

Reproductibilité inter-essai

L'analyse de 2 échantillons caractérisés a été réalisée en double au cours d'un minimum de 2 jours différents, en 5 essais distincts. La variation d'intensité de fluorescence de tous les échantillons était inférieure à ± 1 niveau d'intensité de fluorescence.

Reproductibilité

L'analyse de 2 échantillons caractérisés a été réalisée en utilisant des lames de 3 lots différents. La variation d'intensité de fluorescence de tous les échantillons était inférieure à ± 1 niveau d'intensité de fluorescence.

Sensibilité et spécificité de détection

La spécificité du test a été évaluée à partir de 200 échantillons de donneurs de sang en bonne santé. Aucun résultat positif n'a été obtenu. Aucune donnée concernant la sensibilité de détection de l'anti-PCA2 n'est présentée dans la monographie de la trousse.

4.5 Données fournies par le demandeur

Aucune donnée de validation locale n'a été fournie par le centre demandeur. La trousse IIFT Neurology Mosaic 14 n'a pas été utilisée par le centre demandeur.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Non évalués.

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

Aucune position ou orientation concernant la détection de l'autoanticorps anti-PCA2 n'a été repérée.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La détection des anticorps onconeuronaux, y compris l'anti-PCA2, permettrait de confirmer un diagnostic de syndrome neurologique paranéoplasique (SNP), mais également de limiter à certains organes la recherche d'un cancer sous-jacent. La présence d'anti-PCA2 associée au cancer du poumon permettrait d'exclure un cancer du sein ou des ovaires, lesquels sont plutôt associés à l'anti-PCA1 (anti-Yo). De plus, en l'absence des autres autoanticorps associés au cancer du poumon (anti-Hu, anti-Ri, anti-CV2, anti-amphiphysine), l'anti-PCA2 pourrait contribuer à repérer ce type de cancer.

Valeur diagnostique

Les 3 études retenues mettent en évidence la faible fréquence des cas où l'anti-PCA2 est détecté. Dans 2 de ces études, un très grand nombre de patients ont dû être évalués sur une période de 3 ans afin de les repérer. Le cancer poumon a été détecté dans la plupart des cas. Dans 20 % à 31 % des cas, l'anti-PCA2 était détecté en présence d'un autre autoanticorps (anti-Hu, anti-CV2, anti-amphiphysine ou anti-ANNA-3).

Valeur pronostique

Aucune étude sur la capacité de l'analyse des anti-PCA2 à prévoir l'évolution de la maladie n'a été repérée.

Valeur thérapeutique

L'analyse de l'autoanticorps anti-PCA2 ne permet pas de choisir ou de modifier le traitement de patients atteint d'un syndrome neurologique paranéoplasique.

Validité analytique

Les données de validité analytique de la trousse IIFT Neurology Mosaic 14 sont celles fournies par EUROIMMUN. Le fabricant mentionne une bonne reproductibilité intra-essai, inter-essai et entre les lots de la trousse concernant l'analyse de deux

échantillons caractérisés, sans toutefois présenter les résultats. Les données de sensibilité et de spécificité de détection de la trousse sont très limitées. Aucun effet de matrice n'a été observé. Aucune donnée relative aux réactions croisées n'était disponible.

Aucune donnée locale de validation n'a été fournie par le centre demandeur.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Autoanticorps antineuronaux – Détection de l'anti-PCA2 dans les cas d'atteinte auto-immune du système nerveux central

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Aucune donnée de vérification de la trousse n'est disponible.
- ✓ Aucun programme de contrôle de la qualité externe n'est proposé par le laboratoire demandeur.

BIBLIOGRAPHIE

- Giometto B, Grisold W, Vitaliani R, Graus F, Honnorat J, Bertolini G. Paraneoplastic neurologic syndrome in the PNS Euronetwork database: A European study from 20 centers. *Arch Neurol* 2010;67(3):330-5.
- Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75(8):1135-40.
- Graus F, Saiz A, Dalmau J. Antibodies and neuronal autoimmune disorders of the CNS. *J Neurol* 2010;257(4):509-17.
- Hoffmann LA, Jarius S, Pellkofer HL, Schueller M, Krumbholz M, Koenig F, et al. Anti-Ma and anti-Ta associated paraneoplastic neurological syndromes: 22 newly diagnosed patients and review of previous cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79(7):767-73.
- Honnorat J. Therapeutic approaches in antibody-associated central nervous system pathologies. *Rev Neurol (Paris)* 2014;170(10):587-94.
- Horta ES, Lennon VA, Lachance DH, Jenkins SM, Smith CY, McKeon A, et al. Neural autoantibody clusters aid diagnosis of cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(14):3862-9.
- Irani SR, Stagg CJ, Schott JM, Rosenthal CR, Schneider SA, Pettingill P, et al. Faciobrachial dystonic seizures: The influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a broadening phenotype. *Brain* 2013;136(Pt 10):3151-62.
- Irani SR, Michell AW, Lang B, Pettingill P, Waters P, Johnson MR, et al. Faciobrachial dystonic seizures precede Lgi1 antibody limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2011;69(5):892-900.
- Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, et al. Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain* 2010;133(9):2734-48.
- Irani SR, Buckley C, Vincent A, Cockerell OC, Rudge P, Johnson MR, Smith S. Immunotherapy-responsive seizure-like episodes with potassium channel antibodies. *Neurology* 2008;71(20):1647-8.
- Jarius S et Wildemann B. 'Medusa head ataxia': The expanding spectrum of Purkinje cell antibodies in autoimmune cerebellar ataxia. Part 3: Anti-Yo/CDR2, anti-Nb/AP3B2, PCA-2, anti-Tr/DNER, other antibodies, diagnostic pitfalls, summary and outlook. *J Neuroinflammation* 2015;12:168.
- Karim AR et Jacob S. Immunological markers in neurological disorders. *Ann Clin Biochem* 2012;49(Pt 1):29-43.

- Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, et al. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol* 2009;65(4):424-34.
- Lancaster E, Lai M, Peng X, Hughes E, Constantinescu R, Raizer J, et al. Antibodies to the GABA(B) receptor in limbic encephalitis with seizures: Case series and characterisation of the antigen. *Lancet Neurol* 2010;9(1):67-76.
- Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Dalmau J. Encephalitis and antibodies to synaptic and neuronal cell surface proteins. *Neurology* 2011;77(2):179-89.
- Le Dault E, Lagarde S, Guedj E, Dufournet B, Rey C, Kaphan E, et al. Troubles neuropsychiatriques inexpliqués : penser aux encéphalites dysimmunitaires. À propos d'une observation d'encéphalite à anticorps anti-leucine rich glioma inactivated 1 (LGI-1). *Rev Med Interne* 2016;37(2):127-30.
- Leyboldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann N Y Acad Sci* 2015;1338:94-114.
- Maat P, Brouwer E, Hulsboom E, VanDuijn M, Schreurs MW, Hooijkaas H, Smitt PA. Multiplex serology of paraneoplastic antineuronal antibodies. *J Immunol Methods* 2013;391(1-2):125-32.
- Pittock SJ, Kryzer TJ, Lennon VA. Paraneoplastic antibodies coexist and predict cancer, not neurological syndrome. *Ann Neurol* 2004;56(5):715-9.
- Roberts WK et Darnell RB. Neuroimmunology of the paraneoplastic neurological degenerations. *Curr Opin Immunol* 2004;16(5):616-22.
- Varley J, Vincent A, Irani SR. Clinical and experimental studies of potentially pathogenic brain-directed autoantibodies: Current knowledge and future directions. *J Neurol* 2015;262(4):1081-95.
- Vernino S et Lennon VA. New Purkinje cell antibody (PCA-2): Marker of lung cancer-related neurological autoimmunity. *Ann Neurol* 2000;47(3):297-305.
- Vincent A, Buckley C, Schott JM, Baker I, Dewar BK, Detert N, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: A potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. *Brain* 2004;127(Pt 3):701-12.

ANNEXE A

Critères diagnostiques des syndromes neurologiques paranéoplasiques (SNP) [Graus *et al.*, 2004]

SNP confirmé

1. Un syndrome classique, associé à un cancer qui se développe dans un délai de 5 ans suivant le diagnostic d'un trouble neurologique
2. Un syndrome non classique qui se résorbe ou qui s'améliore significativement après traitement du cancer sans immunothérapie concomitante, à la condition que le syndrome ne soit pas sujet à une rémission spontanée
3. Un syndrome non classique, en présence d'anticorps onconeuronaux (bien caractérisés ou non), associé à un cancer qui se développe dans un délai de 5 ans suivant le diagnostic d'un trouble neurologique
4. Un syndrome neurologique (classique ou non), en présence d'anticorps onconeuronaux (anti-Hu, anti-Yo, anti-CV2, anti-Ri, anti-Ma2 ou anti-amphiphysine), sans cancer

SNP probable

1. Un syndrome classique, sans anticorps onconeuronaux et sans cancer, mais à risque élevé de présence d'un cancer sous-jacent
2. Un syndrome neurologique (classique ou non), en présence d'anticorps onconeuronaux partiellement caractérisés, sans cancer
3. Un syndrome non classique, sans anticorps onconeuronaux, associé à un cancer confirmé dans un délai de 2 ans suivant le diagnostic

ANALYSE SÉROLOGIQUE D'AUTOANTICORPS ANTINEURONAUX: AMPHIPHYSINE, CV2, MA2 (TA), RI, HU ET YO DANS LES CAS D'ATTEINTE AUTO- IMMUNE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL (RÉFÉRENCE – 2014.03.008)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur :** CHUM – Hôpital Notre-Dame
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre :** 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis :** 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le Dr 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 la validation du présent avis, les experts consultés sont le Dr Martin Savard (neurologue, CHU de Québec) et la Dre Annie Dionne (neurologue spécialisée en maladies neuromusculaires, CHU de Québec).

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Analyse sérologique des autoanticorps antineuronaux anti-amphiphysine, anti-CV2 (CRMP5), anti-Ma2/Ta (PNMA2), anti-Ri (ANNA-2), anti-Hu (ANNA-1), anti-Yo (PCA-1) par immunoblot.

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

La trousse EUROLINE Neuronal Antigens Profile 2 (IgG) (EUROIMMUN) utilise la technique immunoblot pour réaliser la détection qualitative des autoanticorps dirigés contre six antigènes associés aux encéphalites auto-immunes paranéoplasiques.

L'analyse par immunoblot est une méthode immunochimique qui permet de réaliser la détection de plusieurs autoanticorps simultanément, dans les mêmes conditions (analyse « multiplexe »). Les antigènes purifiés sont préadsorbés en courtes stries parallèles sur des bandelettes. Dans un premier temps, chaque échantillon de sérum, préalablement dilué selon les instructions fournies avec la trousse, est incubé avec une bandelette afin de permettre la fixation des autoanticorps spécifiques, présents dans le sérum, aux antigènes de la bandelette. Les autoanticorps non fixés à la bandelette sont lavés, puis une deuxième période d'incubation est réalisée en présence d'un anticorps de détection couplé à la phosphatase alcaline. Les anticorps non fixés à la bandelette sont à nouveau lavés préalablement à la troisième période d'incubation en présence d'une solution de substrat-chromogène. La réaction du substrat avec la phosphatase alcaline permet le développement d'une coloration dont l'intensité est proportionnelle au titre des autoanticorps sur la strie correspondante. L'évaluation des résultats peut être visuelle ou automatisée. Dans ce dernier cas, les bandelettes sont numérisées et analysées à l'aide du logiciel EUROLineScan d'EUROIMMUN.

Lorsque les incubations sont correctement réalisées, une réaction colorée de forte intensité est visible sur la bandelette sur la strie témoin. Les résultats sont exprimés en unités de nuances de gris (*grayscale units*) selon l'intensité des stries obtenues. Une valeur de 0 à 5 est associée à un résultat négatif, une valeur de 6 à 10, à un résultat limite¹², une valeur de 11 à 25 ou de 26 à 50 (+ ou ++), à un résultat positif, et une valeur supérieure à 50, à un résultat fortement positif.

2.3 Modalités d'administration du test

Une fois que les autres causes possibles (traumatique, vasculaire, toxique, métabolique, médicamenteuse ou infectieuse) ont été éliminées, le neurologue peut demander un bilan néoplasique (techniques d'imagerie) et un bilan paranéoplasique (autoanticorps antineuronaux) de base. Un échantillon de sang (et parfois de liquide céphalorachidien) est prélevé au centre de prélèvement, puis acheminé vers le laboratoire central à des fins de centrifugation et de récolte du sérum, lequel sera congelé à -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Le temps de réponse est de 2 à 4 semaines.

2.4 Société ou concepteur

La trousse EUROLINE Neuronal Antigens Profile 2 (IgG) a été mise au point par la compagnie EUROIMMUN MEDIZINISCHE LABORDIAGNOSTIKA AG (Lübeck, Allemagne).

¹² Les résultats affichant une intensité de 6 à 10 doivent être évalués comme s'ils étaient augmentés, mais négatifs.

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Trousse EUROLINE Neuronal Antigens Profile 2 (IgG) (n° de cat.: DL-1111-1601-2G);
Santé Canada (n° 75927) 2007-12-19.

2.6 Valeur pondérée : 57,79

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients présentant des symptômes laissant supposer la présence d'un syndrome neurologique paranéoplasique.

3.2 Description des maladies visées

Les syndromes dits paranéoplasiques sont la conséquence d'une réaction immunitaire à certains antigènes neuronaux aussi exprimés par la tumeur [Karim et Jacob, 2012]. Généralement, la réponse immunitaire amorcée stoppe avec succès la croissance de la tumeur, ce qui rend cette dernière occulte au moment où les patients développent des symptômes neurologiques. Ainsi, parce que plusieurs années peuvent s'écouler avant la détection d'un cancer sous-jacent, un suivi étroit des patients qui présentent des anticorps paranéoplasiques est requis [Hoffmann *et al.*, 2008]. Lorsque, par ailleurs, la réponse immunitaire se manifeste dans le système nerveux central, l'atteinte des neurones par les autoanticorps occasionne divers symptômes et troubles neurologiques [Roberts et Darnell, 2004].

On distingue deux catégories de syndromes paranéoplasiques du système nerveux central, soit les syndromes classiques, où les anticorps sont dirigés contre des protéines intracellulaires (aussi appelés anticorps onconeuronaux), et les syndromes où les anticorps sont dirigés contre des protéines membranaires ou synaptiques [Graus *et al.*, 2010]. Les principales caractéristiques de ces deux catégories de syndromes sont présentées dans le tableau 1 ci-après.

Tableau 1 Caractéristiques des syndromes paranéoplasiques du système nerveux central

	SYNDROMES CLASSIQUES ¹³ À CIBLE INTRACELLULAIRE	SYNDROMES À CIBLE MEMBRANAIRE OU SYNAPTIQUE
ANTICORPS	Anticorps onconeuronaux : Hu (ANNA-1), Ri (ANNA-2), Yo (PCA1), Ma2/Ta (PNMA2), CV2 (CRMP5), amphiphysine, PCA2	NMDAR, VGKC* (Lgi1 et Caspr2), AMPAR, GABA(B)R
PATHOGÉNÉCITÉ	Aucune corrélation entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie (marqueur non pathogénique) (1)	Corrélation directe entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie (1)

(suite)

¹³ Le terme « syndrome classique » s'applique aux syndromes neurologiques qui sont souvent associés à un cancer. Le diagnostic d'un tel syndrome devrait mener à la recherche d'une tumeur occulte, sans qu'il soit tenu compte des anticorps détectés [Graus *et al.*, 2004].

Tableau 1 Caractéristiques des syndromes paranéoplasiques du système nerveux central (*suite*)

	SYNDROMES CLASSIQUES ¹⁴ À CIBLE INTRACELLULAIRE	SYNDROMES À CIBLE MEMBRANAIRE OU SYNAPTIQUE
CANCER ASSOCIÉ	La majorité des syndromes sont paranéoplasiques Cancer sous-jacent (> 90 % des cas) (cancer du poumon à petites cellules, cancer du sein et des ovaires, thymomes) (1, 2)	Moins souvent paranéoplasiques (2, 3, 4) Lgi1 (< 10 %) (5) Caspr2 (20 % à 40 %) (4, 5, 11, 13) GABA(B)R (60 %) (6) AMPA (70 %) (7)
TRAITEMENT	Traitement de la néoplasie causale, résection de la tumeur, stabilisation des symptômes neurologiques (2)	Immunothérapie : prednisone, immunoglobulines intraveineuses, plasmaphérèse, Rituximab, cyclophosphamide (2, 8, 9)
RÉPONSE AU TRAITEMENT	Faible réponse à l'immunothérapie (2)	Bonne réponse au traitement (3, 5, 10), récupération significative ou complète chez 70 % à 80 % des patients (11)
PRONOSTIC	Pronostic défavorable (2)	Pronostic plus favorable (12)

Sources: (1) Karim et Jacob, 2012; (2) Honnorat, 2014; (3) Irani *et al.*, 2011; (4) Varley *et al.*, 2015; (5) Irani *et al.*, 2010; (6) Lancaster *et al.*, 2010; (7) Lai *et al.*, 2009; (8) Irani *et al.*, 2013; (9) Vincent *et al.*, 2004; (10) Irani *et al.*, 2008; (11) Lancaster *et al.*, 2011; (12) Le Dault *et al.*, 2016; (13) Leypoldt *et al.*, 2015.

* VGKC (*voltage-gated potassium channel complex*) est un complexe de protéines membranaires qui comprend Lgi1 et Caspr2.

En 2004, un regroupement international de neurologues a suggéré de définir un syndrome neurologique paranéoplasique (SNP) « confirmé » ou « probable » à partir de différents critères diagnostiques (voir l'annexe A). Selon ces critères, en l'absence de cancer détecté, seuls les anticorps onconeuraux « bien caractérisés » peuvent être utilisés pour que le trouble associé soit considéré comme étant un SNP confirmé [Graus *et al.*, 2004].

Les anticorps onconeuraux « bien caractérisés » sont ceux relativement auxquels un profil réactionnel est reconnaissable en immunohistochimie et l'immunoblot sur protéine recombinante doit être utilisé pour en confirmer la spécificité [Graus *et al.*, 2004]. Actuellement, six anticorps onconeuraux sont considérés comme étant « bien caractérisés », soit l'anti-Hu, l'anti-Yo, l'anti-Ri, l'anti-CV2, l'anti-Ma2 (anti-Ta) et l'anti-amphiphysine. La liste des divers syndromes et cancers fréquemment associés aux anticorps onconeuraux est présentée dans le tableau 2 ci-après.

¹⁴ Le terme « syndrome classique » s'applique aux syndromes neurologiques qui sont souvent associés à un cancer. Le diagnostic d'un tel syndrome devrait mener à la recherche d'une tumeur occulte, sans qu'il soit tenu compte des anticorps détectés [Graus *et al.*, 2004].

Tableau 2 Syndromes et principaux cancers associés aux anticorps onconeuronaux

ANTICORPS ONCONEURONAUX	PRINCIPAUX SYNDROMES ASSOCIÉS	PRINCIPAUX CANCERS ASSOCIÉS
Anti-Hu (anti-ANNA-1)	Encéphalomyélite, encéphalite limbique, dégénérescence cérébelleuse, neuropathie sensorielle	CPPC
Anti-Yo (anti-PCA-1)	Dégénérescence cérébelleuse	Cancer du sein et des ovaires
Anti-Ri (anti-ANNA-2)	Dégénérescence cérébelleuse, encéphalite du tronc cérébral	CPPC, cancer du sein
Anti-CV2 (anti-CRMP5)	Encéphalomyélite, dégénérescence cérébelleuse, chorée, neuropathie sensorielle, encéphalite limbique	CPPC, thymome
Anti-Ma2 ou anti-Ta (anti-PNMA2)	Encéphalite (limbique, du tronc cérébral), dégénérescence cérébelleuse	Cancer des cellules germinales (testicules), cancer du poumon

Source : adapté de Graus *et al.*, 2004.

Sigle : CPPC : cancer du poumon à petites cellules

* Contrairement aux six autres anticorps présentés dans ce tableau, l'anti-PCA2 est considéré comme un anticorps partiellement caractérisé [Graus *et al.*, 2004].

Selon une étude menée par le PNS Euronetwork consortium (un consortium européen regroupant 20 centres dans 11 pays) sur 979 patients [Giometto *et al.*, 2010], les SNP les plus fréquents sont la dégénérescence cérébelleuse (24,3 %), la neuropathie sensorielle (24,3 %, atteinte périphérique) et l'encéphalite limbique (10 %). L'analyse sérologique d'anticorps onconeuronaux chez ces patients a révélé que l'anti-Hu est l'autoanticorps le plus fréquent (38,8 %), suivi de l'anti-Yo (13,4 %). La fréquence des autres anticorps onconeuronaux était inférieure à 10 %. Par ailleurs, le cancer du poumon à petites cellules, le cancer du sein, le cancer des ovaires et le cancer du poumon non à petites cellules sont les cancers les plus fréquemment associés avec un SNP, ce qui représente 66,5 % des cancers associés.

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

De 50 à 100, par année, dans la population desservie par le centre demandeur et de 150 à 300, par année, au Québec, d'après une estimation des requêtes futures faite par des neurologues.

3.4 Spécialités médicales concernées

Neurologie, hématologie-oncologie.

3.5 Brève description de la situation actuelle

La technique considérée comme la technique de référence de détection des anticorps onconeuronaux est l'immunohistochimie sur coupes de cerveau combinée

à l'immunoblot sur protéines recombinantes purifiées visant à confirmer la spécificité de ces anticorps [Maat *et al.*, 2013]. La méthode immunoblot est actuellement utilisée pour réaliser la détection simultanée de plusieurs autoanticorps. Elle est réalisée à l'aide de diverses trousse commerciales (dont celles de la compagnie EUROIMMUN).

L'immunoblot est généralement utilisé pour confirmer la détection des anticorps à cible intracellulaire (onconeuronaux), mais n'est pas recommandé pour le dépistage (voir la section 7). Les résultats obtenus par immunoblot montrent occasionnellement des bandes de faible intensité ou des bandes multiples qui peuvent s'avérer être des faux positifs. Ces résultats doivent être interprétés avec prudence et mis en contexte clinique si une méthode de dépistage (test sur coupe de tissu par immunofluorescence ou immunohistochimie) n'est pas réalisée préalablement [Hoftberger *et al.*, 2012].

Actuellement, l'analyse des six anticorps onconeuronaux peut être réalisée à l'extérieur du Québec ou au Centre universitaire de santé McGill (CUSM).

3.6 Données médico-administratives

Présentement, deux des six anticorps sont déjà inscrits dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, soit l'anti-Hu (code 30042) et l'anti-Yo (code 30050). Il s'agit de deux analyses suprarégionales désignées au CUSM. Les données de production par établissement du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) de l'année 2014-2015 indiquent 633 demandes d'analyse relatives à chacun de ces anticorps.

Le CUSM offre actuellement l'analyse des six anticorps. L'analyse des six anticorps est réalisée même lorsqu'un seul anticorps est visé par la demande; un seul test est réalisé et le rapport inclut le résultat relatif à chaque anticorps¹⁵.

Les données du MSSS sur les envois hors Québec sont présentées dans le tableau 3 ci-après.

Tableau 3 Données médico-administratives des envois hors Québec de l'année 2013-2014

ANALYSE	NOMBRE	COÛT TOTAL*	LABORATOIRE DE RÉFÉRENCE
Bilan paranéoplasique	3	1 172,73 \$	Mayo Medical Laboratories (États-Unis) ¹⁶

* Le coût total a été calculé en multipliant le nombre d'analyses par le coût unitaire.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

La présence d'anticorps onconeuronaux indique la nature paranéoplasique d'un trouble neurologique. Ainsi, la détection de ces anticorps permet de confirmer un diagnostic de syndrome neurologique paranéoplasique (SNP), mais également de

¹⁵ Information obtenue du Dr Karim Mourabit Amari, médecin biochimiste au CHU de Québec (Hôpital de l'Enfant-Jésus), le 8 janvier 2016.

¹⁶ Le bilan paranéoplasique de Mayo Medical Laboratories comprend la détection de 15 anticorps, dont l'anti-amphiphysine, l'anti-CV2 (CRMP5), l'anti-Ri (ANNA-2), l'anti-Hu (ANNA-1), l'anti-Yo (PCA-1). L'anti-Ma2 ou anti-Ta (PNMA2), inclus dans la trousse EUROIMMUN, n'est pas inclus dans ce bilan. L'information tirée du site Web « Paraneoplastic Autoantibody Evaluation, Serum » de Mayo Medical Laboratories est disponible à : <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Overview/83380> (consulté le 19 février 2016).

limiter à certains organes ciblés la recherche d'un cancer sous-jacent (visée pronostique).

L'analyse par immunoblot offre la possibilité de détecter plusieurs autoanticorps à la fois.

3.8 Assurance qualité

Des échantillons de sérums positifs serviront au contrôle de qualité interne; la participation à des contrôles de qualité externes est prévue lorsqu'ils seront disponibles.

3.9 Remplacement d'un autre test

L'analyse sérologique des six anticorps pourrait remplacer l'analyse de l'anti-Hu (code 30042) et de l'anti-Yo (code 30050) déjà incluses dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

La recherche documentaire effectuée concernant la période de 2005 à 2015 n'a permis de repérer qu'un faible nombre d'études de cohorte, probablement en raison de la rareté des SNP. Par ailleurs, plusieurs études de cas ont été repérées; elles n'ont pas été retenues, parce qu'elles ne permettaient pas d'établir un lien entre la méthode de détection, les anticorps présents et le diagnostic. Les études de cohorte retenues [Saraya *et al.*, 2013; Michalak *et al.*, 2009] sont présentées dans le tableau 4.

L'étude de Michalak et ses collaborateurs [2009] avait pour objectif de détecter, entre autres, les anticorps onconeuraux (anti-Hu, anti-Ri, anti-Yo, anti-Ma (anti-Ta), anti-CV2 et anti-amphiphysine) chez des patients qui présentent une maladie pulmonaire et chez lesquels la présence d'un SNP est suspectée. À partir d'une base de données de 525 patients chez lesquels la présence d'un SNP est suspectée, 21 patients atteints d'une maladie pulmonaire ont été sélectionnés. La présence d'anticorps onconeuraux a été détectée par immunofluorescence indirecte (IFI) (EUROIMMUN) chez 5 (23,8 %) de ces patients, puis confirmée par Western blot (EUROIMMUN), une technique similaire à l'immunoblot. Les manifestations neurologiques les plus fréquentes étaient des neuropathies (8 cas, soit 38,1 %). Les SNP associés à la présence d'un anticorps onconeural incluaient l'encéphalite limbique et la dégénérescence cérébelleuse. Un cancer a été détecté chez 4 patients, dont 3 cancers du poumon, chacun présentant un anticorps différent. Les auteurs concluent que la détection des anticorps est fortement prédictive d'un SNP classique associé à une forte probabilité de cancer sous-jacent.

Une étude de cohorte prospective a été menée par Saraya et ses collaborateurs [2013] sur des patients dont l'encéphalite était évidente. Cette étude avait pour objectif d'évaluer la présence d'autoanticorps dans les cas d'encéphalite auto-immune, exclusion faite des causes infectieuses. Parmi les 103 patients recrutés, 25 (24 %) souffraient d'encéphalite auto-immune. La détection des autoanticorps a été réalisée par IFI sur cellules HEK293 transfectées (EUROIMMUN), puis confirmée par

immunoblot (EUROIMMUN), en partie sur des échantillons de sérum congelé (d'octobre 2010 à juin 2011) et en analyse de routine (de juin 2011 à août 2012). Parmi les 20 anticorps à l'étude, les anticorps onconeuraux anti-Hu, anti-Ri, anti-Yo, anti-CV2 et anti-amphiphysine ont été évalués. L'anti-Ri a été détecté le plus fréquemment, suivi de l'anti-Yo. Un cancer a été détecté chez 3 patients (12 %), dont 1 patient ayant l'anti-Ri et 1 patient ayant l'anti-Yo. Toutefois, les auteurs mentionnent que la recherche d'un cancer n'a pas été réalisée chez tous les patients, leurs résultats de laboratoire n'ayant été connus qu'après leur sortie de l'hôpital et parce qu'ils présentaient une incapacité grave, ou en raison du refus des familles de participer à des investigations additionnelles. Selon les auteurs, les résultats de cette étude portent à recommander l'évaluation des causes auto-immunes dans les cas d'encéphalite dont le bilan infectieux est négatif.

Tableau 4 Valeur diagnostique de la détection des anticorps onconeuraux

ÉTUDE	N	MÉTHODE DÉTECTION – CONFIRMATION	ANTICORPS ONCONEURONAUX DÉTECTÉS N (%)	CANCER ASSOCIÉ (N)	SNP DIAGNOSTIQUÉ N (%)
Michalak <i>et al.</i> , 2009	21	IFI – WB (EUROIMMUN)	5/21 (23,8) Hu : 2 Ri : 1 Ri + Yo : 1 Amph : 1	Hu : CPPC (2) Ri : sein, MP (1) Ri + Yo : (0) Amph : CPNPC (1)	DC : 1 (4,8) EL : 2 (9,5) DC + EL : 1 (4,8)
Saraya <i>et al.</i> , 2013	25	IFI : Immunoblot (EUROIMMUN)	Ri : 6 (24) Yo : 2 (8) Ri + NMDA : 1 (4)	Ri : ovaires (1) Yo : cellules germinales (1)	EA

Sigles : amph : amphiphysine; CPPC : cancer du poumon à petites cellules; CPNPC : cancer du poumon non à petites cellules; DC : dégénérescence cérébelleuse; EA : encéphalite autoimmune; EL : encéphalite limbique; IFI : immunofluorescence indirecte; MP : métastases pulmonaires; N : nombre; SNP : syndrome neurologique paranéoplasique; WB : western blot.

4.2 Valeur pronostique

Le pronostic d'un syndrome paranéoplasique, bien qu'il soit globalement sombre, varie en fonction des autoanticorps présents, tel que l'illustrent les trois études retenues [Horta *et al.*, 2014; Honnorat *et al.*, 2009; Shams'ili *et al.*, 2003], présentées dans les tableaux 5 et 6.

L'étude de Shams'ili et ses collaborateurs [2003], bien qu'elle ne soit pas récente, est citée par de nombreux auteurs. Cette étude avait pour objectif d'examiner la fréquence relative des autoanticorps associés à la dégénérescence cérébelleuse (DC) et de comparer les symptômes neurologiques, les cancers associés, le degré d'incapacité et la survie selon l'autoanticorps détecté (voir le tableau 5). Sur une période de 12 ans, plus de 5 000 échantillons de sérum ont été analysés en vue d'y détecter la présence d'autoanticorps, ce qui a permis de repérer 137 patients atteints d'un SNP, et un titre en anticorps supérieur ou égal à 400. Parmi ces patients, 50 patients (36,5 %) avaient des anticorps associés à la DC, dont l'anti-Hu, l'anti-Yo et l'anti-Ri. La survie médiane des patients qui avaient l'anti-Ri était plus longue, comparativement à celle des patients qui avaient l'anti-Hu ou l'anti-Yo. Toutefois, aucune valeur d'importance relative sur le plan statistique n'est

mentionnée par les auteurs. Un meilleur pronostic neurologique était également associé à l'anti-Ri. L'évaluation des capacités fonctionnelles au moyen de l'échelle de Rankin a révélé que 83 % de ces patients avaient la capacité de marcher au moment du dernier suivi ou du décès. Par contre, seulement 4 patients (21 %) ayant l'anti-Yo et 4 patients (25 %) ayant l'anti-Hu sont demeurés ambulatoires. Les auteurs affirment qu'un traitement antitumoral et l'essai de l'immunothérapie classique sont recommandés chez les patients dont la DC évolue plus lentement et ceux ayant l'anti-Ri.

Une étude de cohorte rétrospective a été réalisée au moyen de données issues d'un registre afin de comparer les caractéristiques cliniques et tumorales de patients ayant l'anti-CV2 (n = 37) ou l'anti-Hu (n = 324) [Honnorat *et al.*, 2009]. Les données de survie médiane sont présentées dans le tableau 5 et les informations relatives à la fréquence et au type de cancer sont décrites dans le tableau 6. Les données indiquent que la survie médiane était significativement plus longue en présence d'anti-CV2, comparativement à l'anti-Hu ou à la présence des deux anticorps (p = 0,01). Par ailleurs, cet écart est demeuré significatif en considérant uniquement le sous-groupe de patients atteints d'un cancer du poumon à petites cellules (CPPC) et en ajustant selon l'âge, le sexe, le score obtenu à l'échelle de Rankin et les symptômes neurologiques à l'intérieur de ce sous-groupe. Ainsi, le pronostic d'un cancer, en l'occurrence le cancer du poumon (voir le tableau 6), peut être différent selon le type d'anticorps onconeural présent.

Tableau 5 Survie médiane et capacités fonctionnelles de patients atteints de dégénérescence cérébelleuse en fonction du type d'anticorps détecté

ÉTUDE	NOMBRE (DIAGNOSTIC)	FRÉQUENCE DE L'ANTICORPS NOMBRE (%)	SURVIE MÉDIANE	CAPACITÉS FONCTIONNELLES NOMBRE (%)
Shams'ili <i>et al.</i> , 2003	50 (DC)	Hu : 16 (32) Yo : 19 (38) Ri : 6 (12)	Hu : 7 mois Yo : 13 mois Ri : > 69 mois	<u>Patients alités : SR* ≥ 4</u> Hu : 12/16 (75) Yo : 15/19 (79) Ri : 1/6 (17) <u>Patients ambulatoires : SR* < 3</u> Hu : 4/16 (25) Yo : 4/19 (21) Ri : 5/6 (83)
Honnorat <i>et al.</i> , 2009	361 (SNP)	CV2 : 37 (10,2) Hu : 324 (89,8)	CV2 c. Hu 47,67 c. 11,46 mois (p = 0,01) <u>CV2 c. CV2 + Hu</u> 47,67 c. 18,00 mois (p = 0,01)	ND

Sigles : DC : dégénérescence cérébelleuse; ND : non déterminé; SNP : syndrome neurologique paranéoplasique; SR : score à l'échelle de Rankin

* À l'échelle de Rankin, un score de 1 à 3 représente une incapacité légère à modérée (patient ambulateur), un score de 4 ou 5 représente une incapacité grave et un besoin d'aide à la marche ou alitement. Information tirée du site Web « Évaluation clinique et fonctionnelle d'un handicap moteur » du Collège des enseignants de neurologie, disponible à : <http://www.cen-neurologie.fr/2eme-cycle/Items%20inscrits%20dans%20les%20modules%20transversaux/Evaluation%20clinique%20et%20fonctionnelle%20d%27un%20handicap%20moteur/index.phtml> (consulté le 18 février 2016).

La présence d'anticorps onconeuraux indique la nature paranéoplasique d'un trouble neurologique et permet de limiter la recherche de cancer à certains organes ciblés.

L'étude d'Honnorat et ses collaborateurs [2009] précédemment décrite permet d'illustrer cet aspect (voir le tableau 6). La survie médiane plus longue en présence d'anti-CV2 n'était pas associée à un type de cancer en particulier. En effet, le CPPC est le cancer le plus fréquemment détecté dans les groupes ayant l'anti-CV2 et l'anti-Hu. Aucun autre type de cancer n'a été détecté dans le groupe ayant l'anti-Hu. Les auteurs concluent qu'un syndrome associé à l'anti-CV2 semble être une entité morbide différente d'un syndrome associé à l'anti-Hu, bien que ces deux anticorps puissent être présents en concomitance chez un même patient.

Une étude menée à la clinique Mayo avait pour objectif d'évaluer si certains groupes d'autoanticorps permettaient de prédire le type de cancer associé au SNP [Horta *et al.*, 2014] (voir le tableau 6). Pour ce faire, une analyse mathématique des résultats d'évaluation des autoanticorps présents dans le sérum de 78 889 patients chez lesquels le SNP était suspecté a été réalisée, puis validée à l'aide des résultats obtenus d'un groupe de 368 patients atteints de cancer du poumon, du thymus ou des amygdales. L'analyse sérologique comprenait 15 autoanticorps, dont l'anti-Hu, l'anti-Ri, l'anti-Yo, l'anti-CV2 et l'anti-amphiphysine.

Parmi les 155 patients ayant l'anti-Hu, la détection d'un cancer a été significativement plus fréquente, lorsque la présence de cet anticorps était concomitante à celle de l'anti-VGCC ou de l'anti-CV2, que lorsqu'il était le seul anticorps présent (79 % c. 58 %, $p = 0,02$). De plus, la présence concomitante de l'anti-VGCC ou de l'anti-CV2 avec l'anti-Hu faisait augmenter la probabilité de développer un cancer du poumon, passant de 84,6 % en présence de l'anti-Hu seul à 100 % ($p = 0,007$), sans toutefois entraîner un effet significatif sur la fréquence de cancer du sein.

La fréquence globale de cancer était similaire chez les patients ayant l'anti-amphiphysine seul (84 %) ou en combinaison avec l'anti-Hu ou l'anti-CV2 (70 %). L'anti-amphiphysine seul était significativement associé au cancer du sein (61,3 % c. 6,3 % en combinaison avec d'autres anticorps, $p = 0,0004$). Par contre, lorsque cet anticorps était accompagné de l'anti-Hu ou de l'anti-CV2, le cancer du poumon était significativement plus fréquent (93,8 % c. 25,8 % en présence de l'anti-amphiphysine seul, $p < 0,0001$).

Les auteurs concluent que les anticorps onconeuraux coexistent généralement en groupes spécifiques, détectables par analyse simultanée de plusieurs anticorps. De plus, ils affirment que ces combinaisons d'anticorps sont fortement prédictives de certains types de cancer, ce qui permet de limiter la recherche du cancer en ciblant seulement certains organes.

Tableau 6 Association entre la présence concomitante d'anticorps onconeuronaux et le type de cancer détecté

ÉTUDE	ANTICORPS : N	FRÉQUENCE DE CANCER N (%)	TYPE DE CANCER		
			POUMON N (%)	THYMUS N (%)	SEIN N (%)
Honnorat <i>et al.</i> , 2009	CV2 : 37	34 (91,9)	21/34 (61,8)	5/34 (14,7)	N. D.
	Hu : 324	278 (85,8)	196/278 (70,5)*	0	N. D.
	CV2 + Hu : 10	9 (90)	7/9 (77,8) [†]	1/9 (11,1)	N. D.
Horta <i>et al.</i> , 2014	Hu : 112	65 (58)	55/65 (84,6)	N. D.	1/65 (1,5)
	Hu + VGCC ou CV2 : 43	34 (79) ‡	34/34 (100) [§]	N. D.	1/34 (2,9)
	Amph : 37 ♀	31 (84)	8/31 (25,8)	N. D.	19/31 (61,3)
	Amph + Hu ou CV2 : 23 ♀	16 (70)	15/16 (93,8)	N. D.	1/16 (6,3) [¶]

Sigles: ♀ : femme; amph : amphiphysine; N : nombre; N. D. : non déterminé

* p < 0,0001 (CV2 c. Hu); † p = 0,04 (Hu c. CV2 + Hu)

‡ p = 0,02 (Hu c. Hu + VGCC ou CV2); § p = 0,007 (Hu c. Hu + VGCC ou CV2); || p < 0,0001 (amph c. amph + Hu ou CV2);

¶ p = 0,0004 (amph c. amph + Hu ou CV2).

4.3 Valeur thérapeutique

L'analyse sérologique des six anticorps onconeuronaux ne permet pas de choisir ou de modifier le traitement de patients atteint d'un syndrome neurologique paranéoplasique (SNP).

4.4 Validité analytique

Les seules données analytiques publiées, relatives à la méthode d'analyse par immunoblot d'EUROIMMUN, qui ont été repérées portent sur la détection de l'anti-Ma2. Cet autoanticorps est peu fréquent et sa détection par IFI montre un motif de localisation nucléaire très diffus [Johannis *et al.*, 2011]. Les trousse commerciales d'analyse par immunoblot rendraient l'interprétation des résultats plus facile. Ainsi, l'étude de Johannis et ses collaborateurs [2011] avait pour objectif de comparer l'IFI et trois trousse commerciales d'analyse par immunoblot comparables, dont la trousse Neuronal Antigens Profile 2 d'EUROIMMUN, en analysant les échantillons de sérum de 35 patients chez lesquels la présence d'un SNP est suspectée. Un résultat consensuel a été obtenu afin que chaque échantillon puisse servir de référence dans la détermination de la sensibilité et de la spécificité de l'IFI et de chaque trousse (voir le tableau 7). Un résultat était considéré comme positif si au moins 2 des 4 méthodes donnaient un résultat positif. Un résultat était considéré comme négatif si un résultat négatif était obtenu par les 4 méthodes ou si une seule méthode donnait un résultat positif. Parmi les 35 échantillons, 17 ont été considérés comme positifs et 18 ont été confirmés négatifs.

Tableau 7 Comparaison de la validité analytique de l'IFI et de trois trousse d'analyse par immunoblot dans la détection de l'anti-Ma2

MÉTHODE	SENSIBILITÉ	FAUX NÉGATIFS NOMBRE (%)	SPÉCIFICITÉ	FAUX POSITIFS NOMBRE (%)
IFI	94 %	1/35 (2,9 %)	94 %	1/35 (2,9 %)
EUROIMMUN NAP 2	100 %	0	89 %	2/35 (5,7 %)
Ravo PNS Blot	88 %	2 (5,7 %)	100 %	0
Milenia Biotec MTR	94 %	1/35 (2,9 %)	100 %	0
IFI + EUROIMMUN	100 %	N. D.	83 %	N. D.

N. D. : non déterminé

La trousse d'EUROIMMUN a permis de détecter l'anti-Ma2 avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 89 %. Un taux de faux positifs de 5,7 % a été obtenu comparativement à 2,9 % par IFI. L'utilisation de l'IFI en combinaison avec la trousse d'EUROIMMUN a permis de conserver une excellente sensibilité, au détriment de la spécificité. Le taux de faux positifs dans ces conditions n'a toutefois pas été indiqué. En dépit du faible nombre d'échantillons analysés, les auteurs concluent que l'utilisation de deux méthodes de détection d'anti-Ma2 est nécessaire afin d'obtenir les meilleurs résultats.

Données du fabricant de la trousse d'analyse

Les données de validité analytique de la trousse EUROLINE Neuronal Antigens Profile 2 (IgG) proviennent de la brochure d'information fournie avec la trousse.

Le fabricant, EUROIMMUN, mentionne que les résultats d'analyse par immunoblot (EUROLINE Profile 2) doivent être comparés avec les résultats obtenus par IFI sur biopuce (IFI Biochip Neurology Mosaic sur coupes congelées de tissus de primate). Seuls les résultats ayant une correspondance plausible entre les deux technologies et les symptômes neurologiques doivent être considérés. Par ailleurs, la réalisation d'une analyse d'IFI en parallèle à l'aide de la trousse EUROLINE Profile 2 permet d'éviter les faux positifs.

Réaction croisée

Selon la monographie fournie avec la trousse, aucune réaction croisée avec d'autres autoanticorps n'a été détectée; aucune mention des autoanticorps qui ont été analysés n'y est faite.

Interférence (effet de matrice)

Les échantillons hémolysés jusqu'à une concentration de 5 mg/ml, lipémiques jusqu'à 20 mg/ml et ictériques jusqu'à 0,4 mg/ml de bilirubine n'ont montré aucune interférence avec l'analyse réalisée à l'aide de la trousse EUROLINE.

Variation inter-essai et intra-essai

La variation inter-essai a été déterminée par des analyses multiples d'échantillons caractérisés, réalisées sur une période de plusieurs jours. La variation intra-essai a été déterminée par des analyses multiples d'échantillons caractérisés réalisées au cours d'une même journée. Dans tous les cas, l'intensité de coloration des stries se situait dans la limite de l'échelle spécifiée.

Sensibilité et spécificité de détection

Des échantillons de sérum sérologiquement précaractérisés de 70 patients ayant un syndrome paranéoplasique et de 40 donneurs de sang présumés être en bonne santé (groupe témoin négatif) ont été analysés afin d'y détecter des anticorps antineuronaux. Les résultats de sensibilité de détection sont les suivants :

ANTIGÈNE (PROTEINE PURIFIÉE*)	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS DE SÉRUM PRÉCARACTÉRISÉS	SENSIBILITÉ %
Amphiphysine (amphiphysine 1)	2	100
Ma2 ou Ta (PNMA2)	9	89
CV2 (CV2)	4	100
Ri (Nova1)	8	100
Yo (cdr62)	20	100
Hu (HuD)	27	100

* Les protéines indiquées entre parenthèses sont les protéines synthétisées et purifiées par des méthodes biochimiques présentes sur les bandelettes de la trousse EUROLINE.

La spécificité de l'analyse, calculée à partir des échantillons de donneurs de sang, est de 100 %.

4.5 Données fournies par le demandeur

Aucune donnée locale de validation n'a été fournie par le centre demandeur. La trousse d'analyse EUROLINE Neuronal Antigens Profile 2 (IgG) n'a pas été utilisée par le centre demandeur.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Ces aspects n'ont pas été évalués.

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

Un groupe de travail de la Fédération européenne des sociétés neurologiques (European Federation of Neurological Societies ou EFNS) recommande d'analyser plusieurs anticorps paranéoplasiques simultanément, parce que la plupart des

syndromes et des cancers sont associés à plus d'un anticorps. Cette approche serait plus efficace et permettrait de réduire le délai dans la recherche d'un cancer sous-jacent [Titulaer *et al.*, 2011].

Des lignes directrices sur les méthodes de détection des anticorps antineuronaux ont été publiées dans un guide de pratique clinique en neuropathologie. Il y est mentionné que pour obtenir un maximum de sensibilité et de spécificité, la combinaison d'une méthode de dépistage (par immunofluorescence indirecte sur coupe de tissu (en anglais *tissue-based assay*) ou par immunohistochimie) et d'un test de confirmation (immunoblot ou *cell-based assay*) est recommandée [Hoftberger *et al.*, 2012].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La détection des anticorps onconeuronaux permettrait de confirmer un diagnostic de syndrome neurologique paranéoplasique (SNP) et de limiter à certains organes ciblés la recherche d'un cancer sous-jacent. L'analyse par immunoblot permet de détecter simultanément plusieurs de ces anticorps.

Valeur diagnostique

La détection d'anticorps onconeuronaux et la présence de certains types de cancer ont permis de confirmer un diagnostic de dégénérescence cérébelleuse ou d'encéphalite d'étiologie auto-immune chez des patients chez lesquels un SNP était suspecté.

Valeur pronostique

L'anti-Ri a été associé à une survie médiane plus longue et à un meilleur pronostic neurologique, comparativement à l'anti-Hu et à l'anti-Yo. La survie médiane des patients ayant l'anti-CV2 était significativement plus longue, comparativement à celle des patients ayant l'anti-Hu ou les deux anticorps. Certaines combinaisons d'autoanticorps sont fortement prédictives de certains types de cancer. La présence concomitante de l'anti-VGCC ou de l'anti-CV2 avec l'anti-Hu ferait augmenter la probabilité de développer un cancer du poumon. L'anti-amphiphysine seul est significativement associé au cancer du sein, tandis qu'en présence de l'anti-Hu ou de l'anti-CV2, le cancer du poumon est significativement plus fréquent.

Valeur thérapeutique

L'analyse sérologique des six anticorps onconeuronaux ne permet pas de choisir ou de modifier le traitement de patients atteints d'un SNP.

Validité analytique

La comparaison de trois trousse d'analyse par immunoblot dont une trousse d'EUROIMMUN, et l'IFI a été réalisée relativement à la détection d'un seul anticorps, soit l'anti-Ma2. La trousse d'EUROIMMUN a permis de détecter l'anti-Ma2 avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 94 %. Un taux de faux positifs de 5,7 % a été obtenu comparativement à 2,9 % par l'IFI. L'utilisation combinée de l'IFI et de la trousse d'EUROIMMUN a permis de conserver une excellente sensibilité, au détriment de la spécificité. Le taux de faux positifs dans ces conditions n'était pas mentionné.

Les données de validité analytique de la trousse EUROLINE Neuronal Antigens Profile 2 (IgG) d'EUROIMMUN indiquent que la variation intra-essai et inter-essai était située dans la limite de l'échelle spécifiée. Aucun effet de matrice ni réaction croisée n'a été observé. La sensibilité de détection était de 100 %, sauf celle de l'anti-Ma2 (anti-Ta), qui était de 89 %, et la spécificité était de 100 % relativement à tous les anticorps. Aucune donnée locale de validation n'a été fournie par le centre demandeur.

Positions ou orientations d'autres organisations

La Fédération européenne des sociétés neurologiques (European Federation of Neurological Societies ou EFNS) recommande l'analyse d'un ensemble d'anticorps onconeuraux plutôt que de certains anticorps individuellement.

Un guide de pratique clinique en neuropathologie recommande la combinaison d'une méthode de dépistage (par immunofluorescence indirecte sur coupe de tissu ou par immunohistochimie) et d'un test de confirmation (immunoblot ou *cell-based assay*) pour réaliser l'analyse des anticorps antineuraux.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse sérologique des autoanticorps antineuronaux : amphiphysine, CV2, Ma2 (Ta), Ri, Hu et Yo dans les cas d'atteinte autoimmune du système nerveux central

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Aucune donnée de vérification de la trousse n'est disponible.
- ✓ Aucun programme de contrôle de la qualité externe n'est proposé par le laboratoire demandeur.

BIBLIOGRAPHIE

- Giometto B, Grisold W, Vitaliani R, Graus F, Honnorat J, Bertolini G. Paraneoplastic neurologic syndrome in the PNS Euronetwork database: A European study from 20 centers. *Arch Neurol* 2010;67(3):330-5.
- Graus F, Saiz A, Dalmau J. Antibodies and neuronal autoimmune disorders of the CNS. *J Neurol* 2010;257(4):509-17.
- Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75(8):1135-40.
- Hoffmann LA, Jarius S, Pellkofer HL, Schueller M, Krumbholz M, Koenig F, et al. Anti-Ma and anti-Ta associated paraneoplastic neurological syndromes: 22 newly diagnosed patients and review of previous cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79(7):767-73.
- Hoftberger R, Dalmau J, Graus F. Clinical neuropathology practice guide 5-2012: Updated guideline for the diagnosis of antineuronal antibodies. *Clin Neuropathol* 2012;31(5):337-41.
- Honnorat J. Therapeutic approaches in antibody-associated central nervous system pathologies. *Rev Neurol (Paris)* 2014;170(10):587-94.
- Honnorat J, Cartalat-Carel S, Ricard D, Camdessanche JP, Carpentier AF, Rogemond V, et al. Onco-neural antibodies and tumour type determine survival and neurological symptoms in paraneoplastic neurological syndromes with Hu or CV2/CRMP5 antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80(4):412-6.
- Horta ES, Lennon VA, Lachance DH, Jenkins SM, Smith CY, McKeon A, et al. Neural autoantibody clusters aid diagnosis of cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(14):3862-9.
- Irani SR, Stagg CJ, Schott JM, Rosenthal CR, Schneider SA, Pettingill P, et al. Faciobrachial dystonic seizures: The influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a broadening phenotype. *Brain* 2013;136(Pt 10):3151-62.
- Irani SR, Michell AW, Lang B, Pettingill P, Waters P, Johnson MR, et al. Faciobrachial dystonic seizures precede Lgi1 antibody limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2011;69(5):892-900.
- Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, et al. Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain* 2010;133(9):2734-48.
- Irani SR, Buckley C, Vincent A, Cockerell OC, Rudge P, Johnson MR, Smith S. Immunotherapy-responsive seizure-like episodes with potassium channel antibodies. *Neurology* 2008;71(20):1647-8.

- Johannis W, Renno JH, Wielckens K, Voltz R. Ma2 antibodies: An evaluation of commercially available detection methods. *Clin Lab* 2011;57(5-6):321-6.
- Karim AR et Jacob S. Immunological markers in neurological disorders. *Ann Clin Biochem* 2012;49(Pt 1):29-43.
- Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, et al. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol* 2009;65(4):424-34.
- Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Dalmau J. Encephalitis and antibodies to synaptic and neuronal cell surface proteins. *Neurology* 2011;77(2):179-89.
- Lancaster E, Lai M, Peng X, Hughes E, Constantinescu R, Raizer J, et al. Antibodies to the GABA(B) receptor in limbic encephalitis with seizures: Case series and characterisation of the antigen. *Lancet Neurol* 2010;9(1):67-76.
- Le Dault E, Lagarde S, Guedj E, Dufournet B, Rey C, Kaphan E, et al. Troubles neuropsychiatriques inexpliqués : penser aux encéphalites dysimmunitaires. À propos d'une observation d'encéphalite à anticorps anti-leucine rich glioma inactivated 1 (LGI-1). *Rev Med Interne* 2016;37(2):127-30.
- Leyppoldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann N Y Acad Sci* 2015;1338:94-114.
- Maat P, Brouwer E, Hulsboom E, VanDuijn M, Schreurs MW, Hooijkaas H, Smitt PA. Multiplex serology of paraneoplastic antineuronal antibodies. *J Immunol Methods* 2013;391(1-2):125-32.
- Michalak S, Cofta S, Piatek A, Rybacka J, Wysocka E, Kozubski W. Onconeural and antineuronal antibodies in patients with neoplastic and non-neoplastic pulmonary pathologies and suspected for paraneoplastic neurological syndrome. *Eur J Med Res* 2009;14(Suppl 4):156-61.
- Roberts WK et Darnell RB. Neuroimmunology of the paraneoplastic neurological degenerations. *Curr Opin Immunol* 2004;16(5):616-22.
- Saraya A, Mahavithakanont A, Shuangshoti S, Sittidetboripat N, Deesudchit T, Callahan M, et al. Autoimmune causes of encephalitis syndrome in Thailand: Prospective study of 103 patients. *BMC Neurol* 2013;13:150.
- Shams'ili S, Grefkens J, de Leeuw B, van den Bent M, Hooijkaas H, van der Holt B, et al. Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with antineuronal antibodies: Analysis of 50 patients. *Brain* 2003;126(Pt 6):1409-18.
- Titulaer MJ, Soffietti R, Dalmau J, Gilhus NE, Giometto B, Graus F, et al. Screening for tumours in paraneoplastic syndromes: Report of an EFNS task force. *Eur J Neurol* 2011;18(1):19-e3.
- Varley J, Vincent A, Irani SR. Clinical and experimental studies of potentially pathogenic brain-directed autoantibodies: Current knowledge and future directions. *J Neurol* 2015;262(4):1081-95.

Vincent A, Buckley C, Schott JM, Baker I, Dewar BK, Detert N, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: A potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. *Brain* 2004;127(Pt 3):701-12.

ANNEXE A

Critères diagnostiques des syndromes neurologiques paranéoplasiques (SNP) [Graus *et al.*, 2004]

SNP confirmé

1. Un syndrome classique, associé à un cancer qui se développe dans un délai de 5 ans suivant le diagnostic d'un trouble neurologique
2. Un syndrome non classique qui se résorbe ou qui s'améliore significativement après traitement du cancer sans immunothérapie concomitante, à la condition que le syndrome ne soit pas sujet à une rémission spontanée
3. Un syndrome non classique, en présence d'anticorps onconeuronaux (bien caractérisés ou non), associé à un cancer qui se développe dans un délai de 5 ans suivant le diagnostic d'un trouble neurologique
4. Un syndrome neurologique (classique ou non), en présence d'anticorps onconeuronaux (anti-Hu, anti-Yo, anti-CV2, anti-Ri, anti-Ma2 ou anti-amphiphysine), sans cancer

SNP probable

1. Un syndrome classique, sans anticorps onconeuronaux et sans cancer, mais à risque élevé de présence d'un cancer sous-jacent
2. Un syndrome neurologique (classique ou non), en présence d'anticorps onconeuronaux partiellement caractérisés, sans cancer
3. Un syndrome non classique, sans anticorps onconeuronaux, associé à un cancer confirmé dans un délai de 2 ans suivant le diagnostic

DÉTECTION DES AUTOANTICORPS ANTINEURONAUX ANTI-VGKC (ANTI-LGI1, ANTI- CASPR2) DANS LES CAS D'ATTEINTE AUTO-IMMUNE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL (RÉFÉRENCE – 2014.03.008)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur :** CHUM – Hôpital Notre-Dame
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre :** 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis :** 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le Dr 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 la validation du présent avis, les experts consultés sont le Dr Martin Savard (neurologue, CHU de Québec) et la Dre Annie Dionne (neurologue spécialisée en maladies neuromusculaires, CHU de Québec).

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

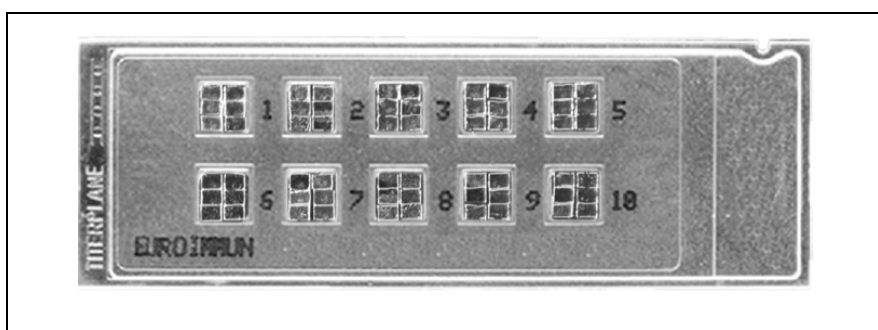
2.1 Nom de l'analyse

Analyse sérologique des autoanticorps anti-Lgi1 (en anglais *anti-leucine-rich glioma-inactivated protein 1*) et anti-Caspr2 (*anti-contactin-associated protein 2*) par immunofluorescence indirecte sur cellules transfectées (en anglais *cell-based assay*).

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

La trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 utilise la technique TITERPLANE^{MC} mise au point par EUROIMMUN (voir la figure 1), une technologie qui fait appel aux biopuces. Cette technologie consiste à utiliser des lamelles de verre couvertes de coupes de tissus ou de cellules transfectées exprimant la protéine d'intérêt. Ces lamelles sont coupées en fragments de quelques millimètres (biopuces), puis fixées sur une lame et disposées en groupe (champ) pour en faciliter l'observation au microscope. Selon le format de la trousse, une lame peut contenir de 3 à 10 champs et de 1 à 8 biopuces par champ, ce qui permet l'analyse de plusieurs échantillons et anticorps à la fois.

Figure 1 Schéma d'une lame à biopuces pour immunofluorescence indirecte d'EUROIMMUN



Source : EUROIMMUN France (<http://www.bio-advance.com/index.php/techniqueifi>), consulté le 3 février 2016.

Les échantillons ou les réactifs sont déposés dans les aires de réaction d'un support de lame. Les aires de réaction correspondent aux emplacements des biopuces de la lame. L'incubation est amorcée lorsque la lame contenant les biopuces est posée à l'envers sur le support de lame (TITERPLANE). Toutes les biopuces sont en contact avec les liquides et les réactions individuelles commencent simultanément dans les mêmes conditions.

Les échantillons de sérum ou de plasma dilués à raison de 1/10 (ou de liquide céphalorachidien (LCR) non dilué) sont ajoutés aux aires de réaction d'un support de lame, puis incubés en présence des cellules ou des tissus fixés aux biopuces. Par la suite, les anticorps présents dans les échantillons sont détectés par des anticorps anti-immunoglobulines humaines couplés à la fluorescéine. Finalement, les biopuces sont couvertes d'un milieu d'inclusion à base de glycérol puis d'une lamelle, afin de permettre l'observation de la fluorescence au microscope.

Chaque champ d'une lame de la trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 comporte trois biopuces (Lgi1, Caspr2 et cellules témoins de transfection EU90) permettant la détection simultanée des anticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2. Les anti-Lgi1 et les anti-Caspr2 réagissent spécifiquement avec le cytoplasme et en partie avec la membrane des cellules transfectées correspondantes. Une évaluation quantitative peut aussi être réalisée pour déterminer le titre en anticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 par dilutions en série des échantillons.

2.3 Modalités d'administration du test

Une fois que les autres causes possibles d'encéphalite (traumatique, vasculaire, toxique, métabolique, médicamenteuse ou infectieuse) ont été éliminées, le neurologue peut demander un bilan néoplasique (techniques d'imagerie) et un bilan paranéoplasique (autoanticorps antineuronaux) de base. Un échantillon de sang (et parfois de LCR) est prélevé au centre de prélèvement, puis acheminé vers le laboratoire central à des fins de centrifugation et de récolte du sérum, lequel sera congelé à -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Le temps de réponse est de 2 à 4 semaines.

2.4 Société ou concepteur

La trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 a été mise au point par la compagnie EUROIMMUN MEDIZINISCHE LABORDIAGNOSTIKA AG (Lübeck, Allemagne).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 (cat. n° FA-1439-1003-1); Santé Canada (n° 85895) 2011-04-21

2.6 Valeur pondérée : 68,75

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients présentant des symptômes laissant supposer la présence d'un syndrome neurologique d'encéphalite auto-immune

3.2 Description des maladies visées

Les encéphalites auto-immunes sont des atteintes rares du système nerveux central (cerveau, tronc cérébral, cervelet, moelle épinière) souvent associées à la présence d'un cancer et précèdent presque toujours la découverte de celui-ci. Ces encéphalites, dites paranéoplasiques, sont la conséquence d'une réaction immunitaire à certains antigènes neuronaux aussi exprimés par la tumeur [Karim et Jacob, 2012]. Généralement, la réponse immunitaire amorcée stoppe avec succès la croissance de la tumeur, ce qui rend cette dernière occulte au moment où le patient développe des symptômes neurologiques. Par contre, lorsque la réponse immunitaire se manifeste dans le système nerveux central, l'atteinte des neurones par les autoanticorps occasionne divers symptômes et troubles neurologiques [Roberts et Darnell, 2004].

On distingue deux catégories de syndromes paranéoplasiques du système nerveux central, à savoir les syndromes classiques, où les anticorps sont dirigés contre des protéines intracellulaires, et les syndromes où les anticorps sont dirigés contre des protéines membranaires ou synaptiques [Graus *et al.*, 2010]. Les principales caractéristiques de ces deux catégories de syndromes sont présentées dans le tableau 1 ci-après.

Tableau 1 Caractéristiques des syndromes paranéoplasiques du système nerveux central

	SYNDROMES CLASSIQUES À CIBLE INTRACELLULAIRE	SYNDROMES À CIBLE MEMBRANAIRE OU SYNAPTIQUE
ANTICORPS	Anticorps onconeuronaux : Hu (ANNA-1), Ri (ANNA-2), Yo (PCA1), Ma2/Ta (PNMA2), CV2 (CRMP5), amphiphysine, PCA2	NMDAR, VGKC* (Lgi1 et Caspr2), AMPAR, GABA(B)R
PATHOGÉNICITÉ	Aucune corrélation entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie (marqueur non pathogénique) (1)	Corrélation directe entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie (1)
CANCER ASSOCIÉ	La majorité des syndromes sont paranéoplasiques. Cancer sous-jacent (> 90 % des cas) (cancer du poumon à petites cellules, cancer du sein et des ovaires, thymomes) (1, 2)	Moins souvent paranéoplasiques (2, 3, 4) Lgi1 (< 10 %) (5) Caspr2 (20 % à 40 %) (4, 5, 11, 13) GABA(B)R (60 %) (6) AMPA (70 %) (7)
TRAITEMENT	Traitement de la néoplasie causale, résection de la tumeur, stabilisation des symptômes neurologiques (2)	Immunothérapie : prednisone, immunoglobulines intraveineuses, plasmaphérèse, rituximab, cyclophosphamide (2, 8, 9)
RÉPONSE AU TRAITEMENT	Faible réponse à l'immunothérapie (2)	Bonne réponse au traitement (3, 5, 10), récupération significative ou complète chez 70 % à 80 % des patients (11)
PRONOSTIC	Pronostic défavorable (2)	Pronostic plus favorable (12)

Sources: (1) Karim et Jacob, 2012; (2) Honnorat, 2014; (3) Irani *et al.*, 2011; (4) Varley *et al.*, 2015; (5) Irani *et al.*, 2010; (6) Lancaster *et al.*, 2010; (7) Lai *et al.*, 2009; (8) Irani *et al.*, 2013; (9) Vincent *et al.*, 2004; (10) Irani *et al.*, 2008; (11) Lancaster *et al.*, 2011; (12) Le Dault *et al.*, 2016; (13) Leypoldt *et al.*, 2015.

* VGKC (*voltage-gated potassium channel complex*) est un complexe de protéines membranaires qui comprend Lgi1 et Caspr2.

La fréquence des encéphalites d'étiologie auto-immune, comparativement à celles d'étiologie infectieuse, a été évaluée récemment. Une étude britannique portant sur 203 patients atteints d'encéphalite, recrutés sur une période de 2 ans, a permis de détecter une étiologie auto-immune chez 42 (21 %) de ces patients, comparativement à 86 (42 %) cas d'étiologie infectieuse [Granerod *et al.*, 2010]. Plus récemment, la clinique Mayo a réalisé une étude rétrospective de tous les cas d'encéphalite parmi les patients hospitalisés dans son établissement, de janvier 2000 à décembre 2012, soit 198 patients. L'encéphalite était d'étiologie auto-immune chez 44 (22 %) de ces patients et d'étiologie virale chez 95 (48 %) de ces patients [Singh *et al.*, 2015].

Au moment où la maladie survient, les tableaux cliniques initiaux des différents types d'encéphalite auto-immune peuvent être très similaires¹⁷ et les symptômes se manifestent en l'espace de quelques jours ou semaines [Leypoldt *et al.*, 2015]. L'altération de l'humeur, du comportement et de la mémoire, la diminution du degré de conscience et les convulsions surviennent dans la plupart des types d'encéphalite

¹⁷ Les tableaux cliniques initiaux des encéphalites auto-immunes peuvent être très similaires, à l'exception de celui où les anticorps antirécepteurs NMDA sont présents. (Information obtenue du Dr Gilles-Pierre Bernier, communication téléphonique du 5 février 2016).

auto-immune. Cependant, la gravité et la prédominance de certains symptômes ainsi que la présence d'autres caractéristiques, telles que les manifestations psychiatriques aiguës, les crises dystoniques faciobrachiales et l'hyponatrémie, peuvent être les signes d'un syndrome spécifique [Leypoldt *et al.*, 2015].

Parmi les nombreux types d'atteinte auto-immune du système nerveux central, on trouve, entre autres, l'encéphalite à anti-NMDAR, le syndrome de l'homme raide, l'encéphalite limbique¹⁸ classique (anticorps onconeuraux) et l'encéphalite limbique à anticorps à cible membranaire, y compris le syndrome de Morvan (AMPA, GABA(B)R, VGKC). En outre, l'encéphalite limbique, couramment associée aux anti-VGKC, présente fréquemment des anticorps dirigés contre des protéines du VGKC, soit Lgi1, Caspr2 et, moins fréquemment, contactine-2 [Malter *et al.*, 2014; Irani *et al.*, 2010; Lai *et al.*, 2010].

Encéphalite limbique à anti-Lgi1

Le tableau clinique associé à la présence d'anti-Lgi1 inclut généralement des crises dystoniques faciobrachiales (CDFB) brèves et fréquentes se manifestant par une posture typique de l'hémiface¹⁹ et d'un membre supérieur ipsilatéral²⁰ [Irani *et al.*, 2011; Irani *et al.*, 2008] pouvant précéder l'apparition des troubles cognitifs [Irani *et al.*, 2013; Irani *et al.*, 2011; Irani *et al.*, 2010]. L'hyponatrémie (sodium sérique < 135 mmol/l) est également présente dans 60 % à 88 % des cas [Irani *et al.*, 2011; Lancaster *et al.*, 2011]. Cette forme d'encéphalite auto-immune est associée à un cancer dans moins de 10 % des cas [Irani *et al.*, 2010; Lai *et al.*, 2010] et répond bien à l'immunothérapie [Yoo et Hirsch, 2014]. Le pronostic est favorable, soit 2 % de mortalité [Irani *et al.*, 2010], et le taux de rechute est faible [Varley *et al.*, 2015].

Syndrome de Morvan

Les anti-Caspr2 sont associés à un plus large éventail de symptômes, y compris l'encéphalite limbique, le syndrome de Morvan et parfois la neuromyotonie [Rosenfeld *et al.*, 2012]. Le syndrome de Morvan est un trouble qui se manifeste par des symptômes d'encéphalite, tels que l'amnésie, la confusion, les hallucinations, les troubles du sommeil et la dysautonomie en association avec une hyperexcitabilité des nerfs périphériques ou la neuromyotonie [Leypoldt *et al.*, 2015]. Ce syndrome est fréquemment associé à un thymome, à un taux variant de moins de 20 % à 40 % selon les études [Leypoldt *et al.*, 2015; Varley *et al.*, 2015; Lancaster *et al.*, 2011; Irani *et al.*, 2010]. La présence des anticorps du VGKC dirigés contre les protéines Lgi1 et Caspr2 ou les deux, avec prédominance des anti-Caspr2, a été détectée chez 90 % des patients [Irani *et al.*, 2012]. On observe chez ces patients un pronostic moins favorable qu'en présence d'anti-Lgi1, soit 20 % à 31 % de mortalité, et un risque

¹⁸ L'encéphalite limbique désigne un processus inflammatoire ou auto-immun impliquant le système limbique [Rosenfeld *et al.*, 2012]. Les principales régions du système limbique sont l'hippocampe et l'amygdale. Information tirée du site Web « The Encephalitis Society », disponible à : <http://www.encephalitis.info/support/support-services/information/practical-resources-on-encephalitis/types-of-encephalitis/limbic-encephalitis/> (consulté le 8 février 2016).

¹⁹ En anatomie, moitié de la face (gauche ou droite). Définition tirée du site Web de l'Encyclopaedia Universalis, disponible à : <http://www.universalis.fr/dictionnaire/hemiface/> (consulté le 28 janvier 2016).

²⁰ Qui se situe ou se produit du même côté de l'organisme par rapport à un point de référence. Définition tirée du site Web de l'Office québécois de la langue française, disponible à : http://gdt.oqlf.gouv.qc.ca/ficheOqlf.aspx?Id_Fiche=26529240 (consulté le 28 janvier 2016).

accru lorsqu'un thymome est présent [Varley *et al.*, 2015], ainsi qu'un taux de rechute de 7 % [Irani *et al.*, 2012; Irani *et al.*, 2010].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

De 50 à 100, par année, dans la population desservie par le centre demandeur, et de 50 à 125, par année, au Québec, d'après une estimation des requêtes futures faite à partir d'extrapolations par des neurologues.

3.4 Spécialités médicales concernées

Neurologie, hémato-oncologie.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Les examens de première intention (tests sanguins, analyse du LCR, IRM, EEG)²¹ permettent d'éliminer les diagnostics différentiels infectieux, néoplasiques, métaboliques et inflammatoires [Le Dault *et al.*, 2016]. Cependant, les techniques d'imagerie ne permettent pas d'orienter l'investigation clinique vers un syndrome encéphalitique à cible intracellulaire ou membranaire, d'où la nécessité de rechercher la présence d'autoanticorps antineuronaux²².

On cherchera d'abord les anticorps à cible intracellulaire (onconeuronaux) afin d'orienter, le cas échéant, la recherche d'un cancer sous-jacent. Par la suite, si les résultats se révèlent négatifs, on procédera à l'analyse de certains anticorps à cible membranaire en fonction du tableau clinique. Par exemple, en cas d'encéphalite limbique suspectée, l'investigation ciblera les anti-Lgi1, anti-Caspr2, anti-AMPA et anti-GABA(B)R²². Toutefois, selon l'urgence de la situation, il est possible de réaliser l'ensemble des investigations de manière parallèle plutôt que successive²³.

La détection des anti-Lgi1 et anti-Caspr2 est réalisée par immunofluorescence indirecte sur cellules transfectées. Cette technique est considérée comme la technique de référence de détection des anticorps à cible antigénique membranaire [Sinmaz *et al.*, 2015; Vincent *et al.*, 2011].

Actuellement, l'analyse des anti-Lgi1 et des anti-Caspr2 est réalisée seulement à l'extérieur du Québec. Les données de volumétrie sont présentées dans la section 3.6 ci-après.

3.6 Données médico-administratives

Aucune donnée issue du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* n'est disponible relativement à cette analyse, parce qu'il s'agit d'une nouvelle analyse.

Les données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) sur les envois hors Québec sont présentées dans le tableau 2 ci-après. Les données étaient présentées sous l'appellation anti-VGKC et anti-Lgi1. Aucune donnée sur les anti-Caspr2 n'y était inscrite.

²¹ LCR : liquide céphalorachidien; IRM : imagerie par résonance magnétique; EEG : électroencéphalogramme.

²² Information obtenue du Dr Gilles-Pierre Bernier (communication téléphonique du 5 février 2016).

²³ Information obtenue du Dr Martin Savard (communication écrite du 12 février 2016).

Tableau 2 Données médico-administratives des envois hors Québec de l'année 2013-2014

ANALYSE	NOMBRE	COÛT TOTAL*	LABORATOIRE DE RÉFÉRENCE
Anti-VGKC**	41	16 685,35 \$ CA	- Athena Diagnostics Inc. (États-Unis) - Mitogen Advanced Diagnostics Laboratory (Calgary, Canada)
Anti-VGKC, Lgi1	1	1 057,30 \$ CA	
Anti-Lgi1**	5	2 559,28 \$ CA	

* Le coût total a été calculé en multipliant le nombre d'analyses par le coût unitaire.

** Concernant les anti-VGKC, le coût unitaire d'une analyse varie de 120 \$ CA à 1 013,70 \$ CA et il n'est pas mentionné si cette analyse inclut les anti-Lgi1 et anti-Caspr2. Concernant les anti-Lgi1, le coût unitaire d'une analyse varie de 120 \$ CA à 935 \$ CA.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

La détection des autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 permettrait, d'une part, de confirmer un diagnostic d'encéphalite auto-immune à cible membranaire et, d'autre part, de faire la distinction entre ce trouble et d'autres troubles neurologiques dont le tableau clinique est similaire.

Par ailleurs, un diagnostic précoce d'encéphalite limbique (EL) confirmé par la détection d'anti-Lgi1 pourrait permettre d'agir à titre préventif, en offrant le traitement approprié, en vue de diminuer la fréquence et l'intensité des symptômes.

3.8 Assurance qualité

Des échantillons de sérums positifs serviront au contrôle de qualité interne; la participation à des contrôles de qualité externes est prévue lorsqu'ils seront disponibles.

3.9 Remplacement d'un autre test

La détection des autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 ne remplace aucune autre analyse incluse dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

La détection des autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 permettrait au clinicien de confirmer un diagnostic d'encéphalite limbique (EL) suspectée à partir d'un tableau clinique typique (déclin cognitif rapide et inexpliqué, hyponatrémie, convulsions, etc.) ou un syndrome de Morvan caractérisé par des symptômes d'encéphalite auto-immune associés à une hyperexcitabilité des nerfs périphériques ou à la neuromyotonie [Leypoldt *et al.*, 2015; Irani *et al.*, 2010]. Par ailleurs, le tableau clinique d'une EL à anti-Lgi1 peut être similaire à celui de certaines atteintes neurologiques auto-immunes, dont la maladie de Creutzfeldt-Jakob (CJ). Ainsi, la détection de ces autoanticorps pourrait permettre de distinguer ces deux troubles neurologiques et de confirmer le diagnostic d'une EL traitable, alors que la CJ est invariablement mortelle.

Confirmation d'un diagnostic d'encéphalite limbique ou d'un syndrome de Morvan

La présence prépondérante des anti-Lgi1 associée à l'EL a été rapportée dans une étude de cohorte portant sur l'analyse d'échantillons de sérum ou de LCR de 57 patients présentant des symptômes d'EL et ayant l'anti-VGKC (voir le tableau 3). La détection des anti-Lgi1 a été réalisée par immunocytochimie sur cellules HEK293 transfectées exprimant Lgi1 et ADAM22/ADAM23²⁴. Ont également été analysés 148 échantillons provenant de patients présentant d'autres syndromes que l'EL. Les 57 patients chez lesquels une EL était suspectée avaient un résultat positif de détection de l'anti-Lgi1, comparativement aux 148 cas témoins dont les résultats étaient tous négatifs, en dépit d'un résultat positif de détection de l'anti-VGKC chez 5 de ces cas témoins. La fréquence des anti-Caspr2 était faible dans les deux groupes et aucun cancer n'a été détecté chez les 4 patients ayant l'anti-Caspr2, après un suivi allant jusqu'à 84 mois. Les auteurs concluent que, chez les patients chez lesquels une EL est suspectée, l'antigène cible des anticorps précédemment attribué au VGKC, était en fait Lgi1. Ils affirment également que ce test diagnostique sur cellules transfectées a permis de révéler sans ambiguïté une pathologie associée à des anticorps dirigés contre la protéine Lgi1, qu'elle soit présente en surface ou dans le cytoplasme [Lai *et al.*, 2010].

La pertinence de détecter les autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 plutôt que anti-VGKC est illustrée par une étude de cohorte qui avait pour objectif, entre autres, de déterminer la spécificité des anticorps anti-VGKC relativement aux sous-unités Kv1 et de faire le lien avec les différents phénotypes cliniques (voir le tableau 3). Cette étude a porté sur l'analyse de 96 échantillons de sérum provenant de patients chez lesquels un titre élevé d'anti-VGKC (> 400 pmol/l) avait préalablement été détecté. Les anti-Lgi1 et anti-Caspr2 ont été détectés par immunofluorescence indirecte sur cellules HEK293 transfectées. Les résultats ont révélé que la majorité des anticorps anti-VGKC n'étaient pas dirigés contre les sous-unités Kv1, mais bien contre les protéines Lgi1 (55/96) et Caspr2 (19/96), lesquelles sont étroitement associées au VGKC. Parmi les 55 patients qui avaient l'anti-Lgi1, 49 patients ont développé les symptômes typiques de l'EL (amnésie [47], confusion [41], trouble neuropsychiatrique et/ou convulsions [49]) et 34 patients souffraient d'hyponatrémie. Par ailleurs, parmi les 19 patients ayant l'anti-Caspr2, certains patients souffraient de neuromyotonie (7), de douleur neuropathique (7), d'insomnie (6), de dysautonomie (6) et de perte de poids (6), des caractéristiques cliniques peu fréquentes chez les patients ayant l'anti-Lgi1. Les auteurs affirment que l'anti-Lgi1 a été détecté presque exclusivement chez les patients atteints d'EL (sans cancer détectable en dépit d'un suivi médian de plus de 3 ans). En outre, l'anti-Caspr2 a été détecté plus souvent chez les patients atteints de neuromyotonie ou du syndrome de Morvan, souvent associé à un thymome, et chez les patients atteints d'EL dans une moindre mesure. La présence d'anti-Lgi1 a permis de confirmer le diagnostic d'EL chez 49 (89 %) des 55 patients [Irani *et al.*, 2010].

Une étude portant sur 29 patients ayant obtenu un diagnostic probable de syndrome de Morvan, dont 23 patients (79 %) ayant l'anticorps anti-VGKC, avait pour objectif,

²⁴ Lgi1 est une protéine neuronale sécrétée qui sert de ligand à deux protéines associées à l'épilepsie, soit ADAM22 et ADAM23 [Fukata *et al.*, 2006].

entre autres, de décrire la spécificité antigénique des anti-VGKC présents dans le sérum (voir le tableau 3). La détection de l'anti-Lgi1 et de l'anti-Caspr2 a été réalisée par immunofluorescence indirecte sur cellules HEK293 transfectées. Parmi les 27 échantillons de sérum analysés, 24 contenaient l'anti-Caspr2, l'anti-Lgi1 ou les deux. Le titre en anticorps d'anti-Caspr2 était significativement plus élevé que celui d'anti-Lgi1 ($p = 0,0067$). Les auteurs concluent que la présence concomitante de l'anti-Caspr2 et de l'anti-Lgi1 pourrait contribuer au phénotype multifocal distinctif du syndrome de Morvan [Irani *et al.*, 2012].

Tableau 3 Confirmation d'un diagnostic d'encéphalite limbique (EL)

ÉTUDE	NOMBRE DE PATIENTS	TABLEAU CLINIQUE INITIAL	FRÉQUENCE ANTI-VGKC (%)	FRÉQUENCE ANTI-LGI1 (%)	FRÉQUENCE ANTI-CASPR2 (%)	DIAGNOSTIC FINAL
Lai <i>et al.</i> , 2010	57 (27 sérums, 30 LCR)	Symptômes EL anti-VGKC+	35 (100 %)† (titre : 1 054 pM; 105 à 7 600)	57/57 (100)	1/57 (1,8)	EL
	148 témoins* 5 VGKC+ 143 VGKC-	s. o.		0/148 (0)	2/5 (40) 1/143 (0,7)	
Irani <i>et al.</i> , 2010	96 VGKC+ (titre > 400 pM)	EL (64) SM (5) NM (11) épilepsie (4) autres syndromes (12)	3 (3,1) (sous-unités Kv1)	55 (57,3)	19 (19,8)	EL : (49/55 anti-Lgi1+; 7/19 anti-Caspr2+; $p < 0,0001$) SM ou NM : (10/19 anti-Caspr2+; 3/55 anti-Lgi1+; $p < 0,0001$)
Irani <i>et al.</i> , 2012	29 VGKC+ (27 échantillons de sérum analysés)	NM, NP, dysautonomie, douleur neuropathique	23/29 (79 %)	3 (11,1)	Caspr2+ : 6 (22,2) Caspr2+ et Lgi1+ : 15 (55,6)	SM

Sigles : + : positif; EL : encéphalite limbique; LCR : liquide céphalorachidien; s. o.: sans objet; NM : neuromyotonie; NP : caractéristiques neuropsychiatriques (insomnie, confusion, amnésie); SM : syndrome de Morvan

* Les 148 cas témoins incluent 5 patients présentant d'autres syndromes que l'encéphalite limbique et ayant l'anti-VGKC (3 cas de neuromyotonie, 1 cas de syndrome de Morvan et 1 cas d'encéphalite aiguë et de convulsions) et 143 patients sans anti-VGKC (40 cas d'encéphalopathie suspectée auto-immune, 27 cas d'encéphalite à anti-NMDAR, 17 cas d'encéphalite virale, 10 cas d'encéphalite à anti-AMPA, 8 cas d'encéphalite de Rasmussen, 35 cas de neuromyotonie acquise, 1 cas de syndrome de Morvan et 5 cas de neuropathie sous-aiguë).

† Seules les données de 35 patients étaient disponibles.

Diagnostic différentiel de la maladie de Creutzfeldt-Jakob

Certaines caractéristiques cliniques (détérioration cognitive, changements de personnalité et troubles du mouvement) de l'EL associée aux anti-Lgi1 peuvent être similaires à celles de certaines maladies neurologiques auto-immunes, dont la

maladie de Creutzfeldt-Jakob (CJ). Ainsi, la détection de ces anticorps s'avère utile afin d'identifier, le cas échéant, une forme d'EL potentiellement curable, tel que le montrent quelques études représentatives [Maat *et al.*, 2015; Grau-Rivera *et al.*, 2014; Yoo et Hirsch, 2014; Geschwind *et al.*, 2008].

Une étude de cohorte rétrospective a porté sur 15 patients dont la CJ initialement suspectée (60 % diagnostiqués selon les critères de l'OMS) s'est avérée être un syndrome auto-immun à VGKC qui répond bien à l'immunothérapie. Les manifestations neurologiques sous-aiguës incluaient une détérioration cognitive, la myoclonie, l'ataxie, des hallucinations visuelles, des troubles psychiatriques et des convulsions. La détection des anti-VGKC a d'abord été réalisée par immunofluorescence lors d'un dépistage, puis confirmée par radio-immunoprécipitation chez 7 patients ayant un titre médian de 1,24 nmol/l (0,16 à 51,9 nmol/l). Les données sur le traitement et l'amélioration des symptômes de 13 patients étaient disponibles. À la suite du traitement, une amélioration des symptômes a été rapportée chez 12 patients (92 %). Les auteurs concluent, d'une part, que l'évaluation sérologique de marqueurs d'encéphalopathie auto-immune dans les cas de CJ suspectée est justifiée. D'autre part, les résultats illustrent la possibilité de confondre un diagnostic d'encéphalopathie auto-immune à anti-VGKC répondant bien aux traitements avec celui d'une atteinte irréversible et pour laquelle il n'existe encore aucun traitement [Geschwind *et al.*, 2008].

Une étude de cohorte mixte (prospective et rétrospective) avait pour objectif de déterminer la fréquence des anticorps dirigés contre les antigènes neuronaux membranaires dans le LCR de patients chez lesquels on suspectait la CJ (n = 346) ou ayant obtenu un diagnostic confirmé de CJ (n = 49). Tous les échantillons de LCR ont d'abord été analysés par immunohistochimie sur coupes de cerveau de rat en vue d'y détecter la présence d'anticorps antineuronaux. Les résultats positifs ont par la suite été confirmés par immunofluorescence sur neurones en culture et sur cellules HEK293 exprimant, entre autres, les protéines Lgi1 et Caspr2, de même que tous les échantillons de LCR des cas confirmés de CJ. Parmi les 346 cas de CJ suspectée, 6 (1,7 %) ont obtenu un résultat positif, dont 1 patient ayant l'anti-Lgi1 et 1 patient ayant l'anti-Caspr2. Aucun résultat positif n'a été obtenu parmi les 49 cas confirmés de CJ. Tous les patients ont vu leur état s'améliorer ou demeurer stable. Les auteurs concluent qu'un petit nombre de patients chez lesquels la CJ était suspectée avaient une maladie potentiellement curable associée à des anticorps dirigés contre des protéines neuronales membranaires. De plus, ils affirment que l'analyse de ces anticorps dans le LCR devrait être incluse dans le bilan diagnostique des patients qui présentent un syndrome du système nerveux central d'évolution rapide, particulièrement lorsque ces patients ne répondent pas aux critères diagnostiques de CJ probable [Grau-Rivera *et al.*, 2014].

Une étude de cohorte postmortem de 384 patients avait pour objectif de déterminer les caractéristiques cliniques et la présence d'anticorps antineuronaux dans le LCR de patients atteints d'encéphalite auto-immune confirmée, issus d'une cohorte de patients chez lesquels la CJ était suspectée. Les résultats d'autopsie ont permis de confirmer une CJ chez 203 patients et une variété d'atteintes, principalement neurogénératives, chez 181 patients. Un diagnostic d'encéphalite auto-immune a été confirmé chez 22 de ces 181 patients, soit 5,7 %. Le LCR de 21 d'entre eux a ensuite

été analysé en vue d'y détecter la présence d'anticorps. Les résultats de 6 patients (28,6 %) étaient positifs, dont 1 résultat positif d'anti-Caspr2; 3 de ces 6 patients avaient eu une EL, 2 patients, une encéphalomyélite et 1 patient, le syndrome de Morvan associé aux anti-Caspr2. Les auteurs ont souligné l'importance de considérer les troubles auto-immuns dans le diagnostic différentiel de déficience neurologique à évolution rapide [Maat *et al.*, 2015].

Enfin, le cas d'un homme de 58 ans a été publié par Yoo et ses collaborateurs [2014]. L'apparition rapide de confusion, de crises dystoniques faciobrachiales (CDFB) et d'une anomalie des ganglions de la base détectée par IRM ont initialement indiqué un diagnostic probable de CJ. Les CDFB avaient été confondues avec la myoclonie²⁵. Le diagnostic d'EL a été confirmé par la présence d'anti-Lgi1 et la disparition complète des symptômes à la suite du traitement.

4.2 Valeur pronostique

Bien que la présence d'autoanticorps dirigés contre des antigènes membranaires soit associée à un pronostic favorable, comparativement à la présence d'anticorps onconeuraux dirigés contre des antigènes intracellulaires, leur détection ne sera pas utilisée dans le but de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

4.3 Valeur thérapeutique

La valeur prédictive de réponse au traitement des EL à anti-Lgi1 est illustrée par les quelques études retenues, en majorité des études de cas. La diminution de la fréquence des CDFB (voir le tableau 4) ainsi que l'amélioration des fonctions cognitives et des symptômes neuropsychiatriques (voir le tableau 5), rapportés dans la littérature, montrent l'importance de la détection précoce des autoanticorps dirigés contre les protéines de surface incluant Lgi1 dans les cas d'EL suspectée [Mayasi *et al.*, 2014].

Le tableau clinique associé à la présence d'anti-Lgi1 inclut fréquemment des CDFB brèves et fréquentes [Irani *et al.*, 2011; Irani *et al.*, 2008]. Celles-ci peuvent précéder l'apparition de troubles cognitifs marquant l'évolution vers une EL, ou demeurer isolées [Irani *et al.*, 2013; Irani *et al.*, 2011]. Un diagnostic précoce d'EL confirmé par la détection des anti-Lgi1 pourrait contribuer à prévenir le développement de l'encéphalite et des dommages cognitifs potentiellement irréversibles [Malter *et al.*, 2014; Irani *et al.*, 2013].

La cohorte de l'étude rétrospective d'Irani et ses collaborateurs [2011] était constituée de 29 patients désignés par les auteurs (15) ou par les cliniciens (14). Tous les patients avaient des anticorps anti-VGKC. Parmi ceux-ci, 3 patients n'ont jamais développé d'EL ni de CDFB et 20 des 26 autres patients (77 %) ont souffert de CDFB avant les manifestations d'amnésie et de confusion, avec un décalage médian de 36 jours (-150 à 730 jours). Des anticorps anti-Lgi1 ont été détectés par

²⁵ Les myoclonies sont des contractions musculaires brèves et involontaires qui affectent un segment de muscle, un muscle entier ou un groupe de muscles du visage, du tronc ou des membres et qui peuvent entraîner un déplacement [Gallouedec, 2003].

immunofluorescence indirecte sur cellules HEK293 transfectées chez 23 (88,5 %) des patients atteints d'EL. Au cours du premier mois de traitement, les anti-épileptiques ne sont pas parvenus à atténuer les CDFB de façon convaincante, contrairement à l'immunothérapie. Les auteurs concluent que la présence de CDFB et leur association avec les anti-Lgi1 devrait inciter les cliniciens à recourir à l'immunothérapie pouvant prévenir la survenue et les conséquences à long terme de l'EL.

Une étude prospective avait pour objectif d'étudier l'influence de l'immunothérapie sur le contrôle des CDFB et la déficience cognitive chez des patients qui avaient l'anti-VGKC. Une évaluation séquentielle de la fréquence des crises, des fonctions cognitives et des anticorps a été réalisée sur une période de 20 mois chez 10 patients souffrant de CDFB, dont 5 patients ayant une déficience cognitive. On a détecté la présence d'anti-Lgi1 par immunofluorescence indirecte sur cellules HEK293 transfectées chez 9 de ces patients. Les 10 patients ont d'abord reçu un traitement antiépileptique qui s'est révélé peu efficace, suivi, dans certains cas, d'un traitement corticostéroïde avec immunoglobulines intraveineuses ou filtration du plasma. On a observé une diminution de plus de 20 % de la fréquence des crises chez 9 des 10 patients au cours du premier mois ($p = 0,006$) et la disparition complète des crises au cours des 2 mois qui ont suivi l'ajout de corticostéroïdes au traitement antiépileptique initial. Les auteurs concluent que l'immunothérapie est associée à un excellent contrôle des CDFB réfractaires aux antiépileptiques [Irani *et al.*, 2013].

Tableau 4 Diminution des crises dystoniques faciobrachiales à la suite de la détection des autoanticorps et de l'immunothérapie

ÉTUDE	NOMBRE DE PATIENTS	FRÉQUENCE DE LA PRÉSENCE D'ANTICORPS NOMBRE (%)	TRAITEMENT	FRÉQUENCE DES CDFB NOMBRE (%)
Irani <i>et al.</i> , 2011	26 (EL et CDFB)	anti-Lgi1 : 23 (88,5) anti-Lgi1/anti-Caspr2 ou contactin-2 : 3 (11,5)	MAE*	↓ > 50 % : 1 (3,4) ↓ 20 % à 50 % : 4 (13,8)
			IT [†] : (CS, IgIV, filtration du plasma, rituximab)	↓ > 50 % : 14 (51,9) ↓ 20 % à 50 % : 12 (44,4) ↓ < 20 % : 1 (3,7)
Irani <i>et al.</i> , 2013	10 (CDFB) (anti-VGKC+)	anti-Lgi1 : 9 anti-Lgi1/anti-Caspr2 : 1 anti-Lgi1/anti-Contactin-2 : 1	MAE	↓ > 20 % : 1
			MAE => IT : CS (10) CS + IgIV (4) CS + filtration plasma (1)	↓ > 20 % : 9 (après 1 mois) ↓ 100 % : 9 (< 60 jours)

Sigles : CDFB : crises dystoniques faciobrachiales; CS : corticostéroïdes; EL : encéphalite limbique; IgIV : immunoglobulines intraveineuses; IT : immunothérapie; MAE : médicaments antiépileptiques

* Les traitements antiépileptiques ont été administrés aux 29 patients de la cohorte.

† Les traitements d'immunothérapie ont été administrés à 27 des 29 patients de la cohorte; 2 patients n'ont pas pu le recevoir, parce qu'ils ont été rencontrés avant l'acquisition des connaissances au sujet des anticorps du VGKC.

Les traitements d'immunothérapie à la suite de la détection des anticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 (et anti-VGKC) ont également permis d'améliorer les fonctions cognitives et les symptômes neuropsychiatriques, comme le montrent les quelques études de cas représentatives retenues [Messelmani *et al.*, 2015; Reintjes *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2014; Mayasi *et al.*, 2014; Balint *et al.*, 2013] (voir le tableau 5). Le diagnostic d'EL était confirmé par la présence des autoanticorps détectés, généralement des anti-Lgi1. L'ensemble de ces études rapporte une amélioration des fonctions cognitives, lesquelles sont même revenues à l'état prémorbide dans le cas présenté par Mayasi et ses collaborateurs [2014]. Une diminution appréciable du titre en anti-VGKC a été observée à la suite du traitement dans les deux cas présentés par Reintjes et ses collaborateurs [2015], sans toutefois qu'il soit fait mention des anti-Lgi1 et anti-Caspr2 concernant l'un d'eux.

Tableau 5 Amélioration des fonctions cognitives et des symptômes neuropsychiatriques à la suite de la détection des autoanticorps et de l'immunothérapie

ÉTUDE	CAS SEXE, ÂGE	TABLEAU CLINIQUE	ANTICORPS DÉTECTÉS (TITRE)	TRAITEMENT	RÉPONSE
Mayasi <i>et al.</i> , 2014	♂ 62 ans	Convulsions, SP, DC, perte de mémoire, hyponatrémie, EL	VGKC (688 pmol/l) Lgi1+ Caspr2-	IgIV	- VGKC [†] - Résolution des convulsions et des SP - Fonctions cognitives revenues à l'état prémorbide en quelques semaines
Reintjes <i>et al.</i> , 2015	♂ 70 ans	DC, hyponatrémie, crises épileptiques	VGKC (1 092 pmol/l) Lgi1+ Caspr2-	FP 5 fois sur 1 semaine	- ↓ VGKC (49 pmol/l) - Amélioration des fonctions cognitives et du comportement - autonomie après 6 mois
	♀ 74 ans		VGKC (734 pmol/l) *		- ↓ VGKC (35,7 pmol/l) - Amélioration des fonctions cognitives même après plus de 18 mois de démence
Messelmani <i>et al.</i> , 2015	♂ 59 ans	Perte de mémoire, myoclonie, CDFB, hyponatrémie	VGKC (678,3 pmol/l) Lgi1+ Caspr2-	IgIV	- VGKC [†] - Arrêt des convulsions après 1 mois - amélioration significative de l'état cognitif

(suite)

Tableau 5 Amélioration des fonctions cognitives et des symptômes neuropsychiatriques à la suite de la détection des autoanticorps et de l'immunothérapie (suite)

ÉTUDE	CAS SEXE, ÂGE	TABLEAU CLINIQUE	ANTICORPS DÉTECTÉS (TITRE)	TRAITEMENT	RÉPONSE
Balint <i>et al.</i> , 2013 [†]	♀ 49 ans	Ataxie cérébelleuse, myoclonie, EL	VGKC- Lgi1- Caspr2 (IgM 1/100)	Prednisone Azathioprine	- Caspr2 négatif - Amélioration de l'état général, retour à la vie normale avec déficit neuropsychologique léger
Lee <i>et al.</i> , 2014 [‡]	♀ 76 ans	Changement d'état mental, thymome, thyroïdite d'Hashimoto	VGKC (98,2 pmol/l) Caspr2+ sérum Caspr2- LCR	Corticostéroïdes Plasmaphérèse Azathioprine	- VGKC [†] - Amélioration partielle de l'état mental

Sigles : ♂ : homme; ♀ : femme; CDFB : crise dystoniques faciobrachiales; DC : déclin cognitif; EL : encéphalite limbique; FP : filtration du plasma; IgM : immunoglobuline de classe M; IgIV : immunoglobulines intraveineuses; LCR : liquide céphalorachidien; SP: symptômes psychiatriques

* La présence d'anti-Lgi1 et d'anti-Caspr2 n'est pas mentionnée.

† Le titre en anti-VGKC après le traitement n'est pas mentionné.

‡ La détection des anti-Lgi1 et anti-Caspr2 a été réalisée par immunofluorescence sur cellules transfectées au moyen d'une trousse de la compagnie EUROIMMUN (Lübeck, Allemagne).

4.4 Validité analytique

Les données de validité analytique de la trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 proviennent de la brochure d'information fournie avec la trousse. Cette trousse permet la détection des anticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 par immunofluorescence indirecte sur cellules transfectées exprimant les protéines Lgi1 et Caspr2.

Reproductibilité intra-essai

L'analyse a été réalisée sur 10 échantillons de sérum ou de plasma et 4 échantillons de LCR contenant un anticorps connu, et ce, à au moins 10 reprises. La variation d'intensité de fluorescence était inférieure à ± 1 niveau d'intensité de fluorescence. Le fabricant de la trousse, EUROIMMUN, indique qu'une valeur d'intensité de « 0 » signifie « aucune fluorescence spécifique » et qu'une valeur de « 5 » signifie « fluorescence spécifique extrêmement élevée ».

Reproductibilité inter-essai

L'analyse d'au moins 10 échantillons de sérum ou de plasma et 4 échantillons de LCR contenant un anticorps connu a été réalisée en double, au cours d'un minimum de 2 jours différents, en 5 analyses distinctes. La variation d'intensité de fluorescence était inférieure à ± 1 niveau d'intensité de fluorescence dans toutes les analyses.

Reproductibilité

Au moins 10 échantillons de sérum ou de plasma et 4 échantillons de LCR contenant un anticorps connu ont été analysés en utilisant des lames de 3 lots différents. La variation d'intensité de fluorescence était inférieure à ± 1 niveau d'intensité de fluorescence dans toutes les analyses.

Interférence (effet de matrice)

Les échantillons hémolysés, lipémiques et ictériques n'ont pas influencé les résultats d'analyse.

Réaction croisée

L'analyse de réaction croisée d'échantillons contenant des anticorps anti-Lgi1 (n = 5) a été réalisée sur des cellules transfectées exprimant la protéine Caspr2. Cette analyse a également été réalisée sur des échantillons contenant des anticorps anti-Caspr2 (n = 5) sur des cellules transfectées exprimant la protéine Lgi1. Aucun échantillon n'a donné de résultat positif. Des échantillons contenant l'anti-NMDAR, l'anti-aquaporin-4, l'anti-GAD65 et l'anti-DPPX sur ces mêmes cellules transfectées ont montré des résultats identiques.

Sensibilité et spécificité de détection

Des échantillons de sérum d'individus sains et de patients atteints d'EL ont été analysés sur des cellules transfectées exprimant la protéine Lgi1 ou la protéine Caspr2. Les résultats révèlent un degré de sensibilité et un degré de spécificité de détection très élevés. Un seul échantillon provenant d'un individu sain contenait des anticorps pouvant réagir avec la protéine Caspr2 exprimée par les cellules transfectées. Tous les échantillons de patients atteints d'EL contenaient des anticorps dirigés contre les protéines Lgi1 ou Caspr2 exprimées par les cellules transfectées.

	INDIVIDUS SAINS			PATIENTS ATTEINTS D'EL		
	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS	NOMBRE DE POSITIFS	%	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS	NOMBRE DE POSITIFS	%
CELLULES LGI1	150	0	0	14	14	100
CELLULES CASPR2	150	1	0,7	9	9	100

4.5 Données fournies par le demandeur

Aucune donnée locale de validation n'a été fournie par le centre demandeur. La trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 n'a pas été utilisée par le centre demandeur.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La détection des autoanticorps anti-Lgi1 chez les patients présentant un déclin cognitif rapide et inexpliqué, une hyponatrémie et des crises épileptiques permettrait de diagnostiquer une forme traitable d'encéphalite auto-immune dont le pronostic est favorable.

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

Aucune position ou orientation concernant la détection des autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 n'a été repérée.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La détection des autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 permettrait de confirmer un diagnostic d'encéphalite auto-immune à cible membranaire suspectée et d'exclure un diagnostic de maladie de Creutzfeldt-Jakob (CJ), dont certaines caractéristiques cliniques sont similaires à celles des encéphalites auto-immunes. Par ailleurs, un diagnostic précoce d'encéphalite limbique (EL) à anti-Lgi1 permettrait d'offrir rapidement le traitement approprié afin de diminuer la fréquence et l'intensité des symptômes.

Valeur diagnostique

Les trois études de cohorte retenues avaient pour objectif de déterminer la spécificité des anticorps anti-VGKC chez des patients présentant des symptômes d'EL ou de syndrome de Morvan. Les antigènes cibles des anticorps précédemment attribués à VGKC étaient en fait Lgi1 et Caspr2 respectivement. L'anti-Lgi1 a été détecté presque exclusivement chez les patients atteints d'EL et l'anti-Caspr2 a été plus souvent détecté chez les patients atteints de neuromyotonie ou du syndrome de Morvan, lequel est souvent associé à un thymome, ce qui a permis de confirmer ces diagnostics.

À la suite de la recherche documentaire, 1 étude de cas et 3 études de cohorte, dont 2 études portant sur une cohorte de plus de 300 patients, ont été retenues. Ces études ont permis de mettre en évidence l'utilité de l'analyse sérologique de marqueurs d'encéphalite auto-immune chez des patients chez lesquels la CJ était suspectée, afin de détecter une forme d'EL potentiellement curable qui peut parfois passer inaperçue.

Valeur pronostique

La détection des autoanticorps anti-Lgi1 et anti-Caspr2 ne sera pas utilisée dans le but de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

Valeur thérapeutique

La valeur prédictive de réponse au traitement des EL à anti-Lgi1 est illustrée par les quelques études retenues, en majorité des études de cas. La présence d'anti-Lgi1 dans les cas d'EL suspectée est prédictive d'une réponse favorable à l'immunothérapie, dont l'efficacité est reconnue pour traiter ce type d'encéphalite auto-immune. Une diminution de la fréquence des crises dystoniques faciobrachiales caractéristiques des EL à anti-Lgi1 ainsi que l'amélioration des fonctions cognitives et des symptômes neuropsychiatriques ont été observées dans la majorité des cas.

Validité analytique

Aucune donnée locale de validation n'a été fournie par le centre demandeur. Les données de validité analytique de la trousse IIFT Anti-VGKC Associated Proteins – Mosaic 1 sont celles fournies par EUROIMMUN. Le fabricant mentionne que la trousse offre une bonne reproductibilité intra-essai et inter-essai. Aucun effet de matrice n'a été observé. Aucune réaction croisée n'a été détectée. Sur cellules transfectées exprimant la Lgi1 et la Caspr2, une sensibilité et une spécificité excellentes ont été obtenues lors de l'analyse d'échantillons de sérum de patients atteints d'EL et d'échantillons témoins provenant d'individus sains respectivement.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection des autoanticorps anti-neuronaux anti-VGKC (anti-Lgi1, anti-Caspr2) dans les cas d'atteinte auto-immune du système nerveux central

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Le comité reconnaît la pertinence de l'analyse proposée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui.
- ✓ Le rapatriement de l'analyse au Québec est justifié.
- ✓ Toutefois, aucune donnée de vérification de la trousse n'est disponible.
- ✓ Aucun programme de contrôle de la qualité externe n'est proposé par le laboratoire demandeur.

BIBLIOGRAPHIE

- Balint B, Regula JU, Jarius S, Wildemann B. Caspr2 antibodies in limbic encephalitis with cerebellar ataxia, dyskinesias and myoclonus. *J Neurol Sci* 2013;327(1-2):73-4.
- Fukata Y, Adesnik H, Iwanaga T, Bredt DS, Nicoll RA, Fukata M. Epilepsy-related ligand/receptor complex LGI1 and ADAM22 regulate synaptic transmission. *Science* 2006;313(5794):1792-5.
- Gallouedec G. Les myoclonies : approche clinique. *Act Méd Int - Neurologie* 2003;4(3):75-6.
- Geschwind MD, Tan KM, Lennon VA, Barajas RF Jr, Haman A, Klein CJ, et al. Voltage-gated potassium channel autoimmunity mimicking Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 2008;65(10):1341-6.
- Granerod J, Ambrose HE, Davies NW, Clewley JP, Walsh AL, Morgan D, et al. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: A multicentre, population-based prospective study. *Lancet Infect Dis* 2010;10(12):835-44.
- Grau-Rivera O, Sanchez-Valle R, Saiz A, Molinuevo JL, Bernabe R, Munteis E, et al. Determination of neuronal antibodies in suspected and definite Creutzfeldt-Jakob disease. *JAMA Neurol* 2014;71(1):74-8.
- Graus F, Saiz A, Dalmau J. Antibodies and neuronal autoimmune disorders of the CNS. *J Neurol* 2010;257(4):509-17.
- Honnorat J. Therapeutic approaches in antibody-associated central nervous system pathologies. *Rev Neurol (Paris)* 2014;170(10):587-94.
- Irani SR, Stagg CJ, Schott JM, Rosenthal CR, Schneider SA, Pettingill P, et al. Faciobrachial dystonic seizures: The influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a broadening phenotype. *Brain* 2013;136(Pt 10):3151-62.
- Irani SR, Pettingill P, Kleopa KA, Schiza N, Waters P, Mazia C, et al. Morvan syndrome: Clinical and serological observations in 29 cases. *Ann Neurol* 2012;72(2):241-55.
- Irani SR, Michell AW, Lang B, Pettingill P, Waters P, Johnson MR, et al. Faciobrachial dystonic seizures precede Lgi1 antibody limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2011;69(5):892-900.
- Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, et al. Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain* 2010;133(9):2734-48.
- Irani SR, Buckley C, Vincent A, Cockerell OC, Rudge P, Johnson MR, Smith S. Immunotherapy-responsive seizure-like episodes with potassium channel antibodies. *Neurology* 2008;71(20):1647-8.

- Karim AR et Jacob S. Immunological markers in neurological disorders. *Ann Clin Biochem* 2012;49(Pt 1):29-43.
- Lai M, Huijbers MG, Lancaster E, Graus F, Bataller L, Balice-Gordon R, et al. Investigation of LGI1 as the antigen in limbic encephalitis previously attributed to potassium channels: A case series. *Lancet Neurol* 2010;9(8):776-85.
- Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, et al. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol* 2009;65(4):424-34.
- Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Dalmau J. Encephalitis and antibodies to synaptic and neuronal cell surface proteins. *Neurology* 2011;77(2):179-89.
- Lancaster E, Lai M, Peng X, Hughes E, Constantinescu R, Raizer J, et al. Antibodies to the GABA(B) receptor in limbic encephalitis with seizures: Case series and characterisation of the antigen. *Lancet Neurol* 2010;9(1):67-76.
- Le Dault E, Lagarde S, Guedj E, Dufournet B, Rey C, Kaphan E, et al. Troubles neuropsychiatriques inexpliqués : penser aux encéphalites dysimmunitaires. À propos d'une observation d'encéphalite à anticorps anti-leucine rich glioma inactivated 1 (LGI-1). *Rev Med Interne* 2016;37(2):127-30.
- Lee CH, Lin JJ, Lin KJ, Chang BL, Hsieh HY, Chen WH, et al. Caspr2 antibody limbic encephalitis is associated with Hashimoto thyroiditis and thymoma. *J Neurol Sci* 2014;341(1-2):36-40.
- Leyppoldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann N Y Acad Sci* 2015;1338:94-114.
- Maat P, de Beukelaar JW, Jansen C, Schuur M, van Duijn CM, van Coevorden MH, et al. Pathologically confirmed autoimmune encephalitis in suspected Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015;2(6):e178.
- Malter MP, Frisch C, Schoene-Bake JC, Helmstaedter C, Wandinger KP, Stoecker W, et al. Outcome of limbic encephalitis with VGKC-complex antibodies: Relation to antigenic specificity. *J Neurol* 2014;261(9):1695-705.
- Mayasi Y, Takhtani D, Garg N. Leucine-rich glioma-inactivated protein 1 antibody encephalitis: A case report. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2014;1(4):e51.
- Messelmani M, Fekih-Mrissa N, Zaouali J, Mrissa R. Limbic encephalitis associated with leucine-rich glioma-inactivated 1 antibodies. *Ann Saudi Med* 2015;35(1):76-9.
- Reintjes W, Romijn MD, Hollander D, Ter Brugge JP, van Marum RJ. Reversible dementia: Two nursing home patients with voltage-gated potassium channel antibody-associated limbic encephalitis. *J Am Med Dir Assoc* 2015;16(9):790-4.
- Roberts WK et Darnell RB. Neuroimmunology of the paraneoplastic neurological degenerations. *Curr Opin Immunol* 2004;16(5):616-22.
- Rosenfeld MR, Titulaer MJ, Dalmau J. Paraneoplastic syndromes and autoimmune encephalitis: Five new things. *Neurol Clin Pract* 2012;2(3):215-23.

- Singh TD, Fugate JE, Rabinstein AA. The spectrum of acute encephalitis: Causes, management, and predictors of outcome. *Neurology* 2015;84(4):359-66.
- Sinmaz N, Amatoury M, Merheb V, Ramanathan S, Dale RC, Brilot F. Autoantibodies in movement and psychiatric disorders: Updated concepts in detection methods, pathogenicity, and CNS entry. *Ann N Y Acad Sci* 2015;1351:22-38.
- Varley J, Vincent A, Irani SR. Clinical and experimental studies of potentially pathogenic brain-directed autoantibodies: Current knowledge and future directions. *J Neurol* 2015;262(4):1081-95.
- Vincent A, Bien CG, Irani SR, Waters P. Autoantibodies associated with diseases of the CNS: New developments and future challenges. *Lancet Neurol* 2011;10(8):759-72.
- Vincent A, Buckley C, Schott JM, Baker I, Dewar BK, Detert N, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: A potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. *Brain* 2004;127(Pt 3):701-12.
- Yoo JY et Hirsch LJ. Limbic encephalitis associated with anti-voltage-gated potassium channel complex antibodies mimicking Creutzfeldt-Jakob disease. *JAMA Neurol* 2014;71(1):79-82.

MYRIAD MYRISK^{MD} – PANEL DE 25 GÈNES ASSOCIÉS AUX CANCERS HÉRÉDITAIRES ANALYSÉS PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (RÉFÉRENCE – 2015.01.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Ministère de la Santé et des Services sociaux
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Tous les membres du comité scientifique des analyses de biologie médicale de l'INESSS 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, l'expert consulté est le D^r Sébastien Lévesque, M.D., Ph. D., généticien au Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke (CHUS)

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Myriad myRisk^{MD} – panel de 25 gènes associés aux cancers héréditaires analysés par séquençage de nouvelle génération

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

2.2.1 Précisions cliniques

Le risque de cancer décrit dans la présente section correspond au risque cumulatif de cancer à 70 ans, ou au risque relatif par rapport à la population générale. Le niveau de risque de cancer attribué par le fabricant Myriad Genetics, soit élevé ou modéré, est présenté dans le tableau 1.

2.2.1.1 Les gènes et les syndromes de cancer héréditaire couverts par le panel myRisk^{MD}

Le syndrome héréditaire de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire (en anglais hereditary breast and ovarian cancer ou HBOC)

Selon la Société canadienne du cancer (SCC), 5 % de tous les cancers du sein et 4 % à 11 % de tous les cancers de l'ovaire seraient causés par une mutation dans le gène **BRCA1** (OMIM²⁶ : 113705) ou dans le gène **BRCA2** (OMIM : 600185) [SCC, 2016a]. Ces derniers sont des gènes suppresseurs de tumeurs et contribuent à la réparation de l'ADN ainsi qu'à la régulation de la transcription en réponse aux dommages à l'ADN [Paul et Paul, 2014]. La présence d'une mutation dans le gène **BRCA1** ou dans le gène **BRCA2** est associée à un risque élevé de développer un cancer du sein (32 % à 65 % chez les femmes et 1 % à 11 % chez les hommes) ou de l'ovaire (11 % à 40 %) [Chen et Parmigiani, 2007; Fu *et al.*, 2007; Tai *et al.*, 2007; Antoniou *et al.*, 2003]. Les personnes qui présentent une mutation dans l'un de ces gènes présentent également un risque de 2 à 7 fois plus élevé de développer un cancer du pancréas [Mocci *et al.*, 2013]. D'autres cancers ont été associés à une mutation dans ces gènes, dont le cancer de la prostate ainsi que le mélanome [Leongamornlert *et al.*, 2012; Kote-Jarai *et al.*, 2011; Van Asperen *et al.*, 2005; Thompson et Easton, 2002].

Le syndrome de Lynch

Le syndrome de Lynch est associé à un risque élevé de cancer colorectal ainsi qu'à d'autres types de cancer. Le syndrome de Lynch est causé par une mutation germinale dans l'un des gènes responsables de la correction des mésappariements de l'ADN (de l'anglais *mismatch repair* ou MMR), soit **MLH1** (OMIM : 120436), **MSH2** (OMIM : 609309), **MSH6** (OMIM : 600678), **PMS2** (OMIM : 600259) ou **EPCAM** (OMIM : 185535) [Lynch *et al.*, 2009]. La présence d'une mutation dans le gène **MLH1** ou dans le gène **MSH2** est associée à un risque élevé de développer un cancer colorectal (34 % à 78 %), un cancer de l'endomètre (17 % à 54 %), un cancer de l'ovaire (10 % à 24 %) ou un cancer de l'estomac (0,2 % à 15 %) [Dowty *et al.*, 2013; Bonadona *et al.*, 2011; Ramsoekh *et al.*, 2009]. Les personnes qui présentent une mutation dans l'un de ces gènes présentent aussi un risque de cancer du pancréas de 4 à 10 fois plus élevé [Dowty *et al.*, 2013]. La présence d'une mutation dans le gène **MSH6** est associée à un risque élevé de développer un cancer colorectal (12 % à 54 %) ou un cancer de l'endomètre (16 % à 71 %) [Baglietto *et al.*, 2010; Ramsoekh *et al.*, 2009; Hendriks *et al.*, 2004]. Une mutation dans le gène **PMS2** est également associée à un risque élevé de cancer colorectal (10 % à 20 %) et de cancer de l'endomètre (12 % à 15 %) [Ten Broeke *et al.*, 2015; Senter *et al.*, 2008]. Enfin, la présence d'une délétion dans le gène **EPCAM** est aussi associée à un risque élevé de cancer colorectal (69 % à 75 %) et de cancer de l'endomètre (12 % à 55 %) [Kempers *et al.*, 2011].

²⁶L'Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) est une base de données regroupant des informations sur tous les troubles mendéliens connus et sur plus de 15 000 gènes. OMIM se concentre sur la relation entre le génotype et le phénotype. Il est mis à jour quotidiennement. OMIM est disponible à : <http://www.omim.org/>.

La polypose adénomateuse familiale

La polypose adénomateuse familiale est caractérisée par la présence de plus de 100 polypes adénomateux qui se développent dans le système gastro-intestinal à partir de la puberté [Al-Sukhni *et al.*, 2008]. Sans traitement préventif par la polypectomie endoscopique, pratiquement tous les patients atteints vont développer un cancer colorectal. Une forme atténuée de la maladie, caractérisée par la présence de moins de 100 polypes et l'apparition d'un cancer colorectal à un âge plus tardif, touche près de 8 % des familles affectées [Vasen *et al.*, 2008; Nielsen *et al.*, 2007]. La présence d'une mutation dans le gène **APC** (OMIM : 611731) a été détectée chez 80 % des patients atteints de polypose adénomateuse familiale [Hegde *et al.*, 2014; Grover *et al.*, 2012].

La polypose adénomateuse familiale atténuée liée **MUTYH**

La polypose associée à une mutation dans le gène **MUTYH** (OMIM : 604933) est caractérisée par la présence de 10 à 100 polypes colorectaux adénomateux chez l'adulte, un signe de prédisposition au cancer colorectal. Ce syndrome autosomique récessif, similaire à la polypose atténuée associée à une mutation dans le gène **APC**, est causé par une mutation biallélique du gène **MUTYH** [Brosens *et al.*, 2015]. Le risque de cancer colorectal est de 75 % dans les cas de mutation biallélique, tandis qu'il varie de 5 % à 7 % dans les cas de mutation monoallélique du gène **MUTYH** [Win *et al.*, 2014].

Le mélanome malin familial et le syndrome familial de prédisposition au mélanome et au cancer du pancréas

Des antécédents familiaux seraient présents dans 10 % de tous les cas de mélanome malin [Hayward, 2003]. Une mutation germinale dans le gène **CDKN2A** (OMIM : 600160) est détectée dans 20 % à 40 % des mélanomes héréditaires, tandis qu'une mutation dans le gène **CDK4** (OMIM : 123829) semble responsable de 2 % de ceux-ci [Hill *et al.*, 2013; Goldstein *et al.*, 2006]. Le gène **CDKN2A** code pour deux protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, soit p16, qui contribue à l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1, et p14, qui induit l'apoptose par la voie de signalisation de p53 [Hill *et al.*, 2013]. La présence d'une mutation dans le gène **CDKN2A** est associée à un risque élevé de développer un mélanome (28 % à 67 %) ou un cancer du pancréas (58 %) [Cust *et al.*, 2011; McWilliams *et al.*, 2011; Begg *et al.*, 2005; Chaudru *et al.*, 2004; Bishop *et al.*, 2002].

Le syndrome de Li-Fraumeni

Près de 50 % des patients atteints du syndrome de Li-Fraumeni développent un cancer avant l'âge de 30 ans [Gonzalez *et al.*, 2009]. Plusieurs patients vont même développer de multiples cancers [Chompret *et al.*, 2000; Hisada *et al.*, 1998]. Le cancer du sein, les sarcomes, les tumeurs au cerveau et le carcinome du cortex surrénalien représentent 77 % à 80 % des cancers associés au syndrome de Li-Fraumeni [Toss *et al.*, 2015]. Une mutation germinale est détectée dans le gène **TP53** (OMIM : 191170) chez environ 70 % de ces patients [Li *et al.*, 1988]. Le gène **TP53** code pour un facteur de transcription qui régule plusieurs mécanismes cellulaires critiques, dont la réparation de l'ADN et la suppression tumorale [Sorrell *et al.*, 2013].

Le syndrome tumoral hamartomateux lié à *PTEN*

Le syndrome tumoral hamartomateux lié au gène ***PTEN*** (OMIM : 601728) regroupe plusieurs maladies caractérisées par le développement de multiples hamartomes, dont le syndrome de Cowden et le syndrome de Bannayan-Riley- Ruvalcaba. Jusqu'à 80 % des patients atteints du syndrome de Cowden et jusqu'à 60 % des patients atteints du syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba présentent une mutation dans le gène *PTEN* [Jelsig *et al.*, 2014; Uppal *et al.*, 2007; Marsh *et al.*, 1998]. Ce dernier code pour une phosphatase qui joue un rôle dans la division cellulaire [Jelsig *et al.*, 2014]. Les personnes atteintes du syndrome de Cowden et celles qui présentent une mutation dans le gène *PTEN* courent un risque élevé de développer certains types de cancer, dont le cancer du sein (77 % à 85 %), le cancer de la thyroïde (21 % à 38 %), le cancer de l'endomètre (19 % à 28 %), le cancer du rein (15 % à 34 %) et le cancer colorectal (9 % à 16 %), ou un mélanome (6 %) [Bubien *et al.*, 2013; Tan *et al.*, 2012; Riegert-Johnson *et al.*, 2010].

Le syndrome de Peutz-Jeghers

Le syndrome de Peutz-Jeghers est caractérisé par une polypose hamartomateuse du tractus gastro-intestinal qui s'accompagne d'une lentiginose labile des muqueuses de la peau. Une mutation germinale est détectée dans le gène ***STK11*** (OMIM : 602216) chez 80 % à 94 % des patients qui en sont atteints [Beggs *et al.*, 2010]. La protéine STK11, une sérine-thréonine kinase, interagit avec de nombreuses protéines et participe ainsi à la régulation du cycle cellulaire [Jelsig *et al.*, 2014]. Les personnes atteintes du syndrome de Peutz-Jeghers présentent un risque élevé de développer certains types de cancer, dont un cancer gastro-intestinal (51 % à 63 %) ou le cancer du pancréas (11 % à 55 %), et les femmes atteintes sont particulièrement à risque de développer un cancer du sein (45 % à 54 %) ou un cancer gynécologique (18 % à 23 %) [Korsse *et al.*, 2013; Resta *et al.*, 2013; Van Lier *et al.*, 2011; Hearle *et al.*, 2006; Mehenni *et al.*, 2006; Giardiello *et al.*, 2000].

Le syndrome de cancer gastrique diffus héréditaire

Le syndrome de cancer gastrique diffus héréditaire est caractérisé par le développement précoce d'un cancer de l'estomac. Une mutation germinale est détectée dans le gène ***CDH1*** (OMIM : 192090) chez 40 % des patients qui en sont atteints [Hansford *et al.*, 2015]. Ce gène code pour une protéine transmembranaire, la E-cadhérine, qui joue un rôle dans l'adhésion cellulaire [Oliveira *et al.*, 2013]. Le risque de cancer gastrique chez les personnes qui présentent une mutation détectée dans le gène *CDH1* est estimé à 70 % chez les hommes et à 56 % chez les femmes. Ces dernières courent également un risque de cancer du sein évalué à 42 % [Hansford *et al.*, 2015].

Le syndrome de polypose juvénile

Le syndrome de polypose juvénile est caractérisé par le développement de multiples polypes dans le tractus digestif au cours de l'enfance, un signe de prédisposition aux cancers colorectal et gastrique. Une mutation germinale est détectée dans le gène ***BMPRI1A*** (OMIM : 601299) chez 20 % à 30 % des patients qui en sont atteints et dans le gène ***SMAD4*** (OMIM : 600993) dans des proportions similaires. Ces deux gènes

jouent un rôle dans la voie de signalisation TGF- β . La présence d'une mutation dans le gène *SMAD4* peut aussi être associée à une télangiectasie hémorragique héréditaire [Jelsig *et al.*, 2014].

PALB2

Le gène *PALB2* (OMIM : 610355) code pour une protéine qui interagit directement avec la protéine BRCA2 et contribue au bon fonctionnement de la recombinaison homologue et au maintien de la stabilité du génome. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement du gène *PALB2* est un facteur de prédisposition au cancer du sein, alors qu'une mutation homozygote est un facteur de prédisposition à une forme d'anémie de Fanconi [Buisson et Masson, 2013]. Comparativement à la population générale, les femmes qui portent une mutation dans le gène *PALB2* présentent un risque de cancer du sein plus élevé de 8 à 9 fois avant 40 ans, 6 à 8 fois de 40 à 60 ans et 5 fois après 60 ans [Antoniou *et al.*, 2014].

CHEK2

Le gène *CHEK2* (OMIM : 604373) code pour une kinase qui s'active en réponse aux dommages à l'ADN et induit l'arrêt du cycle cellulaire [Tung et Silver, 2011]. La présence d'une mutation dans le gène *CHEK2* est associée à un risque 2 à 3 fois plus élevé de développer un cancer du sein [Aloraifi *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011; Weischer *et al.*, 2008].

ATM

Le gène *ATM* (OMIM : 607585) code pour une protéine kinase qui joue un rôle dans la réponse cellulaire aux dommages à l'ADN double brin. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement du gène *ATM* est à l'origine d'une prédisposition familiale au cancer du sein, alors qu'une mutation homozygote cause l'ataxie télangiectasie [Van Os *et al.*, 2015]. La présence d'une mutation dans le gène *ATM* est associée à un risque 2 à 3 fois plus élevé de développer un cancer du sein ou un cancer du pancréas [Li *et al.*, 2016; Aloraifi *et al.*, 2015; Van Os *et al.*, 2015; Goldgar *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011].

NBN

Le gène *NBN* (OMIM : 602667) code pour la nibrine, une protéine qui forme un complexe et s'associe à la protéine BRCA1, jouant ainsi un rôle dans la réparation de l'ADN. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement de la nibrine semble être à l'origine d'une prédisposition au cancer, alors qu'une mutation homozygote cause le syndrome de Nijmegen [Cybulski *et al.*, 2004]. La présence d'une mutation dans le gène *NBN* est associée à un risque 2 à 3 fois plus élevé de développer un cancer du sein [Aloraifi *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2013]. Les hommes qui présentent une mutation dans le gène *NBN* présentent aussi un risque élevé de développer un cancer de la prostate [Cybulski *et al.*, 2004].

BARD1

Le gène *BARD1* (OMIM : 601593) code pour une protéine qui forme un complexe avec la protéine BRCA1 et joue un rôle dans la réparation des dommages à l'ADN double brin. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement du gène

BARD1 semble être à l'origine d'une prédisposition au cancer du sein [Ratajska *et al.*, 2012].

BRIP1

Le gène *BRIP1* (OMIM : 605882) code pour une protéine qui forme un complexe avec la protéine BRCA1 et joue un rôle dans la réparation des dommages à l'ADN double brin. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement du gène *BRIP1* est à l'origine d'une prédisposition au cancer de l'ovaire, alors qu'une mutation homozygote cause une forme d'anémie de Fanconi [Filippini et Vega, 2013]. La présence d'une mutation dans le gène *BRIP1* est associée à un risque 3 fois plus élevé de cancer de l'ovaire [Ramus *et al.*, 2015].

RAD51C

Le gène *RAD51C* (OMIM : 602774) code pour une protéine qui joue un rôle dans la stabilité du génome en participant à la réparation des dommages à l'ADN double brin. Une mutation hétérozygote causant le dysfonctionnement du gène *RAD51C* est à l'origine d'une prédisposition au cancer de l'ovaire, alors qu'une mutation homozygote cause une forme d'anémie de Fanconi [Filippini et Vega, 2013]. La présence d'une mutation dans le gène *RAD51C* est associée à un risque 5 à 9 fois plus élevé de cancer de l'ovaire [Song *et al.*, 2015; Loveday *et al.*, 2012; Pelttari *et al.*, 2011].

RAD51D

Le gène *RAD51D* (OMIM : 602954) code pour une protéine qui joue un rôle dans la stabilité du génome en participant à la réparation des dommages à l'ADN double brin. La présence d'une mutation dans le gène *RAD51D* est associée à un risque 5 à 12 fois plus élevé de cancer de l'ovaire [Song *et al.*, 2015; Filippini et Vega, 2013; Loveday *et al.*, 2012; Pelttari *et al.*, 2012].

2.2.1.2 Les niveaux de risque de cancer attribués aux gènes du panel myRisk^{MD}

Selon le manuel d'information clinique du panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics, les gènes du panel sont classés en deux catégories selon le niveau de risque qui leur est attribué, soit :

- risque élevé
 - une augmentation du risque égale ou supérieure à 3 fois celui de la population générale,
 - un risque absolu de cancer égal ou supérieur à 5 %,
 - une quantité suffisante de données provenant de multiples études qui appuient ces estimations;
- risque modéré
 - une augmentation du risque supérieure à 3 fois celui de la population générale,
 - l'évaluation du risque est appuyée par une seule étude de faible puissance,

- le risque a été évalué dans plusieurs études dont les conclusions sont contradictoires²⁷.

Le tableau 1 ci-après présente les 25 gènes et les syndromes de cancer héréditaire couverts par le panel myRisk^{MD} ainsi que le niveau de risque de cancer attribué à chacun, selon Myriad Genetics.

Tableau 1 Gènes et syndromes couverts par le panel myRisk^{MD} et niveau de risque attribué à chacun selon Myriad Genetics

GÈNE	SYNDROME	RISQUE DE CANCER SELON MYRIAD GENETICS								
		CS	CO	CCR	CE	Me	CPa	CG	CPr	AC
<i>BRCA1</i>	Syndrome héréditaire de cancer du sein ou de l’ovaire	●	●				○		○	
<i>BRCA2</i>		●	●			○	●		○	
<i>MLH1</i>	Syndrome de Lynch		●	●	●		○	●		●
<i>MSH2</i>			●	●	●		○	●		●
<i>MSH6</i>			○	●	●		○	○		○
<i>PMS2</i>			○	●	●		○	○		○
<i>EPCAM</i>			●	●	●		○	●		●
<i>APC</i>	Polypose adénomateuse familiale			●			○	○		●
<i>MUTYH</i>	Polypose liée à <i>MUTYH</i>			●						●
<i>CDKN2A*</i>	Syndrome du mélanome et du cancer du pancréas					●	●			
<i>CDKN2A*</i>	Syndrome du mélanome héréditaire					●	○			
<i>CDK4</i>						●	○			
<i>TP53</i>	Syndrome de Li-Fraumeni	●	○	○	○	○	○	○	○	●
<i>PTEN</i>	Syndrome tumoral hamartomateux	●		○	●					●
<i>STK11</i>	Syndrome de Peutz-Jeghers	●	●	●	●		●	●		●
<i>CDH1</i>	Cancer gastrique diffus héréditaire	●		○				●		
<i>BMPR1A</i>	Syndrome de polypose juvénile			●			○	●		○
<i>SMAD4</i>	Syndrome de polypose juvénile et télangiectasie hémorragique héréditaire			●			○	●		●
<i>PALB2</i>	Risque associé à <i>PALB2</i>	●					○			

(suite)

²⁷ Information tirée de *Myriad myRiskTM Clinical Handbook* [Myriad Genetics, 2014].

Tableau 1 Gènes et syndromes couverts par le panel myRisk^{MD} et niveau de risque attribué à chacun selon Myriad Genetics (suite)

GÈNE	SYNDROME	RISQUE DE CANCER SELON MYRIAD GENETICS								
		CS	CO	CCR	CE	ME	CPA	CG	CPR	AC
<i>CHEK2</i>	Risque associé à <i>CHEK2</i>	●		○					○	
<i>ATM</i>	Risque associé à <i>ATM</i>	●					○			
<i>NBN</i>	Risque associé à <i>NBN</i>	○							○	
<i>BARD1</i>	Risque associé à <i>BARD1</i>	○								
<i>BRIP1</i>	Risque associé à <i>BRIP1</i>	○	●							
<i>RAD51C</i>	Risque associé à <i>RAD51C</i>	○	○							
<i>RAD51D</i>	Risque associé à <i>RAD51D</i>		○							

● : risque élevé; ○ : risque modéré; **CDKN2A* code pour 2 protéines, soit p16INK4A, associée au syndrome du mélanome et du cancer pancréatique héréditaire et p14ARF, associée au syndrome du mélanome héréditaire. Abréviations : AC : autres cancers; CCR : cancer colorectal; CE : cancer de l'endomètre; CG : cancer gastrique; CO : cancer de l'ovaire; CPA : cancer du pancréas; CPR : cancer de la prostate; CS : cancer du sein; Me : mélanome. Information tirée de *Myriad myRiskTM Clinical Handbook* [Myriad Genetics, 2014].

2.2.2 Précisions techniques

L'analyse complète des séquences codantes, de la région promotrice et des sites d'épissage de même que la détection des réarrangements (délétion et duplication) dans l'ensemble des gènes, à l'exception du gène *EPCAM*, sont effectuées par séquençage de nouvelle génération (SNG). Concernant ce dernier gène, seuls les réarrangements affectant l'expression du gène adjacent *MSH2*, reconnu pour son rôle dans le syndrome de Lynch, sont analysés.

Le SNG est réalisé en trois étapes principales : 1) la fragmentation de l'ADN génomique et l'enrichissement des amplicons d'intérêt, 2) le séquençage des amplicons et 3) l'analyse des variants. Pour effectuer ces étapes, plusieurs outils faisant appel à des technologies et à des procédés chimiques différents sont offerts sur le marché. Myriad Genetics utilise le système ThunderStorm^{MD} de RainDance Technologies pour réaliser l'enrichissement des régions d'intérêt. Pour ce faire, une aliquote d'ADN génomique fragmenté par sonification est dispersée dans de l'huile à l'intérieur de pico gouttelettes aqueuses. Ces dernières sont ensuite fusionnées avec d'autres gouttelettes individuelles contenant les paires d'amorces spécifiques des gènes d'intérêt et comportant une séquence adaptatrice partielle. Une première amplification par réaction en chaîne de polymérase (ou PCR) est effectuée afin d'enrichir les séquences ciblées. Les séquences exoniques, qui comprennent jusqu'à 20 bases en amont et 10 bases en aval, sont couvertes afin de permettre la détection de mutations dans les éléments conservés qui régulent l'épissage [Judkins *et al.*, 2015]. Les produits de la PCR sont ensuite purifiés et soumis à une seconde amplification. Cette amplification permet de compléter l'adaptateur qui sert au séquençage et d'incorporer une séquence de reconnaissance (code à barres) permettant le suivi des échantillons individuels. Le génome humain contient des pseudogènes qui peuvent interférer avec le séquençage de certains gènes. C'est le

cas, entre autres, des gènes *CHEK2* et *PMS2*. La conception d'amorces spécifiques, l'utilisation de filtres d'alignement lors de l'analyse des séquences ainsi que le recours à la PCR de longue portée (en anglais *long range PCR* ou LoRa) permettent de contourner cette limite.

Le système HiSeq^{MD} 2500 d'Illumina^{MD} est utilisé pour réaliser l'étape de séquençage de 23 des 25 gènes. Le système MiSeq^{MD} d'Illumina^{MD} est utilisé pour réaliser l'étape de séquençage des gènes *PMS2* et *CHEK2*, parce que celui-ci permet de réaliser une PCR LoRa. Les délétions et les duplications sont préalablement analysées par dosage relatif lors du SNG. Cette étape consiste à utiliser les ratios normalisés des amplicons de séquençage afin de détecter les variations du nombre de copies des gènes. Quant au séquençage proprement dit, il repose sur un principe similaire à celui de la méthode de Sanger, c'est-à-dire que la séquence est déterminée au cours de la synthèse cyclique d'un brin complémentaire à une matrice en utilisant des nucléotides fluorescents. La profondeur minimale de couverture utilisée pour la détermination des séquences obtenues par SNG est de 50X par base²⁸. Les séquences obtenues sont par la suite assemblées et alignées sur une séquence de référence. Les variants sont classés selon leur incidence fonctionnelle (effet sur la production ou sur la fonction de la protéine) et clinique (associée à une augmentation du risque de développer un cancer héréditaire)²⁹.

2.3 Modalités d'administration du test

L'analyse requiert une consultation génétique au préalable et le consentement écrit du patient. Le médecin prescripteur doit fournir la raison qui justifie l'analyse ainsi que les antécédents personnels et familiaux de cancer du patient (type de cancer et âge au moment du diagnostic).

Une trousse de prélèvement est commandée directement chez Myriad Genetics. L'analyse peut être effectuée à partir d'ADN extrait d'un échantillon de sang ou d'un échantillon de salive. L'échantillon biologique, le consentement du patient ainsi que la requête du médecin prescripteur sont ensuite réacheminés par courrier recommandé au laboratoire de Myriad Genetics à Salt Lake City aux États-Unis. Le délai de réponse est de 14 à 21 jours³⁰.

2.4 Société ou concepteur

- Myriad Genetics (panel myRisk^{MD} Hereditary Cancer)
- ThunderStorm^{MD} de RainDance^{MC} Technologies (système d'enrichissement des séquences)
- HiSeq 2500^{MD} d'Illumina^{MD} (système de séquençage)
- MiSeq^{MD} d'Illumina^{MD} (système de séquençage par PCR LoRa)
- 3730xl d'Applied Biosystems^{MC} (confirmation des mutations par la méthode de Sanger)

²⁸ Dans le séquençage de l'ADN, la profondeur de couverture fait référence au nombre de fois où un nucléotide est lu pendant le processus de séquençage. La couverture est le nombre moyen de lectures représentant un nucléotide donné dans la séquence reconstruite (Deep sequencing [site Web], disponible à : https://en.wikipedia.org/wiki/Deep_sequencing).

²⁹ Information tirée de Myriad myRiskTM Hereditary Cancer Technical Specifications. Effective: 4 June 2015, disponible à : <https://www.myriadgenetics.eu/wp-content/uploads/2016/01/myRisk-Hereditary-Cancer-Tech-Specs.pdf>.

³⁰ Information tirée de Myriad myRiskTM Hereditary Cancer Overview, disponible sur le site Web du fabricant à : <https://www.myriadpro.com/myrisk/hereditary-cancer-panel-overview/>.

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

L'usage à des fins de diagnostic clinique du panel de gènes myRisk^{MD} de Myriad Genetics n'est pas approuvé par Santé Canada, ni par la Food and Drugs Administration (FDA) aux États-Unis.

2.6 Valeur pondérée : 4 160,86

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Myriad Genetics recommande que l'analyse soit offerte à toutes les personnes qui présentent au moins l'une des caractéristiques suivantes³¹ :

- une combinaison de deux cancers ou plus dans une même famille (principalement les cancers associés au syndrome de Lynch et au syndrome de cancers du sein et de l'ovaire);
- un cancer colorectal, de l'endomètre ou du sein diagnostiqué à l'âge de 50 ans ou avant;
- une forme rare de cancer (cancer ovarien, cancer du sein triple négatif, cancer du sein chez l'homme, cancer colorectal ou de l'endomètre présentant des résultats anormaux d'IMS et d'IHC³²);
- la présence d'au moins 10 polypes gastro-intestinaux.

3.2 Description de la maladie visée

Au Canada, le cancer est la principale cause de décès représentant près de 30 % de ceux-ci. Environ 40 % des Canadiens développeront un cancer au cours de leur vie et 25 % en mourront. Selon les plus récentes statistiques de la Société canadienne du cancer (SCC), 196 900 personnes auraient reçu un diagnostic de cancer en 2015, tandis que 78 000 en seraient mortes. L'estimation du taux d'incidence normalisé de cancer selon l'âge était de 398 cas pour 100 000 habitants en 2015. Le taux de survie relative à 5 ans chez les personnes ayant reçu un diagnostic de cancer était de 63 %, celui-ci variant grandement selon le type de cancer. On estime qu'en 2028-2032, le nombre annuel moyen de nouveaux cas de cancer aura augmenté de 79 % par rapport à 2003-2007 [SCC, 2015].

Parmi les cancers les plus courants, seulement 5 % à 10 % des cas sont de type « héréditaire » et seraient attribuables à des mutations germinales dans des gènes à pénétrance élevée, mais incomplète, et transmises de façon autosomique dominante. En plus de ces derniers, 10 % à 15 % des cas de cancers les plus courants sont dits « familiaux » et pourraient être causés par l'interaction de gènes à faible pénétrance, aux interactions entre les gènes et l'environnement ou à une combinaison de ces deux facteurs [Nagy *et al.*, 2004].

Toujours selon la SCC, un cancer est susceptible d'être héréditaire s'il satisfait à l'un ou à plusieurs des critères suivants [SCC, 2016b] :

³¹ Information tirée de Myriad myRiskTM *Hereditary Cancer, Identifying Patients for Hereditary Cancer Risk*, disponible sur le site Web du fabricant à : <https://www.myriadpro.com/myrisk/identifying-patients/identifying-patients-screen-evaluate/>.

³² Analyse d'instabilité des microsatellites (IMS) et d'immunohistochimie (IHC).

- le cancer est détecté chez des membres d’au moins deux générations;
- plusieurs membres de la famille sont atteints du même type de cancer ou d’un type qui y est apparenté;
- au moins deux proches parents sont atteints d’un cancer appartenant à un syndrome héréditaire connu;
- des membres de la famille ont reçu un diagnostic de cancer à un plus jeune âge que celui auquel ce type de cancer est habituellement diagnostiqué;
- des membres de la famille sont atteints de plus d’un type de cancer primaire;
- les cancers atteignent les deux organes d’une paire, par exemple les deux seins ou les deux yeux, ou il y a présence de plusieurs tumeurs dans le même organe;
- un ou plusieurs membres de la famille sont ou ont été atteints d’un type rare de cancer.

Parmi les cancers héréditaires les plus connus figurent, entre autres, le cancer du sein et de l’ovaire, le cancer de l’endomètre, le cancer du pancréas, le cancer de la prostate, le mélanome, le cancer colorectal et certains types de cancer gastrique. Ces cancers héréditaires sont souvent regroupés par syndromes dont les mutations géniques en cause ainsi que le risque associé de cancer sont connus ou suspectés [SCC, 2016c].

3.3 Spécialités médicales concernées

Génétique, oncologie

3.4 Brève description de la situation actuelle

La majorité des tests génétiques qui évaluent le risque de cancer héréditaire par des techniques de SNG sont réalisés à l’extérieur du Québec. En plus du séquençage complet ou partiel du gène ou des gènes où la présence d’une mutation est suspectée en raison du phénotype que présente le patient, plusieurs fabricants offrent l’évaluation des réarrangements à l’aide de méthodes moléculaires complémentaires telles que l’amplification multiplexe de sonde dépendante d’une ligation (en anglais *multiplex ligation-dependant probe amplification* ou MLPA) ou l’hybridation génomique comparative (en anglais *comparative genomic hybridization* ou CGH). Certains panels contiennent uniquement des gènes où une mutation est associée à un risque élevé de présenter un syndrome particulier de cancer héréditaire et relativement auxquels des guides de pratique clinique permettent d’orienter la prise en charge des patients qui en sont atteints. D’autres panels de gènes comportent, en plus des gènes où une mutation est associée à un risque élevé de cancer, des gènes où une mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer relativement auxquels aucune recommandation claire n’a été publiée. Selon le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, quelques analyses servant au diagnostic moléculaire de certains cancers héréditaires peuvent également être réalisées au Québec. Ces analyses concernent principalement les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ainsi que les gènes où une mutation est associée au syndrome de Lynch et consistent généralement en des tests de dépistage de mutations individuelles connues (mutations d’Europe de l’Est, canadiennes-

françaises ou juives Ashkénazes), le séquençage de régions codantes par la méthode de Sanger ou encore la détection de délétions et de duplications par MLPA.

3.5 Données médico-administratives

Selon l'information obtenue du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS), 7 demandes d'analyse à l'aide du panel myRisk^{MD} ont été effectuées en 2013-2014, au coût unitaire de 4 160 \$ CA. Un nombre additionnel de 75 demandes effectuées chez Myriad Genetics, inscrites sous une appellation différente et correspondant au coût unitaire de l'analyse myRisk^{MD}, a également été répertorié. Au total, on estime que 82 demandes correspondant à une charge annuelle de 341 120 \$ CA ont été soumises en 2013-2014. Ces demandes d'analyse ont toutes été acceptées et remboursées par la RAMQ.

3.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon Myriad Genetics, myRisk^{MD} permet aux cliniciens de considérer une plus grande gamme de gènes et de phénotypes de manière plus rapide et plus rentable qu'une analyse de gènes « à l'unité ». Toujours selon Myriad Genetics, le panel myRisk^{MD} permet de détecter de 40 % à 50 % plus de mutations que leurs panels ciblés, tels que BRACAnalysis^{MD} (analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*) et COLARIS^{MD} (analyses du gène *MUTYH* et des 5 gènes liés au syndrome de Lynch) combinés. Selon Myriad Genetics, cette approche permet d'améliorer la qualité des soins en optimisant la sensibilité analytique et en procurant des résultats qui permettent de modifier la prise en charge médicale des patients.³³

3.7 Assurance qualité

Une combinaison de logiciels commerciaux et conçus par Myriad Genetics est utilisée pour traiter les données de SNG, lequel comprend l'appel des bases, l'alignement des séquences, la détection des variants, l'annotation et les mesures de qualité. Les variants génétiques détectés sont vérifiés par ordinateur ainsi que par des examinateurs. Les variants cliniquement significatifs sont confirmés par séquençage de Sanger, tel que le recommande l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Les régions qui n'atteignent pas une couverture minimale de lecture de 50x par base sont également vérifiées par séquençage de Sanger. Les délétions et les duplications suspectées par dosage lors du SNG sont confirmées par MLPA ou par CGH.³⁴ Myriad Genetics respecte les normes CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) du Centers for Disease Control and Prevention (États-Unis) et celles du College of American Pathologists (CAP) (États-Unis) [Judkins *et al.*, 2015].

3.8 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucun autre test inscrit dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

³³ Information tirée de Myriad myRiskTM Clinical Handbook [Myriad Genetics, 2014].

³⁴ Information tirée de Myriad myRiskTM Hereditary Cancer Technical Specifications. Effective : 4 June 2015, disponible à : <https://www.myriadgenetics.eu/wp-content/uploads/2016/01/myRisk-Hereditary-Cancer-Tech-Specs.pdf>.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Afin d'apprécier la valeur diagnostique d'un panel de gènes dans l'évaluation du risque de cancer héréditaire, sept études ont été retenues, soit trois études portant sur le panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics [Tung *et al.*, 2015; Yorczyk *et al.*, 2015; Yurgelun *et al.*, 2015] et deux autres études portant sur des panels similaires, offerts par Invitae [Lincoln *et al.*, 2015; Kurian *et al.*, 2014]. Les deux dernières études retenues portent sur les différents panels offerts par Ambry Genetics, dont CancerNext^{MD} [LaDuca *et al.*, 2014], et sur les panels offerts par GeneDx, dont le Comprehensive Cancer Panel^{MD} et le High/Moderate Risk Panel^{MD} [Susswein *et al.*, 2015]. Précisons que relativement à six des sept études retenues, certains des auteurs ont déclaré un conflit d'intérêts (lien d'emploi, rémunération, obtention de fonds de recherche ou autres formes d'affiliation avec le fournisseur du test). Seuls Yorczyk et ses collaborateurs [2015] n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts.

4.1.1 Fréquence de détection de mutation par le panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics

Le tableau 3 de la page 17 présente les résultats des trois études dans lesquelles le panel myRisk^{MD} a été utilisé. Les fréquences de détection d'une mutation associée à un risque élevé, modéré ou incertain de cancer sont présentées en fonction du gène touché et de leur corrélation avec les antécédents médicaux (personnels et familiaux) des patients à l'étude.

La première étude, publiée par Yorczyk et ses collaborateurs [2015], est un essai prospectif ayant pour objectif de comparer l'utilisation exclusive des panels de gènes multiples à une approche réflexive dans les cas de cancers héréditaires. Pour ce faire, le panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics a été utilisé pour analyser les échantillons d'ADN de 105 patients qui répondaient aux critères de leur assureur respectif pour être admissibles à l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2* ou des gènes associés au syndrome de Lynch. Des 105 patients, 7 (6,7 %) présentaient une mutation, dont :

- 57 % (4/7) dans un gène où la mutation est associée à un risque élevé de cancer suggéré par les antécédents médicaux du patient (tous dans le gène *BRCA1* et le gène *BRCA2*);
- 14 % (1/7) dans le gène *CHEK2* (chez 1 femme ayant des antécédents personnels de cancer du sein diagnostiqué à l'âge de 39 ans et des antécédents familiaux de cancer du côlon);
- 14 % (1/7) dans le gène *APC* (chez 1 homme atteint d'un cancer du sein et ayant des antécédents familiaux d'apparition tardive de cancer du côlon);
- 14 % (1/7) dans le gène *EPCAM* (chez 1 femme de 54 ans ayant des antécédents familiaux de cancer du sein et de l'ovaire, sans en être atteinte).

Selon les auteurs, ces deux dernières mutations ont été détectées dans des gènes associés à un risque élevé de cancer dont les antécédents médicaux du patient ne laissaient pas suspecter la présence. Dans leurs conclusions, les auteurs soulignent en effet que les mutations détectées n'étaient pas toujours celles auxquelles ils s'attendaient et que certaines n'étaient pas bien définies sur le plan de la validité clinique. Pour ces raisons, les auteurs soulignent que les cliniciens devraient informer et conseiller leurs patients sur les possibilités d'une découverte fortuite de mutation

ou d'un variant qui pourrait ne pas avoir d'incidence sur leur prise en charge clinique [Yorczyk *et al.*, 2015].

La seconde étude, celle de Yurgelun et ses collaborateurs [2015], est un essai prospectif dont l'objectif était de déterminer la fréquence de détection de mutations par le panel myRisk^{MD} dans une cohorte de 1 260 patients recommandés en raison d'un cancer associé au syndrome de Lynch ou de la présence de polypes colorectaux. Parmi tous les patients évalués, 1 112 patients (88 %) répondaient aux critères du National Comprehensive Cancer Network (NCCN) relatifs au syndrome de Lynch. Selon les résultats, 156 patients (12,4 %) présentaient une mutation, dont :

- 82,7 % (129/156) dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer, qui coïncide avec les antécédents médicaux du patient;
- 5,1 % (8/156) dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer, qui ne coïncide pas avec les antécédents médicaux du patient, soit dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*;
- 12,2 % (19/156) dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer, qui coïncide avec les antécédents médicaux du patient (3,8 %, soit 6/19) ou non (8,3 %, soit 13/19).

Les auteurs soulignent que la détection de mutations dans des gènes à pénétrance élevée, qui ne semblent pas coïncider avec les antécédents médicaux du patient, pose un problème de prise en charge par les cliniciens et soulève la question de savoir si les syndromes de cancer héréditaire devraient être définis à partir de données génotypiques, de données phénotypiques ou d'une combinaison des deux. Aussi, les auteurs mentionnent que les mutations dans des gènes à pénétrance modérée, sans corrélation avec le phénotype du patient, sont des résultats dont la validité clinique est discutable et constitue une des limites de l'utilisation des panels de gènes multiples [Yurgelun *et al.*, 2015].

Pour sa part, l'étude de Tung et ses collaborateurs [2015] avait pour objectif de déterminer la fréquence de détection de mutations chez des patients ayant des antécédents personnels de cancer du sein en utilisant le panel myRisk^{MD}. Une première cohorte de 1 781 cas prospectifs consécutifs de cancer du sein, pour lesquels une analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2* était recommandée, a été soumise au test myRisk^{MD}. Parmi ceux-ci, 241 patients (13,5 %) présentaient une mutation, dont :

- 70,1 % (169/241) dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer du sein et de l'ovaire, et ce, majoritairement dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* (68,5 %; 165/241);
- 27,4 % (66/241) dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer du sein;
- 2,5 % (6/241) dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer, autre que le cancer du sein, et ce, principalement dans des gènes associés au syndrome de Lynch. Une mutation biallélique dans le gène *MUTYH* a également été détectée [Tung *et al.*, 2015].

Considérant la fréquence de détection de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* uniquement, soit 9,3 % (165/1 781), l'utilisation du panel myRisk^{MD} a permis de repérer 76 cas additionnels qui présentaient une mutation, soit l'équivalent d'un gain du taux de détection de 4,3 % (IC à 95 % : 2,1 à 6,4). Cependant, en ciblant uniquement les gènes où une mutation est associée aux cancers du sein et de l'ovaire et dont les antécédents médicaux du patient laissent supposer la présence, le taux de détection aurait été de 13,2 % (235/1 781), soit l'équivalent d'un gain du taux de détection de 3,9 % (IC à 95 % : 1,8 % à 6,1 %) comparativement à une analyse limitée aux gènes *BRCA1* et *BRCA2* (13,2 % contre 9,3 %) [Tung *et al.*, 2015]. Ainsi, le gain de détection associé à l'utilisation du panel myRisk^{MD}, comparativement à celle d'un panel ciblant uniquement les antécédents médicaux du patient, aurait été de 0,3 % (13,5 % contre 13,2 %); soit 6 mutations, toutes dans des gènes non suspectés par le phénotype du patient (voir le tableau 2).

Tableau 2 Fréquence de détection d'une mutation en fonction du type d'analyse chez les 1 781 patients inclus dans l'étude de Tung et ses collaborateurs [2015]

ANALYSE	PATIENTS AYANT ≥ 1 MUTATION, N (%)		CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX, N (%)		GÈNES SANS CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX
	GLOBALE	GAIN PAR RAPPORT À <i>BRCA1</i> ET <i>BRCA2</i>	GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE ÉLEVÉ	GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE MODÉRÉ OU INCERTAIN	
<i>BRCA1</i> et <i>BRCA 2</i> seulement	165 (9,3)	s. o.	165 (100)	s. o.	s. o.
Panel ciblé*	235 (13,2)	+70 (+3,9)	169 (72)	66 (28)	s. o.
myRisk ^{MD}	241 (13,5)	+76 (+4,3)	169 (70)	66 (27)	6 (3)

Abréviations : N : nombre; s. o. : sans objet

*Gènes de susceptibilité du cancer du sein et de l'ovaire dont les antécédents médicaux laissent supposer la présence (c'est-à-dire, à l'exception des gènes où la mutation est associée à un risque accru de cancer de l'ovaire chez les patientes ayant un antécédent de cancer du sein uniquement).

Une seconde cohorte de 377 cas rétrospectifs, confirmés être négatifs relativement à la présence d'une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*, a également été évaluée par Tung et ses collaborateurs [2015]. Parmi ceux-ci, 14 patients (3,7 %) présentaient une mutation, dont :

- 14,1 % (2/14) dans le gène *CDH1*, en cause dans le cancer gastrique diffus héréditaire et associée à un risque élevé de cancer du sein;
- 21,4 % (3/14) dans des gènes où une mutation n'est pas associée au cancer du sein, mais associée à un risque élevé de cancer colorectal chez 2 patients (gènes *APC* et *MUTYH* biallélique) et de cancer du pancréas et de mélanome chez 1 patient (gène *CDKN2A*);
- 64,3 % (9/14) dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré de cancer du sein.

Dans leur conclusion, les auteurs affirment que l'analyse de multiples gènes peut être avantageuse pour certains patients soigneusement sélectionnés, en particulier ceux qui ont des antécédents personnels ou familiaux compatibles avec plus d'un type de syndrome héréditaire [Tung *et al.*, 2015].

En résumé, d'après les trois études présentées, l'analyse réalisée à l'aide du panel myRisk^{MD} aurait permis de détecter une mutation associée à un risque élevé de cancer suggéré par les antécédents médicaux chez 3,8 % à 10,2 % des personnes soumises au test (voir le tableau 3). Cependant, ce panel permet également la détection de mutations dans des gènes associés à un risque élevé de cancer dont les antécédents médicaux du patient ne permettent pas de supposer la présence (jusqu'à 1,9 % des patients soumis au test) ainsi que dans des gènes associés à un risque modéré ou incertain d'un cancer associé ou non aux antécédents médicaux du patient (jusqu'à 3,7 % des patients soumis au test). Les découvertes fortuites constituent un défi dans la prise en charge clinique des patients, parce que leur conséquence clinique n'est pas toujours clairement définie. De plus, dans de nombreux cas, l'information de dépistage provenant de gènes à pénétrance modérée ne change pas la gestion clinique du risque par rapport à celle fondée uniquement sur les antécédents médicaux du patient [NCCN, 2015b].

Tableau 3 Fréquence de détection de mutations du panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics

ÉTUDE, ANNÉE (PAYS)	POPULATION CRITÈRES DE RECRUTEMENT (ÂGE MÉDIAN OU MOYEN AU DIAGNOSTIC)	ANTÉCÉDENTS DE CANCER ET DE LÉSIONS PRÉCANCÉREUSES, N (%)	PATIENTS AYANT ≥1 MUTATIONS, N (%)	FRÉQUENCE DE DÉTECTION DE MUTATIONS, N (%)*			
				GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE ÉLEVÉ		GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE MODÉRÉ OU INCERTAIN	
				CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	SANS CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	SANS CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX
Yorczyk, 2014 (É.-U.)	N = 105 Patients répondant aux critères de leur assureur pour être admissibles à l'analyse des gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> ou des gènes liés au SL	Antécédents personnels 61 (58 %) Antécédents familiaux n. d.	7 (6,7 %)	<i>BRCA1</i> : 2 <i>BRCA2</i> : 2 Total : 4 (3,8 %)	<i>APC</i> : 1 <i>EPCAM</i> : 1 Total : 2 (1,9 %)	<i>CHEK2</i> : 1 Total : 1 (1,0 %)	Total : 0 (s. o.)
Yurgelun, 2015 (É.-U.)	N = 1 260 Antécédents personnels de cancer associé au SL et/ou polypes colorectaux Patients répondant aux critères du NCCN relatifs au SL : 1 112 (88 %) (âge médian de 47 ans : 39-55,5)	Antécédents personnels Côlon 790 (63 %) Colorectal, < 50 ans 434 (34 %) Endomètre 292 (23 %) Ovaire 84 (7 %) ≥2 cancers primaires 172 (14 %) Antécédents familiaux Côlon 726 (58 %) Endomètre 191 (15 %) Ovaire 142 (11 %) Sein 294 (23 %) Associés au SL 930 (74 %) Inconnue 161 (13 %) Polypes colorectaux 280 (22 %)	156 (12,4 %)	<i>MLH1</i> : 31 <i>MSH2</i> : 39 <i>MSH2</i> + <i>ATM</i> : 1 <i>MSH6</i> : 25 <i>MSH6</i> + <i>STK11</i> : 1 <i>PMS2</i> : 14 <i>EPCAM</i> : 3 <i>APC</i> : 5 <i>MUTYH</i> ^{bi} : 3 <i>BRCA1</i> ^{†,§} : 2 <i>BRCA2</i> [§] : 5 Total : 129 (10,2 %)	<i>BRCA1</i> : 4 <i>BRCA2</i> : 4 Total : 8 (0,6 %)	<i>CHEK2</i> : 5 <i>PALB2</i> [§] : 1 Total : 6 (0,5 %)	<i>BARD1</i> : 1 <i>NBN</i> : 1 <i>RAD51C</i> : 1 <i>ATM</i> : 8 <i>BRIP1</i> : 2 Total : 13 (1,0 %)

ÉTUDE, ANNÉE (PAYS)	POPULATION CRITÈRES DE RECRUTEMENT (ÂGE MÉDIAN OU MOYEN AU DIAGNOSTIC)	ANTÉCÉDENTS DE CANCER ET DE LÉSIONS PRÉCANCÉREUSES, N (%)	PATIENTS AYANT ≥1 MUTATIONS, N (%)	FRÉQUENCE DE DÉTECTION DE MUTATIONS, N (%) [*]			
				GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE ÉLEVÉ		GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE MODÉRÉ OU INCERTAIN	
				CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	SANS CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	SANS CORRÉLATION AVEC ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX
Tung, 2015 (É.-U.)	N = 1 781 Antécédents personnels de cancer du sein, recommandation d'analyse des gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> (âge moyen de 47,2 ans)	Antécédents personnels Sein 1 735 (97,4 %) Sein et ovaire 40 (2,2 %) Sein et pancréas 6 (0,3 %) Antécédents familiaux Risque élevé 644 (36,2 %) Risque faible 1 137 (63,8 %)	241 (13,5 %)	<i>BRCA1</i> : 78 <i>BRCA2</i> : 84 <i>BRCA2</i> + <i>ATM</i> : 1 <i>BRCA2</i> + <i>CHEK2</i> : 1 <i>BRCA2</i> + <i>NBN</i> : 1 <i>TP53</i> : 2 <i>PMS2</i> ^{†,§} : 1 <i>MSH2</i> [†] : 1 Total : 169 (9,5 %)	<i>MSH6</i> : 2 <i>PMS2</i> : 3 <i>MUTYH</i> ^{bi} : 1 Total : 6 (0,3 %)	<i>BRIP1</i> : 7 <i>BARD1</i> : 6 <i>NBN</i> : 2 <i>ATM</i> : 11 <i>CHEK2</i> : 26 <i>CHEK2</i> + <i>CHEK2</i> : 2 <i>PALB2</i> : 12 Total : 66 (3,7 %)	Total : 0 (s. o.)
	N = 377 Antécédents personnels de cancer du sein, profil <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> négatif (âge moyen de 45,6 ans)	Antécédents personnels Sein 369 (97,9 %) Sein et ovaire 7 (1,8 %) Sein et pancréas 1 (0,3 %) Antécédents familiaux Risque élevé 167 (44,3 %) Risque faible 210 (55,7 %)	14 (3,7 %)	<i>CDH1</i> : 2 Total : 2 (0,5 %)	<i>APC</i> : 1 <i>MUTYH</i> ^{bi} : 1 <i>CDKN2A</i> : 1 Total : 3 (0,8 %)	<i>ATM</i> : 1 <i>ATM</i> + <i>BARD1</i> : 1 <i>CHEK2</i> : 5 <i>NBN</i> : 1 <i>PALB2</i> : 1 Total : 9 (2,4 %)	Total : 0 (s. o.)

Abréviations : bi : mutation biallélique; N : nombre; NCCN : National Comprehensive Cancer Network; n. d. : donnée non disponible; SL : syndrome de Lynch; s. o. : sans objet

* La classification des gènes selon les antécédents médicaux peut varier et n'est pas mutuellement exclusive.

** Les mutations mono-alléliques dans le gène *MUTYH* n'ont pas été comptabilisées, parce que la polypose associée à ce gène est une maladie autosomique récessive [Lubbe *et al.*, 2009].

† Patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire § Patients ayant des antécédents familiaux de cancer du sein

4.1.2 Fréquence de détection de mutations d'autres panels de syndrome de cancer héréditaire

La recherche documentaire a également permis d'identifier deux études dans lesquelles des panels respectifs de 42 et de 29 gènes ont été analysés par SNG chez Invitae [Lincoln et al., 2015; Kurian et al., 2014]. Le tableau 4 présente les fréquences auxquelles une mutation a été détectée dans des gènes associés à un risque élevé, modéré ou incertain de cancer en fonction de leur corrélation avec les antécédents médicaux du patient. Précisons que dans l'étude de Lincoln et ses collaborateurs [2015], les mutations ont été classées en fonction du niveau de risque de cancers du sein et de l'ovaire qui leur est attribué, parce que les antécédents personnels de chacun des patients n'ont pas été précisés par les auteurs.

Kurian et ses collaborateurs [2014] ont utilisé un panel de 42 gènes afin d'évaluer le risque de cancer chez des patientes ayant des antécédents personnels ou familiaux de cancer du sein ou de l'ovaire. Une cohorte rétrospective de 198 patientes, y compris 141 cas de profil *BRCA1* et *BRCA2* négatif ainsi que 57 cas de profil *BRCA1* et *BRCA2* positif, a été analysée. Dans cette cohorte, 67 patientes (33,8 %) présentaient une mutation génique, dont :

- 88,1 % (59/67) dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer du sein et de l'ovaire, majoritairement dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* (85,1 %; 57/67);
- 1,5 % (1/67) dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer, sans corrélation avec les antécédents médicaux;
- 10,4% (7/67) dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer du sein.

Une patiente présentait deux mutations, soit dans les gènes *CDH1* et *NBN*, associées à un risque élevé de cancer gastrique en plus de cancer du sein. Une mutation a également été détectée dans un gène associé au syndrome de Lynch, soit *MLH1*, chez une patiente atteinte d'un cancer du sein et de l'endomètre. Un variant potentiellement pathogène détecté fortuitement dans le gène *CDKN2A*, un gène associé au mélanome et au cancer du pancréas, a également été détecté. Selon les auteurs, ce résultat n'a cependant pas permis de modifier la prise en charge de la patiente en raison de l'incertitude concernant le degré de pathogénicité du variant et de l'absence de corrélation avec des antécédents médicaux.

Selon Kurian et ses collaborateurs [2014], certaines mutations détectées au moyen du panel l'auraient aussi été en appliquant les recommandations actuelles de pratique clinique. La mutation du gène *MLH1* détectée chez une patiente ayant obtenu un diagnostic de cancer du sein triple négatif à l'âge de 35 ans et atteinte d'un carcinome de l'endomètre pour lequel elle avait subi une hystérectomie à l'âge de 46 ans est un bon exemple. En effet, le NCCN recommande l'analyse des gènes associés au syndrome de Lynch chez les patientes atteintes d'un cancer de l'endomètre avant l'âge de 50 ans [NCCN, 2015a; Kurian *et al.*, 2014]. Finalement, Kurian [2014] conclut que les panels incluant de multiples gènes peuvent être utiles dans certains cas, mais que davantage de données sont nécessaires afin d'évaluer la pénétrance de certaines mutations repérées et de préciser leur utilité clinique.

La seconde étude, celle de Lincoln et ses collaborateurs [2015], avait notamment pour objectif de comparer l'efficacité et la validité analytique et clinique d'une analyse moléculaire restreinte, se limitant aux gènes *BRCA1* et *BRCA2*, à celles d'un panel de 29 gènes associés à un syndrome de cancer héréditaire. Pour ce faire, un total de 1 062 échantillons d'ADN de patients suspectés de HBOC ont

été analysés, soit 735 cas prospectifs et 327 rétrospectifs, dont 118 patients ayant des antécédents familiaux de mutation.

Parmi les 735 cas prospectifs, 91 patients (12,4 %) présentaient une mutation, dont :

- 74,7 % (68/91) dans un gène où la mutation est associée à un risque élevé de syndrome de HBOC, dont 71,4 % (65/91) dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* et 3,3 % (3/91) dans d'autres gènes, soit *CDH1* et *MLH1*;
- 24,2 % (22/91) dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancers du sein et de l'ovaire;
- 1,1 % (1/91) dans le gène *CDKN2A* chez un patient sans antécédents médicaux de mélanome ou de cancer du pancréas.

Parmi les 327 cas rétrospectifs, 143 patients (43,7 %) présentaient une mutation, dont :

- 91,6 % (131/143) dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*;
- 4,2 % (6/143) dans d'autres gènes où une mutation est associée à un risque élevé de cancer du sein ou de l'ovaire, soit dans les gènes *MSH2*, *CDH1* et *TP53*;
- 4,2 % (6/143) dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer du sein ou de l'ovaire.

Aucune mutation n'a été détectée dans les gènes non associés au HBOC.

Parmi les cas rétrospectifs, on rapporte une plus grande proportion de patients atteints d'une mutation, soit une proportion de cas positifs de 43,7 % contre 12,4 % dans la cohorte prospective. La majorité des mutations a été détectée dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*, soit dans 71,4 % à 91,6 % des cas positifs. Les taux les plus élevés proviennent des populations rétrospectives à risque élevé de présenter un syndrome de HBOC. Lincoln et ses collaborateurs [2015] concluent que les panels comprenant de multiples gènes analysés par SNG produisent des résultats comparables à ceux que produisent les méthodes traditionnelles et peuvent même permettre de détecter certaines mutations qui autrement seraient passées inaperçues. Toutefois, l'adoption de ces tests à grande échelle comporte des défis de taille, dont certains pourraient être relevés grâce au partage des séquences issues de la production de bases de données publiques sur les variants cliniques détectés [Lincoln *et al.*, 2015].

En résumé, la fréquence de détection des mutations par un panel de gènes multiples est tributaire de la population à l'étude, du risque spécifique de cancer que celle-ci présente et des gènes analysés. Les résultats de Lincoln et ses collaborateurs [2015] montrent bien les différences observées entre une population prospective, plus représentative de la pratique clinique, et une population rétrospective qui présente un risque élevé.

Tableau 4 Fréquence de détection de mutations par des panels de cancers héréditaires offerts par Invitae

ÉTUDE, ANNÉE (PAYS)	TEST	POPULATION CRITÈRES D'INCLUSION	ANTÉCÉDENTS DE CANCER ET DE LÉSIONS PRÉCANCÉREUSES, N (%)	PATIENTS AYANT ≥1 MUTATIONS, N (%)	FRÉQUENCE DE DÉTECTION DES MUTATIONS, N (%)			
					GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE ÉLEVÉ		GÈNES ASSOCIÉS À RISQUE MODÉRÉ OU INCERTAIN	
					CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	SANS CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX	SANS CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX
Kurian, 2014 (É.-U.)	Invitae, 42 gènes	N = 198 Patients répondant aux critères de leur assureur pour être admissibles à l'analyse des gènes <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> selon les recommandations du NCCN. Profil <i>BRCA1</i> + ou <i>BRCA2</i> + (N = 57, soit 28,8 %)	Antécédents personnels Sein unilatéral : 138 (69,7 %) Sein bilatéral : 36 (18,1 %) Ovaire : 1 (0,5 %) Autres cancers : 18 (9,1 %) Antécédents familiaux Sein : 148 (74,7 %) Ovaire : 52 (26,3 %)	67 (33,8 %)	<i>BRCA1</i> + <i>BRCA2</i> : 57 <i>CDH1</i> + <i>NBN</i> : 1 <i>MLH1</i> : 1* Total : 59 (29,8 %)	<i>CDKN2A</i> : 1 Total : 1 (0,5 %)	<i>BLM</i> : 1 <i>NBN</i> : 1 <i>PRSS1</i> : 1 <i>SLX4</i> : 2 <i>ATM</i> : 2 Total : 7 (3,5 %)	Total : 0 (s. o.)
Lincoln, 2015 (É.-U.)	Invitae, 29 gènes	N = 735 Cohorte prospective répondant aux critères du NCCN relativement au HBOC	Antécédents personnels Sein : 503 (68,4 %) Ovaire : 42 (5,7 %) Colorectal : 9 (1,2 %) Endomètre : 12 (1,6 %) Pancréas : 2 (0,3 %) Absence de cancer : 167 (22,7 %)	91 (12,4 %)	<i>BRCA1</i> : 47 <i>BRCA2</i> : 18 <i>CDH1</i> : 1 <i>MLH1</i> : 1 <i>MSH2</i> : 1 Total : 68 (9,3 %)	<i>CDKN2A</i> : 1 Total : 1 (0,1 %)	<i>ATM</i> : 5 <i>PALB2</i> : 5 <i>CHEK2</i> : 3 <i>BRIP1</i> : 1 <i>MSH6</i> : 2 <i>PMS2</i> : 4 <i>RAD51C</i> : 2 Total : 22 (3,0 %)	Total : 0 (s. o.)
		N = 327 Cohorte rétrospective à risque élevé de HBOC (N = 209) Recommandation en raison d'antécédents familiaux de mutation dans un gène associé au HBOC (N = 118)	Antécédents personnels Sein : 154 (47,1 %) Ovaire : 17 (5,2 %) Colorectal : 4 (1,2 %) Endomètre : 2 (0,6 %) Pancréas : 1 (0,3 %) Absence de cancer : 142 (43,4 %)	143 (43,7 %)	<i>BRCA1</i> : 70 <i>BRCA1</i> + <i>BRCA2</i> : 2 <i>BRCA2</i> : 58 <i>BRCA2</i> + <i>ATM</i> : 1 <i>MSH2</i> : 1 <i>CDH1</i> : 3 <i>TP53</i> : 2 Total : 137 (41,9 %)	Total : 0 (s. o.)	<i>ATM</i> : 3 <i>CHEK2</i> : 2 <i>RAD51C</i> : 1 Total : 6 (1,8 %)	Total : 0 (s. o.)
		N = 1 062 Cohorte globale	Antécédents personnels Sein : 657 (61,9 %) Ovaire : 59 (5,6 %) Colorectal : 13 (1,2 %) Endomètre : 14 (1,3 %) Pancréas : 3 (0,3 %) Absence de cancer : 309 (29,1 %)	234 (22,0 %)	<i>BRCA1</i> : 117 <i>BRCA1</i> + <i>BRCA2</i> : 2 <i>BRCA2</i> : 76 <i>BRCA2</i> + <i>ATM</i> : 1 <i>MLH1</i> : 1 <i>MSH2</i> : 2 <i>CDH1</i> : 4 <i>TP53</i> : 2 Total : 205 (19,3 %)	<i>CDKN2A</i> : 1 Total : 1 (0,1 %)	<i>MSH6</i> : 2 <i>PMS2</i> : 4 <i>ATM</i> : 8 <i>BRIP1</i> : 1 <i>CHEK2</i> : 5 <i>PALB2</i> : 5 <i>RAD51C</i> : 3 Total : 28 (2,6 %)	Total : 0 (s. o.)

Abréviations : HBOC : cancers héréditaires du sein et de l'ovaire; N : nombre; NCCN : National Comprehensive Cancer Network; s. o. : sans objet

* Patiente atteinte d'un cancer du sein et d'un cancer de l'endomètre

4.1.3 Fréquence de détection de mutations par des panels ciblant un seul cancer héréditaire et des panels ciblant plusieurs syndromes de cancers héréditaires

Parmi les études retenues, deux études, soit celle de LaDuca [2014] et celle de Susswein [2015], portent sur l'utilisation de différents panels ciblant un seul ou plusieurs syndromes de cancer héréditaire offerts par Ambry Genetics et par GeneDx, respectivement. L'étude de LaDuca et ses collaborateurs [2014] avait pour objectif de déterminer les caractéristiques moléculaires et cliniques de 2 079 patients soumis à des analyses réalisées à l'aide de différents panels de gènes ciblant un type spécifique de cancer héréditaire, offerts par Ambry Genetics, soit les panels ciblant le cancer du sein (BreastNext^{MD}), de l'ovaire (OvaNext^{MD}) et du côlon (ColoNext^{MD}), ainsi que le panel regroupant les gènes de différents syndromes de cancer héréditaire (CancerNext^{MD}). La liste des gènes analysés par NGS inclus dans les différents panels offerts par Ambry Genetics au moment de l'étude est fournie dans l'annexe A du présent avis. Le tableau 5 présente les fréquences auxquelles une mutation a été détectée dans un gène associé à un risque élevé, modéré ou incertain de cancer ayant, ou non, une corrélation avec les antécédents médicaux du patient, en fonction du panel utilisé. Précisons que les gènes *BRCA1* et *BRCA2* n'étaient pas inclus dans les panels offerts par Ambry Genetics au moment de l'étude en raison des brevets alors détenus par Myriad Genetics [LaDuca *et al.*, 2014].

D'après les résultats obtenus à l'aide des différents panels, de 7,2 % à 9,4 % des patients soumis au test présentaient une mutation, dont :

- 65 % à 96,9 % dans des gènes où la mutation est associée à un risque élevé de cancer ayant une corrélation avec les antécédents médicaux du patient;
- 1,6 % à 18,8 % dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer ayant une corrélation avec les antécédents médicaux du patient;
- 1,6 % à 20 % dans des gènes où la mutation est associée à un risque de cancer, sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient.

Les taux de corrélation les plus élevés entre les antécédents médicaux et les gènes qui présentaient une mutation ont été obtenus lors des analyses réalisées à l'aide des panels BreastNext^{MD} (98,5 %; 63/64) et ColoNext^{MD} (98,0 %; 49/50), qui sont également les panels comportant le plus petit nombre de gènes, soit 14 gènes associés au cancer du sein et 14 gènes associés au cancer du côlon, respectivement. Concernant la fréquence de détection d'une mutation dans des gènes associés à un risque modéré ou incertain de cancer, selon ce que laissent supposer les antécédents médicaux, le panel OvaNext^{MD} de 19 gènes présentait le taux le plus élevé (18,8 %; 3/16). Le panel CancerNext^{MD}, comportant le plus grand nombre de gènes et couvrant la gamme la plus étendue de cancers, est celui qui affiche le taux de détection le plus élevé de mutation associée à un cancer sans corrélation avec les antécédents médicaux (20,0 %; 8/40) [LaDuca *et al.*, 2014].

Dans leur conclusion, LaDuca et ses collaborateurs [2014] soulignent que dans les cas de phénotype atypique, les risques de cancer peuvent être établis seulement à partir des données génotypiques obtenues et que ces risques passeraient inaperçus si le test était guidé strictement par l'analyse d'un seul gène ou ciblait un seul syndrome. Selon eux, les résultats obtenus constituent un cadre initial pour guider la recherche clinique sur les avantages et les limites des panels ciblant de multiples syndromes héréditaires.

Tableau 5 Fréquences de détection de mutation par différents panels de gènes (à l'exception des gènes *BRCA1* et *BRCA2*) offerts par Ambry Genetics, rapportées dans l'étude de LaDuca et ses collaborateurs [2014]

PANEL	POPULATION *	ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX DE CANCER ET DE LÉSIONS PRÉCANCÉREUSES, N (%)	PATIENTS AYANT ≥ 1 MUTATIONS, N (%)	CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX, N (%)		GÈNES SANS CORRÉLATION AVEC LES ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX, N (%)
				GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE ÉLEVÉ	GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE MODÉRÉ OU INCERTAIN	
BreastNext ^{MD} 14 gènes	N = 874	Sein : 810 (92,7 %) Ovaire : 9 (1,0 %) Colorectal : 7 (0,8 %) Adénome : 24 (2,7 %) Endomètre : 8 (0,9 %) Pancréas : 3 (0,3 %) Absence de cancer : 43 (4,9 %)	64 (7,3 %)	62 (96,9 %)	1 (1,6 %)	1 (1,6 %)
ColoNext ^{MD} 14 gènes	N = 557	Sein : 40 (7,2 %) Ovaire : 8 (1,4 %) Colorectal : 281 (50,4 %) Adénome : 270 (48,5 %) Endomètre : 42 (7,5 %) Pancréas : 1 (0,2 %) Absence de cancer : 25 (4,5 %)	50 (9,0 %)	48 (96,0 %)	1 (2,0 %)	1 (2,0 %)
OvaNext ^{MD} 19 gènes	N = 223	Sein : 103 (46,2 %) Ovaire : 111 (49,8 %) Colorectal : 2 (0,9 %) Adénome : 18 (8,1 %) Endomètre : 17 (7,6 %) Pancréas : 1 (0,4 %) Absence de cancer : 17 (7,6 %)	16 (7,2 %)	12 (75,0 %)	3 (18,8 %)	1 (6,3 %)
CancerNext ^{MD} 22 gènes	N = 425	Sein : 215 (50,6 %) Ovaire : 32 (7,5 %) Colorectal : 66 (15,5 %) Adénome : 57 (13,4 %) Endomètre : 40 (9,4 %) Pancréas : 29 (6,8 %) Primaires multiples : 160 (37,6 %) Absence de cancer : 14 (3,3 %)	40 (9,4 %)	26 (65,0 %)	6 (15,0 %)	8 (20 %)

Abréviation : N : nombre

* Les patients inclus dans cette étude rétrospective y ont été orientés par leur clinicien. Le choix du panel utilisé pour chaque patient repose sur le jugement du médecin prescripteur ou selon des critères cliniques internes précis [LaDuca *et al.*, 2014].

L'étude de Susswein et ses collaborateurs [2015] présente les résultats obtenus à l'aide des différents panels ciblant des cancers héréditaires spécifiques offerts par GeneDx, soit ceux ciblant le cancer du sein (Breast Cancer High Risk Panel^{MD}), les cancers du sein et de l'ovaire (Breast/Ovarian Panel^{MD}), le cancer de l'endomètre (Endometrial Panel^{MD}), le cancer du pancréas (Pancreatic Panel^{MD}), les cancers colorectaux (Colorectal Panel^{MD} et Lynch/Colorectal High Risk Panel^{MD}), ainsi que les panels ciblant une gamme de cancers héréditaires (High/Moderate Risk Panel^{MD} et Comprehensive Panel^{MD}). L'objectif de l'étude était de présenter les résultats de fréquence de détection de mutation associée à un cancer héréditaire obtenus à partir des 10 030 premiers échantillons consécutifs envoyés chez GeneDx pour une analyse par SNG à l'aide d'un panel de gènes associés à un syndrome de cancer héréditaire. La liste des gènes inclus dans ces différents panels au moment de l'étude

ainsi que la catégorie de risque de cancer qui leur est attribuée sont fournis dans l'annexe B du présent avis. Les fréquences de détection des mutations en fonction du panel utilisé sont indiquées dans le tableau 6.

Les résultats montrent que la fréquence de détection d'une mutation varie de 3,8 % à 13,7 % et n'est pas tributaire du nombre de gènes analysés. En effet, la fréquence de détection d'une mutation la plus élevée, soit 13,7 % (61/444), a été obtenue par le Lynch/Colorectal High Risk Panel^{MD}, qui comprend 7 gènes, alors qu'une fréquence de 10,2 % (210/2 056) a été obtenue par le Comprehensive Panel^{MD}, qui compte 29 gènes ciblant divers syndromes de cancer héréditaire [Susswein *et al.*, 2015].

Tableau 6 Fréquences de détection de mutations avec les panels de gènes offerts par GeneDx, rapportées dans l'étude de Susswein et ses collaborateurs [2015]

PANEL DE GÈNES ANALYSÉS PAR SNG	GÈNES ANALYSÉS, N	POPULATION, N	PATIENTS AYANT ≥ 1 MUTATIONS, N (%)
Breast Cancer High Risk Panel ^{MD}	6	1 303	50 (3,8 %)
Lynch/Colorectal High Risk Panel ^{MD}	7	444	61 (13,7 %)
Endometrial Panel ^{MD}	11	628	44 (7,0 %)
Pancreatic Panel ^{MD}	16	280	18 (6,4 %)
Colorectal Panel ^{MD}	16	554	61 (11,0 %)
Breast/Ovarian Panel ^{MD}	21	4 525	426 (9,6 %)
High/Moderate Risk Panel ^{MD}	20	256	31 (12,1 %)
Comprehensive Panel ^{MD}	29	2 056	210 (10,2 %)

Abréviations : N : nombre; SNG : séquençage de nouvelle génération

Ces deux études montrent que la fréquence de détection des mutations ne dépend pas du nombre de gènes analysés. Cependant, selon les résultats obtenus par LaDuca et ses collaborateurs [2014], la fréquence de détection d'une mutation dans des gènes associés à un risque de cancer sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient est beaucoup plus élevée lorsqu'un panel de gènes associés à différents syndromes de cancer héréditaires est utilisé.

4.1.4 Fréquence de détection de VSI par différents types de panels de gènes

Un variant de signification inconnue (VSI) (en anglais *variant of unknown significance* ou VUS) est une altération de la séquence normale d'un gène dont la pathogénicité est incertaine, et ce, jusqu'à ce que des études additionnelles de corrélation génotype-phénotype soient menées auprès de populations suffisamment importantes³⁵. Le taux de VSI dépend du nombre de bases analysées ainsi que des données disponibles sur le classement des variants (pathogènes ou bénins) [LaDuca *et al.*, 2014]. Les fréquences de détection de VSI obtenues dans les sept études décrites précédemment sont présentées dans le tableau 7.

³⁵ Définition inspirée et adaptée de celle de GeneReviews^{MD} disponible sur le site du NCBI à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/> (consulté le 10 février 2016).

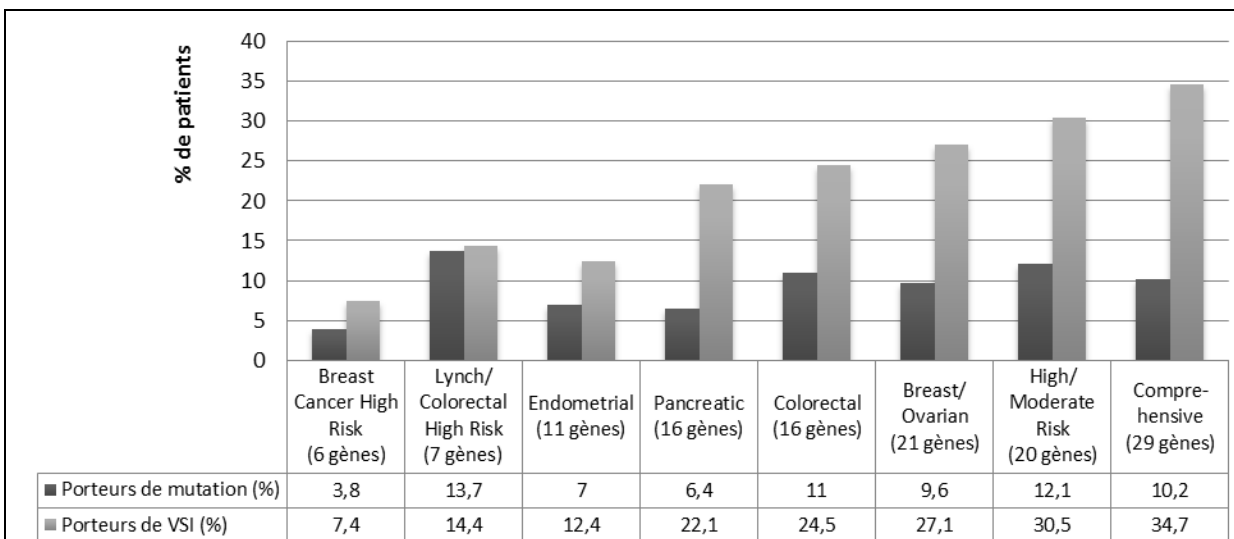
Concernant le panel myRisk^{MD}, la fréquence de détection de VSI varie de 38 % à 41,7 % selon les études [Tung *et al.*, 2015; Yorczyk *et al.*, 2015; Yurgelun *et al.*, 2015]. Ces résultats coïncident avec ceux du panel de 29 gènes d'Invitae, qui a permis de détecter au moins 1 VSI chez 41 % des patients à l'étude [Lincoln *et al.*, 2015]. Le plus faible taux de détection de VSI (7,4 %) a été obtenu avec le panel ciblé comportant le plus petit nombre de gènes, soit le Breast Cancer High Risk Panel^{MD} de GeneDx, qui comprend 6 gènes [Susswein *et al.*, 2015]. À l'opposé, le taux de détection de VSI le plus élevé (88,4 %) a été obtenu avec le panel d'Invitae qui comportait le plus grand nombre de gènes, soit 42 [Kurian *et al.*, 2014]. Ces résultats confirment les tendances voulant que le taux de détection de VSI dépende du nombre de gènes analysés et du degré de connaissance sur les gènes inclus dans l'analyse [Robson *et al.*, 2015]. Cette tendance est d'ailleurs illustrée dans la figure 1, où les fréquences de détection de mutations et de VSI des différents panels offerts par GeneDx sont fournies sous forme de diagramme [Susswein *et al.*, 2015]. On remarque que, contrairement à la fréquence de mutations, la fréquence de détection de VSI tend à augmenter avec le nombre de gènes analysés.

Tableau 7 Fréquences de détection de mutations et de VSI associés à un syndrome de cancer héréditaire obtenues par différents panels de gènes analysés par SNG

PANEL DE GÈNES ANALYSÉS PAR SNG	GÈNES ANALYSÉS, N	CRITÈRES DE SÉLECTION POPULATIONNELLE	POPULATION, N	PATIENTS AYANT ≥1 MUTATIONS, N (%)	PATIENTS AYANT ≥1 VSI, N (%)
Myriad Genetics					
myRisk ^{MD} (Yorczyk <i>et al.</i> , 2015)	25	HBOC, SL	105	7 (6,7 %)	n. d.
myRisk ^{MD} (Yurgelun <i>et al.</i> , 2015)	25	SL, polypose	1 260	156 (12,4 %)	479 (38,0 %)
myRisk ^{MD} (Tung <i>et al.</i> , 2015)	25	Cancer du sein Cancer du sein, <i>BRCA1/2</i> -	1 781 377	241 (13,5 %) 14 (3,7 %)	742 (41,7 %) 157 (41,6 %)
Invitae					
(Lincoln <i>et al.</i> , 2015)	29	HBOC	1 062	234 (22,0 %)	n. d. (41 %)
(Kurian <i>et al.</i> , 2014)	42	HBOC	198	67 (33,8 %)	175 (88,4 %)
Ambry Genetics (LaDuca <i>et al.</i> , 2014)					
BreastNext ^{MD}	14	Cancer du sein	874	65 (7,4 %)	173 (19,8 %)
ColoNext ^{MD}	14	Cancer colorectal	557	51 (9,2 %)	84 (15,1 %)
OvaNext ^{MD}	19	Cancer de l'ovaire	223	16 (7,2 %)	57 (25,6 %)
CancerNext ^{MD}	22	Cancers héréditaires	425	41 (9,6 %)	100 (23,5 %)
GeneDx (Susswein <i>et al.</i> , 2015)					
Breast Cancer High Risk Panel ^{MD}	6	Cancer du sein	1 303	50 (3,8 %)	96 (7,4 %)
Lynch/Colorectal High Risk Panel ^{MD}	7	SL, cancer colorectal	444	61 (13,7 %)	64 (14,4 %)
Endometrial Panel ^{MD}	11	Cancer de l'endomètre	628	44 (7,0 %)	78 (12,4 %)
Pancreatic Panel ^{MD}	16	Cancer du pancréas	280	18 (6,4 %)	62 (22,1 %)
Colorectal Panel ^{MD}	16	Cancer colorectal	554	61 (11,0 %)	136 (24,5 %)
Breast/Ovarian Panel ^{MD}	21	HBOC	4 525	426 (9,6 %)	1 227 (27,1 %)
High/Moderate Risk Panel ^{MD}	20	Cancers héréditaires	256	31 (12,1 %)	78 (30,5 %)
Comprehensive Panel ^{MD}	29	Cancers héréditaires	2 056	210 (10,2 %)	713 (34,7 %)

Abréviations : *BRCA1/2*- : absence de mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*; HBOC : Cancer héréditaire du sein et de l'ovaire (en anglais *Hereditary Breast and Ovarian Cancer*); N : nombre; n. d. : donnée non disponible; SL : syndrome de Lynch

Figure 1 Fréquences de détection de mutations et de VSI associés à un syndrome de cancer héréditaire obtenues par différents panels de gènes offerts par GeneDx³⁶



4.1.5 Comparaison de l'interprétation des VSI

L'étude de Yorczyk et ses collaborateurs [2015] présente la comparaison de l'interprétation des VSI effectuée en parallèle par Myriad Genetics et Ambry Genetics. Des 74 VSI individuels détectés lors de l'étude, Ambry Genetics en a détecté et interprété 32. Plus de la moitié (53 %; 17/32) de ces variants a été classée différemment d'un laboratoire à l'autre. Par exemple, 40,6 % (13/32) des VSI détectés par Myriad Genetics ont plutôt été classés comme étant des polymorphismes et 9,4 % (3/32), comme étant des variants probablement bénins par Ambry Genetics. Un variant du gène *CHEK2* (c.470>T), rapporté comme étant un VSI par Myriad Genetics, a été rapporté comme étant une mutation à pénétrance modérée par Ambry Genetics, en plus d'un commentaire concernant le risque spécifique attribué à la mutation. De plus, 33 des 74 VSI détectés par Myriad Genetics n'étaient pas encore classés par Ambry Genetics au moment de l'étude, tandis que 9 variants introniques n'auraient pas été rapportés par Ambry Genetics. Selon les auteurs, ces résultats montrent le manque de cohérence entre les laboratoires concernant l'interprétation et la classification des VSI et des mutations, principalement ceux détectés dans les gènes à faible pénétrance [Yorczyk *et al.*, 2015].

4.1.6 Comparaison de myRisk^{MD} comme test unique à une approche réflexive en deux étapes

Dans leur étude, Yorczyk et ses collaborateurs [2015] ont proposé une stratégie en deux étapes concernant l'intégration des panels de gènes ciblant un syndrome de cancer héréditaire dans la pratique médicale de routine. Leur algorithme décisionnel implique un test initial relatif aux mutations dans les gènes à pénétrance élevée associées au profil clinique (cancer, syndrome, etc.) du patient, tels que les gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les cas

³⁶ Les données présentées dans ce graphique ont été tirées de l'étude de Susswein et ses collaborateurs [2015]. Les panels ciblant un seul syndrome de cancer héréditaire sont présentés en premier lieu, selon le nombre de gènes analysés, et les panels ciblant une gamme de syndromes de cancer héréditaire sont présentés en dernier, également selon le nombre de gènes analysés.

suspectés de HBOC. À la suite de l'obtention de résultats négatifs, un test réalisé à l'aide d'un panel ciblant une gamme de cancers était offert selon le niveau de risque que présentait le patient et la considération d'autres syndromes de cancers héréditaires. Pour cette seconde étape, dite réflexive, l'admissibilité du patient ayant obtenu un résultat négatif à la première étape était définie selon des critères précis [Mauer *et al.*, 2014], présentés dans l'annexe C. Afin d'évaluer les avantages et les limites d'utiliser d'emblée un panel de gènes ciblant différents types de cancers héréditaires, tel que myRisk^{MD}, par rapport à une approche réflexive, Yorczyk et ses collaborateurs [2015] ont comparé les taux de détection de mutations et de VSI et les coûts moyens des deux approches à l'aide des données de 105 patients soumis au test myRisk^{MD}. Les mêmes données ont par la suite été appliquées à l'approche réflexive. Le tableau 8 présente les principaux résultats concernant la détection des variants. La comparaison des coûts est présentée dans la section 5 (impacts budgétaires) du présent avis.

Les résultats montrent que l'utilisation du panel myRisk^{MD} comme test unique est associée à un taux de détection de mutations plus élevé (6,7 %; 7/105), comparativement à l'approche réflexive (3,8 %; 4/105), mais aussi à un plus grand nombre de VSI détectés (0,94 contre 0,23 en moyenne par patient, respectivement). Des 7 mutations détectées par le panel myRisk^{MD}, seules les 4 mutations détectées dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* l'ont été à la première étape de l'approche réflexive. Les 3 autres patients ne satisfaisaient pas aux critères de Mauer et ses collaborateurs [2014] d'admissibilité à un test complémentaire par panel de gènes. L'approche réflexive n'a donc pas permis la détection des mutations dans les gènes *EPCAM* et *APC*, qui sont des gènes associés à un risque élevé de cancer colorectal, ainsi que celle dans le gène *CHEK2*, où la mutation est associée à un risque de cancer du sein [Yorczyk *et al.*, 2015].

Tableau 8 Mutations et VSI détectés par le panel myRisk^{MD} comme test unique, comparativement à une approche réflexive, selon l'étude de Yorczyk et ses collaborateurs [2015]

TEST		POPULATION, DIAGNOSTIC	PATIENTS AYANT ≥1 MUTATIONS, N (%)	MUTATIONS DÉTECTÉES PAR GÈNE, N (%)				VSI DÉTECTÉS, N (MOYENNE DE VSI PAR PATIENT)
				GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE ÉLEVÉ			GÈNES ASSOCIÉS À UN RISQUE MODÉRÉ OU INCERTAIN	
				HBOC	SYNDROME DE LYNCH	AUTRES SYNDROMES		
Myriad, myRisk ^{MD}		N = 105 HBOC ou SL	7 (6,7 %)	BRCA1 : 2 (28,6 %) BRCA2 : 2 (28,6 %) Total : 4 (57,1 %)	EPCAM : 1 (14,3 %) Total : 1 (14,3 %)	APC : 1 (14,3 %) Total : 1 (14,3 %)	CHEK2 : 1 (14,3 %) Total : 1 (14,3 %)	99 (0,94)
Approche réflexive	Étape 1 BRCA1 et BRCA2	N = 105 HBOC ou SL	4 (3,8 %)	BRCA1 : 2 (50,0 %) BRCA2 : 2 (50,0 %) Total : 4 (100 %)	s. o.	s. o.	s. o.	3 (0,03)
	Étape 2 Myriad, myRisk ^{MD}	N = 32 Patients ayant obtenu un résultat négatif à l'étape 1, répondant aux critères de Mauer [2014] pour être admissibles à un test par panel de gènes (voir l'annexe C)	0	s. o.	Total : 0 (s. o.)	Total : 0 (s. o.)	Total : 0 (s. o.)	21 (0,66)

Abréviations : HBOC : Cancer héréditaire du sein et de l'ovaire (en Anglais *Hereditary Breast and Ovarian Cancer*); N : nombre; SL : syndrome de Lynch; s. o. : sans objet; VSI : variant de signification inconnue

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude concernant la valeur pronostique n'a été retenue, parce que le résultat obtenu par une analyse à l'aide d'un panel de gènes comporte une valeur pronostique individuelle et propre à chaque patient soumis au test, en fonction de ses antécédents médicaux, personnels et familiaux, ainsi qu'en fonction du gène qui présente une mutation.

4.3 Valeur thérapeutique

De même, le résultat obtenu par une analyse réalisée à l'aide d'un panel de gènes comporte une valeur thérapeutique individuelle et propre à chaque patient soumis au test. Néanmoins, les sous-sections suivantes présentent certaines particularités concernant les choix thérapeutiques associés à la détection de mutations en fonction du gène touché, du risque de cancer qui y est associé et de la corrélation avec les antécédents médicaux du patient.

4.3.1 Choix thérapeutiques associés à la détection d'une mutation dans un gène associé à un risque élevé, selon ce que laissent suspecter les antécédents médicaux du patient

Des recommandations claires visent la prise en charge des patients qui présentent une mutation dans un gène à pénétrance élevée et associée à une augmentation du risque qui est établie concernant un type spécifique de cancer. Ces recommandations, publiées par des groupes d'experts reconnus dans les domaines de l'oncologie et de la génétique clinique, doivent être appliquées lorsqu'une mutation clairement délétère, selon ce que laissent supposer les antécédents médicaux du patient, est détectée. Ces mutations, qui sont visées par des recommandations, sont dites « actionnables ». Par exemple, dans son guide intitulé *National Comprehensive Cancer Network Guidelines*, le NCCN recommande une prise en charge fondée sur des données probantes (*Evidence-Based Cancer Guidelines*)³⁷. Entre autres, des guides de pratiques sur la détection, la prévention et la réduction du risque de cancer sont publiés et mis à jour régulièrement par le NCCN. Par exemple, concernant le syndrome du HBOC, le NCCN recommande :

- de discuter de la possibilité d'une mastectomie préventive chez les femmes qui présentent une mutation connue dans les gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *PTEN*, *TP53* et *PALB2* (le gène *PALB2* a été ajouté à la version 1.2016 des recommandations);
- de considérer une salpingo-oophorectomie chez les femmes qui présentent une mutation dans les gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D* ainsi que dans les gènes associés au syndrome de Lynch (les gènes *BRIP1*, *RAD51C* et *RAD51D* ont été ajoutés à la version 1.2016 des recommandations) [NCCN, 2016; 2015b].

³⁷ Recommandations et guides de pratiques disponibles sur le site Web du NCCN à : <https://www.nccn.org/>.

4.3.2 Choix thérapeutiques en cas de détection d'une mutation dans un gène associé à un risque élevé de syndrome de cancer héréditaire, sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient

Certaines mutations dans des gènes à pénétrance élevée sont visées par des recommandations claires, mais qui impliquent des techniques invasives, pour prévenir un type de cancer donné. Ainsi, la détection accidentelle d'une mutation actionnable dans un gène, sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient, constitue un danger potentiel d'intervention médicale injustifiée. Par exemple, dans l'étude de Kurian et ses collaborateurs [2014], une patiente sans antécédents médicaux, personnels ou familiaux de cancer gastrique, mais ayant des antécédents familiaux de cancers du sein, de l'ovaire et du côlon, présentait une mutation dans le gène *CDH1* non documentée chez les patients atteints de cancer gastrique héréditaire. Le NCCN recommande la gastrectomie prophylactique entre l'âge de 18 ans et 40 ans chez les patients qui présentent une mutation dans le gène *CDH1* [NCCN, 2015c]. Les auteurs ont plutôt proposé une surveillance médicale accrue, considérant l'absence de corrélation entre le gène muté et les antécédents médicaux de la patiente et le fait que cette mutation n'était pas documentée chez les familles atteintes de cancer gastrique diffus héréditaire [Kurian *et al.*, 2014].

4.3.3 Choix thérapeutiques dans les cas de mutation dans un gène associé à un risque modéré ou incertain de syndrome de cancer héréditaire

Certaines mutations dans des gènes associés à un risque modéré ou incertain de syndrome de cancer héréditaire ne sont visées par aucune recommandation claire et posent un défi de taille concernant la prise en charge des patients qui les présentent. Selon Kurian et ses collaborateurs [2014], une composante subjective est inévitable dans l'interprétation des variants qui ne sont pas visés par des recommandations précises relativement à un type de cancer donné. Par exemple, les auteurs mentionnent l'absence de données sur le rapport risque-bénéfice de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) dans le dépistage du cancer du sein chez les patientes qui présentent des variants pathogènes dans un gène à pénétrance modérée, tels que *ATM* et *BLM*. Les auteurs soulignent également que, compte tenu de l'incertitude qui subsiste concernant la pénétrance de ces variants, leur contribution au calcul du risque ne peut pas être estimée précisément. Par conséquent, les modalités optimales de dépistage et l'âge auquel il serait recommandé d'amorcer le protocole restent inconnus [Kurian *et al.*, 2014].

4.3.4 Choix thérapeutiques dans les cas de détection de VSI

Comme il a été mentionné précédemment, les VSI sont des modifications de la séquence génétique qui peuvent ou non affecter la fonction de la protéine. Certains VSI, particulièrement ceux détectés dans des gènes où leur présence est associée à un cancer en corrélation avec les antécédents médicaux du patient, pourraient être considérés comme étant la cause de la maladie par le clinicien et inciter celui-ci à modifier sa prise en charge du patient. Cependant, selon l'ASCO (American Society of Clinical Oncology), il est généralement inapproprié de modifier la prise en charge clinique d'un patient après avoir détecté un VSI et de suivre alors des recommandations qui devraient être réservées aux personnes qui présentent une mutation dont le caractère délétère est clairement établi [Robson *et al.*, 2015].

4.4 Validité analytique

4.4.1 Sensibilité et spécificité

Les résultats concernant la validité analytique du panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics ont été présentés dans une étude menée par Judkins et ses collaborateurs [2015]. Cette étude comporte une évaluation technique initiale au cours de laquelle les données de SNG des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, obtenues à partir de 1 864 échantillons anonymes d'ADN, ont été comparées avec celles obtenues par séquençage de Sanger. Les principaux résultats de cette évaluation sont présentés dans le tableau 9.

Le SNG des gènes *BRCA1* et *BRCA2* est associé à une sensibilité analytique supérieure à 99,96 % ainsi qu'à une spécificité analytique supérieure à 99,99 %. Un seul polymorphisme détecté par séquençage de Sanger (*BRCA2* c.7806-14C>T) n'a pas été détecté par SNG. Ce polymorphisme se trouvait dans un échantillon d'ADN comportant une rare délétion intronique de 3 bases, localisée au site de liaison de l'amorce, causant la non-amplification de l'allèle lors de l'étape d'enrichissement des amplicons d'intérêt par PCR. La sensibilité de l'analyse relativement au risque d'absence d'amplification d'allèle (en anglais *allele drop-out* ou ADO) a été améliorée par le dosage individuel des différents amplicons [Judkins *et al.*, 2015].

Tableau 9 Données de l'évaluation technique initiale concernant les gènes *BRCA1* et *BRCA2*

GÈNES <i>BRCA1</i> ET <i>BRCA2</i>	SÉQUENÇAGE DE SANGER, N	SNG, N
Échantillons d'ADN analysés	1 864	1 864
Variants détectés :	15 878	15 877
▪ substitution de base	15 577	15 576
▪ réarrangements (délétion, duplication ou insertion)	301	301

Abréviations : N : nombre; SNG : séquençage de nouvelle génération

La validité analytique des 25 gènes du panel a ensuite été évaluée en utilisant, en parallèle, les données de SNG et de séquençage de Sanger obtenues à partir de 100 échantillons anonymes d'ADN. Les résultats de séquençage des 3 923 variants détectés à partir de ces 100 échantillons ont montré une concordance de 100 %.

La détection des réarrangements a été validée à l'aide de 212 échantillons anonymes additionnels d'ADN contenant des réarrangements connus. L'analyse des délétions et des duplications de 23 des 25 gènes du panel effectuée par hybridation génomique comparative a permis de détecter les 51 réarrangements connus. De plus, l'analyse mutationnelle des gènes *PMS2* et *CHEK2*, compliquée par la présence de pseudogènes, a été validée par la méthode MLPA à partir de 110 échantillons d'ADN anonymes de génotypes connus. La MLPA a permis de confirmer la présence des 5 réarrangements larges suspectés. Les principaux résultats de validité analytique du panel de 25 gènes sont présentés dans le tableau 10. Selon ces résultats, la sensibilité analytique du SNG a été estimée à plus de 99,92 % et la spécificité, à plus de 99,99 % [Judkins *et al.*, 2015].

Tableau 10 Données de validité analytique du panel myRisk^{MD}

25 GÈNES	SÉQUENÇAGE DE SANGER, N	SNG, N
Échantillons d'ADN analysés	100	100
Amplicons (par échantillon)	370	1 969
Bases analysées (par échantillon)	88 631	88 631
Variants détectés : ▪ substitution de base ▪ réarrangements : - insertions - délétions - insertions et délétions	3 923 3 884 39 4 34 1	3 923 3 884 39 4 34 1
Total des bases négatives	8 859 177	8 859 177

Abréviations : N : nombre; SNG : séquençage de nouvelle génération

Parmi les limites rapportées par Judkins et ses collaborateurs [2015], on mentionne le fait que l'étude ait été réalisée exclusivement sur des échantillons sanguins alors qu'il est également possible de réaliser le test à partir d'échantillons de salive. Toutefois, selon les données de validation additionnelles publiées dans le document intitulé *Myriad myRiskTM Hereditary Cancer Technical Specifications*, une concordance de 100 % a été obtenue relativement à 9 303 variants de génotypes établis à l'aide des méthodes de référence concernant 238 échantillons d'ADN obtenus à partir d'un échantillon de sang ou de salive. D'après ces données complémentaires, la sensibilité analytique du SNG effectué à l'aide du panel myRisk^{MD} est de 100 % (IC à 95 %; 99,96 % à 100 %) et la spécificité, de 100 % (IC à 95 %; 99,99 % à 100 %)³⁸.

4.4.2 Reproductibilité

Le même document fait mention de deux expériences visant à évaluer la reproductibilité de la méthode. La première étude a été effectuée à partir de 4 échantillons anonymes d'ADN dans lesquels la présence de 199 variants a été détectée par SNG, puis confirmée par séquençage de Sanger. La seconde étude visait à évaluer la concordance ainsi que la reproductibilité des résultats en fonction du type d'échantillon fourni (sang ou salive). Cette étude a été effectuée à partir d'échantillons d'ADN provenant de 4 donneurs volontaires ayant fourni à la fois un échantillon de sang et un échantillon de salive. Dans les 2 études, chacun des 4 échantillons a été analysé en triple par SNG dans 3 séries d'analyses différentes. Une précision interessai et intraessai de 100 % a été obtenue.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

Dans l'étude de Yorczyk et ses collaborateurs [2015], dont il a été question dans la section 4 du présent avis, l'estimation des coûts associés à l'utilisation de panels de gènes associée à un syndrome de cancer héréditaire a été comparée à celle de l'approche réflexive suggérée par les auteurs. En utilisant le prix moyen des panels

³⁸ Information tirée de *Myriad myRiskTM Hereditary Cancer Technical Specifications*. Effective: 18 February 2016, disponible à : <https://s3.amazonaws.com/myriad-library/technical-specifications/myRisk+Hereditary+Cancer+Tech+Specs.pdf>.

offerts par divers laboratoires au moment de l'étude, le coût du panel de gènes a été estimé à 4 099 \$ US par personne, soit un total de 430 425 \$ US pour l'ensemble des 105 patients testés. D'autre part, le coût d'une approche réflexive en 2 étapes a été estimé à 3 392 \$ US par personne, soit un total de 356 244 \$ US. Ce dernier chiffre inclut le coût évité d'un test par panel de gènes chez les patients qui ont obtenu un résultat positif lors de la première étape (séquençage des gènes *BRCA1* et *BRCA2*). Selon les calculs présentés, le coût d'un test par panel de gènes serait 21 % plus élevé que celui de l'approche en deux étapes, pour une augmentation du taux de détection de 2,9 %. Concrètement, un test par panel de gènes coûterait 707 \$ US de plus par personne, soit 74 235 \$ US au total [Yorczyk *et al.*, 2015].

Cependant, le coût unitaire des tests par panels de gènes a grandement diminué en raison de la réduction des coûts de séquençage et de l'augmentation de l'offre pour ce type d'analyse. Le tableau 11 présente quelques exemples de prix de tests par panels de gènes offerts par différents laboratoires.

Tableau 11 Coût d'un test par panel de gènes analysés par SNG selon les différents fournisseurs

FOURNISSEUR	TEST	NOMBRE DE GÈNES	COÛT*
Myriad Genetics	myRisk ^{MD}	25	4 040 \$ US
Invitae	Multi-Cancer Panel ^{MD}	79	1 500 \$ US
GeneDx	Comprehensive Cancer Panel ^{MD}	32	1 500 \$ US
Ambry Genetics	CancerNext ^{MD}	32	4 250 \$ US
	CancerNext-Expanded ^{MD}	49	4 490 \$ US

* Prix obtenus auprès des fournisseurs

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Certains exemples de cas cliniques présentés dans la section 4.3 illustrent bien les enjeux que peut poser l'analyse simultanée de multiples gènes associés à différents syndromes de cancer héréditaire. Premièrement, la découverte d'une mutation associée à un risque élevé de cancer suggéré par les antécédents médicaux du patient soulève la problématique d'accès aux examens de surveillance médicale. À l'inverse, il existe un risque inhérent d'interventions excessives à la suite de la détection fortuite d'une mutation associée à un risque élevé de cancer, sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient [Kurian *et al.*, 2014]. Ce genre de situation pose des défis éthiques et juridiques et exige l'instauration de politiques concernant la nécessité de rapporter ces découvertes fortuites et la prise en charge de ces patients. De plus, la détection de mutations dans des gènes associés à un risque modéré ou incertain de cancer constitue un défi à la prise en charge clinique des patients, compte tenu de l'absence de recommandations relativement à plusieurs de ces gènes. L'augmentation du nombre de gènes analysés fait également augmenter les probabilités de détecter des VSI, qui sont des résultats souvent non informatifs, mais qui peuvent s'avérer anxiogènes pour le patient [Yurgelun *et al.*, 2015]. Pour ces raisons, les tests comportant l'analyse de multiples gènes sont idéalement accompagnés d'un conseil génétique pré-analyse et post-analyse délivré par des professionnels agréés. Le conseil génétique permet d'informer le patient sur

les différents types de résultats possibles et ainsi d'obtenir son consentement éclairé. Entre autres, le patient devrait être informé sur les implications d'un résultat positif, négatif ou incertain, sur les mutations attendues, y compris le niveau de risque de cancer qui y est attribué et la façon dont celles-ci peuvent influencer ou non la prise en charge médicale, sur les risques pour les enfants ou les autres membres de la famille, sur la transmission possible aux générations futures et sur les possibles implications psychologiques [NCCN, 2016; Robson *et al.*, 2015].

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

Selon l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO), les données probantes actuelles concernant l'utilité clinique de la détection de mutations dans des gènes à pénétrance modérée sont insuffisantes. Aussi, l'ASCO reconnaît la possibilité d'une intervention médicale inappropriée et d'un stress psychologique chez le patient à la suite de la découverte accidentelle d'une mutation dans un gène, sans corrélation avec ses antécédents médicaux, ou d'une prise en charge excessive d'un patient qui présente une mutation à pénétrance modérée ou d'un variant dont la signification clinique n'est pas établie par des données probantes. Pour ces raisons, l'ASCO recommande l'analyse des gènes dont l'utilité clinique est établie et lorsqu'ils sont associés à un syndrome ayant une corrélation avec les antécédents médicaux, personnels ou familiaux, du patient [Robson *et al.*, 2015].

Le *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) reconnaît que l'approche par panel de gènes peut constituer une option plus efficace et plus rentable, principalement dans les cas où un même syndrome de cancer héréditaire, par exemple le syndrome de Lynch, peut être causé par la mutation de différents gènes. Cependant, le NCCN assure que les patients dont les antécédents médicaux ne sont associés qu'à un seul syndrome de cancer héréditaire profiteront d'une meilleure prise en charge à la suite d'un test génétique ciblant spécifiquement le syndrome que le phénotype laisse suspecter. Selon le NCCN, bien souvent, l'information découlant de l'analyse de gènes à pénétrance modérée ne change pas le risque et la prise en charge du patient par rapport à celle établie uniquement à partir des antécédents familiaux [NCCN, 2016].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

8.1 Résumé du contexte

Le panel de gènes myRisk^{MD}, offert par Myriad Genetics, consiste en l'analyse de 25 gènes ciblant divers syndromes de cancer héréditaire, sans égard au profil clinique du patient. Selon Myriad Genetics, l'approche myRisk^{MD} permettrait aux cliniciens de considérer une plus grande gamme de gènes et de phénotypes, de manière plus rapide et plus économique qu'une analyse de gènes de façon individuelle ou de plusieurs gènes ciblant un seul syndrome héréditaire.

8.2 Résumé des données probantes

Selon les études retenues, le test myRisk^{MD} aurait permis de détecter des mutations dans des gènes associés à un risque élevé de cancer ayant une corrélation avec les antécédents médicaux chez 3,8 % à 10,2 % des patients soumis au test. La détection de ces mutations, visées par des recommandations précises, permet d'adapter la prise en charge clinique du patient. Comparativement à l'utilisation de certains panels plus restreints, ciblant un seul syndrome de cancer héréditaire, myRisk^{MD} permet également la détection de mutations dans des gènes associés à un risque élevé de cancer, sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient (jusqu'à 1,9 % des patients soumis au test), ainsi que dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer (jusqu'à 3,7 % des patients soumis au test). Ainsi, l'augmentation du nombre de mutations détectées par l'utilisation d'un panel de gènes ciblant une gamme de syndromes de cancer héréditaire concerne principalement des gènes où la mutation est associée à un syndrome sans corrélation avec le profil clinique du patient, des gènes à pénétrance modérée ou incertaine, ou des mutations dont la détection n'a aucune incidence sur la prise en charge du patient.

D'après des études comparant différents panels de gènes ciblant un seul ou plusieurs syndromes de cancer héréditaire, le taux de détection de mutations serait tributaire de la population à l'étude, du risque spécifique de cancer de celle-ci et des gènes analysés. La fréquence de détection de mutations associées à des cancers sans corrélation avec les antécédents médicaux du patient est plus élevée lorsqu'un panel comportant des gènes associés à divers types de cancers héréditaires est utilisé. La fréquence de détection de VSI augmente avec le nombre de gènes analysés, allant de 7,4 % avec un panel de 6 gènes ciblant spécifiquement le cancer du sein, jusqu'à 88 % avec un panel de 42 gènes ciblant différents types de cancers héréditaires. Quant au panel myRisk^{MD}, il permettrait de détecter des VSI chez environ 40 % des patients soumis au test.

Selon les données de validation consultées, les résultats obtenus à l'aide du panel myRisk^{MD} de Myriad Genetics sont précis et reproductibles. La sensibilité analytique a été établie à plus de 99,96 % et la spécificité est égale ou supérieure à 99,99 %.

8.3 Impacts budgétaires et autres enjeux

Selon une étude indépendante publiée en 2014, le coût du panel myRisk^{MD} serait 21 % plus élevé que celui d'une approche réflexive, pour une augmentation du taux de détection de 2,9 %. Concrètement, le recours à un tel panel coûterait 707 \$ US de plus par patient. Cependant, le coût unitaire de ces tests a grandement diminué en raison de la réduction des coûts de séquençage ainsi que de l'augmentation de l'offre de ce type d'analyse.

L'analyse simultanée de multiples gènes où une mutation est associée à différents types de cancer héréditaire soulève des questions concernant l'accès aux examens de surveillance médicale des patients qui présentent une mutation délétère, le risque d'interventions excessives à la suite de découvertes fortuites, l'absence de recommandations visant la présence de mutation dans certains gènes et l'augmentation du nombre de VSI détectés.

8.4 Position d'autres organisations

L'ASCO recommande l'analyse des gènes dont l'utilité clinique est établie et ayant une corrélation avec les antécédents médicaux du patient. De même, le NCCN recommande les tests ciblant spécifiquement le syndrome que laisse suspecter le phénotype du patient.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Myriad myRisk^{MD} – panel de 25 gènes associés aux cancers héréditaires analysés par séquençage de nouvelle génération

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ La validation analytique présentée est complète et très détaillée.
- ✓ Toutefois, l'analyse comporte plusieurs éléments qui préoccupent le comité :
 - Les données concernant la pénétrance de certains gènes analysés à l'aide du panel sont actuellement incomplètes.
 - L'analyse simultanée de multiples gènes associés à différents types de cancers héréditaires soulève des problématiques d'accès aux examens de surveillance médicale pour les porteurs de mutations délétères, du risque d'interventions invasives à la suite de la découverte fortuite de mutations, l'absence de recommandations visant une mutation dans certains gènes ainsi que l'augmentation du nombre de variants de signification inconnue (VSI).
 - Plusieurs questions demeurent concernant la prise en charge des patients qui présentent certaines mutations dans des gènes où la mutation est associée à un risque modéré ou incertain de cancer.
 - L'ASCO recommande l'analyse des gènes dont l'utilité clinique est établie lorsqu'une mutation qui y est détectée est associée à un syndrome de cancer héréditaire ayant une corrélation avec les antécédents médicaux du patient. De même, le NCCN recommande les tests multigéniques ciblant spécifiquement le syndrome suspecté par le phénotype du patient.

BIBLIOGRAPHIE

- Al-Sukhni W, Aronson M, Gallinger S. Hereditary colorectal cancer syndromes: Familial adenomatous polyposis and lynch syndrome. *Surg Clin North Am* 2008;88(4):819-44, vii.
- Aloraifi F, McCartan D, McDevitt T, Green AJ, Bracken A, Geraghty J. Protein-truncating variants in moderate-risk breast cancer susceptibility genes: A meta-analysis of high-risk case-control screening studies. *Cancer Genet* 2015;208(9):455-63.
- Antoniou A, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkas K, Roberts J, et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med* 2014;371(6):497-506.
- Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 2003;72(5):1117-30.
- Baglietto L, Lindor NM, Dowty JG, White DM, Wagner A, Gomez Garcia EB, et al. Risks of Lynch syndrome cancers for MSH6 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(3):193-201.
- Begg CB, Orlow I, Hummer AJ, Armstrong BK, Kricker A, Marrett LD, et al. Lifetime risk of melanoma in CDKN2A mutation carriers in a population-based sample. *J Natl Cancer Inst* 2005;97(20):1507-15.
- Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Aretz S, et al. Peutz-Jeghers syndrome: A systematic review and recommendations for management. *Gut* 2010;59(7):975-86.
- Bishop DT, Demenais F, Goldstein AM, Bergman W, Bishop JN, Bressac-de Paillerets B, et al. Geographical variation in the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(12):894-903.
- Bonadona V, Bonaiti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, et al. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA* 2011;305(22):2304-10.
- Brosens LA, Offerhaus GJ, Giardiello FM. Hereditary colorectal cancer: Genetics and screening. *Surg Clin North Am* 2015;95(5):1067-80.
- Bubien V, Bonnet F, Brouste V, Hoppe S, Barouk-Simonet E, David A, et al. High cumulative risks of cancer in patients with PTEN hamartoma tumour syndrome. *J Med Genet* 2013;50(4):255-63.
- Buisson R et Masson JY. Fonction des suppresseurs de tumeur PALB2 et BRCA2 dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN. *Med Sci (Paris)* 2013;29(3):301-7.
- Chaudru V, Chompret A, Bressac-de Paillerets B, Spatz A, Avril MF, Demenais F. Influence of genes, nevi, and sun sensitivity on melanoma risk in a family sample unselected by family history and in melanoma-prone families. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(10):785-95.

- Chen S et Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol* 2007;25(11):1329-33.
- Chompret A, Brugieres L, Ronsin M, Gardes M, Dessarps-Freichay F, Abel A, et al. P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals. *Br J Cancer* 2000;82(12):1932-7.
- Cust AE, Harland M, Makalic E, Schmidt D, Dowty JG, Aitken JF, et al. Melanoma risk for CDKN2A mutation carriers who are relatives of population-based case carriers in Australia and the UK. *J Med Genet* 2011;48(4):266-72.
- Cybulski C, Gorski B, Debniak T, Gliniewicz B, Mierzejewski M, Masojc B, et al. NBS1 is a prostate cancer susceptibility gene. *Cancer Res* 2004;64(4):1215-9.
- Dowty JG, Win AK, Buchanan DD, Lindor NM, Macrae FA, Clendenning M, et al. Cancer risks for MLH1 and MSH2 mutation carriers. *Hum Mutat* 2013;34(3):490-7.
- Filippini SE et Vega A. Breast cancer genes: Beyond BRCA1 and BRCA2. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2013;18:1358-72.
- Fu R, Harris EL, Helfand M, Nelson HD. Estimating risk of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations: A meta-analytic approach. *Stat Med* 2007;26(8):1775-87.
- Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, Goodman SN, Petersen GM, Booker SV, et al. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology* 2000;119(6):1447-53.
- Goldgar DE, Healey S, Dowty JG, Da Silva L, Chen X, Spurdle AB, et al. Rare variants in the ATM gene and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011;13(4):R73.
- Goldstein AM, Chan M, Harland M, Gillanders EM, Hayward NK, Avril MF, et al. High-risk melanoma susceptibility genes and pancreatic cancer, neural system tumors, and uveal melanoma across GenoMEL. *Cancer Res* 2006;66(20):9818-28.
- Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, Gu D, Wen-Fong CY, Nguyen VQ, et al. Beyond Li Fraumeni Syndrome: Clinical characteristics of families with p53 germline mutations. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1250-6.
- Grover S, Kastrinos F, Steyerberg EW, Cook EF, Dewanwala A, Burbidge LA, et al. Prevalence and phenotypes of APC and MUTYH mutations in patients with multiple colorectal adenomas. *JAMA* 2012;308(5):485-92.
- Hansford S, Kaurah P, Li-Chang H, Woo M, Senz J, Pinheiro H, et al. Hereditary diffuse gastric cancer syndrome: CDH1 mutations and beyond. *JAMA Oncol* 2015;1(1):23-32.
- Hayward NK. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene* 2003;22(20):3053-62.
- Hearle N, Schumacher V, Menko FH, Olschwang S, Boardman LA, Gille JJ, et al. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome. *Clin Cancer Res* 2006;12(10):3209-15.

- Hegde M, Ferber M, Mao R, Samowitz W, Ganguly A. ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Genet Med* 2014;16(1):101-16.
- Hendriks YM, Wagner A, Morreau H, Menko F, Stormorken A, Quehenberger F, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: Impact on counseling and surveillance. *Gastroenterology* 2004;127(1):17-25.
- Hill VK, Gartner JJ, Samuels Y, Goldstein AM. The genetics of melanoma: Recent advances. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2013;14:257-79.
- Hisada M, Garber JE, Fung CY, Fraumeni JF Jr, Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Cancer Inst* 1998;90(8):606-11.
- Jelsig AM, Qvist N, Brusgaard K, Nielsen CB, Hansen TP, Ousager LB. Hamartomatous polyposis syndromes: A review. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:101.
- Judkins T, Leclair B, Bowles K, Gutin N, Trost J, McCulloch J, et al. Development and analytical validation of a 25-gene next generation sequencing panel that includes the BRCA1 and BRCA2 genes to assess hereditary cancer risk. *BMC Cancer* 2015;15:215.
- Kempers MJ, Kuiper RP, Ockeloen CW, Chappuis PO, Hutter P, Rahner N, et al. Risk of colorectal and endometrial cancers in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: A cohort study. *Lancet Oncol* 2011;12(1):49-55.
- Korsse SE, Harinck F, van Lier MG, Biermann K, Offerhaus GJ, Krak N, et al. Pancreatic cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome patients: A large cohort study and implications for surveillance. *J Med Genet* 2013;50(1):59-64.
- Kote-Jarai Z, Leongamornlert D, Saunders E, Tymrakiewicz M, Castro E, Mahmud N, et al. BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: Implications for genetic testing in prostate cancer patients. *Br J Cancer* 2011;105(8):1230-4.
- Kurian AW, Hare EE, Mills MA, Kingham KE, McPherson L, Whittemore AS, et al. Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment. *J Clin Oncol* 2014;32(19):2001-9.
- LaDuca H, Stuenkel AJ, Dolinsky JS, Keiles S, Tandy S, Pesaran T, et al. Utilization of multigene panels in hereditary cancer predisposition testing: Analysis of more than 2,000 patients. *Genet Med* 2014;16(11):830-7.
- Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, et al. Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *Br J Cancer* 2012;106(10):1697-701.
- Li FP, Fraumeni JF Jr, Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, Miller RW. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res* 1988;48(18):5358-62.

- Li J, Meeks H, Feng BJ, Healey S, Thorne H, Makunin I, et al. Targeted massively parallel sequencing of a panel of putative breast cancer susceptibility genes in a large cohort of multiple-case breast and ovarian cancer families. *J Med Genet* 2016;53(1):34-42.
- Lincoln SE, Kobayashi Y, Anderson MJ, Yang S, Desmond AJ, Mills MA, et al. A systematic comparison of traditional and multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer genes in more than 1000 patients. *J Mol Diagn* 2015;17(5):533-44.
- Loveday C, Turnbull C, Ruark E, Xicola RM, Ramsay E, Hughes D, et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet* 2012;44(5):475-6; author reply 476.
- Lubbe SJ, Di Bernardo MC, Chandler IP, Houlston RS. Clinical implications of the colorectal cancer risk associated with MUTYH mutation. *J Clin Oncol* 2009;27(24):3975-80.
- Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the Lynch syndrome: History, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet* 2009;76(1):1-18.
- Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z, et al. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet* 1998;7(3):507-15.
- Mauer CB, Pirzadeh-Miller SM, Robinson LD, Euhus DM. The integration of next-generation sequencing panels in the clinical cancer genetics practice: An institutional experience. *Genet Med* 2014;16(5):407-12.
- McWilliams RR, Wieben ED, Rabe KG, Pedersen KS, Wu Y, Sicotte H, Petersen GM. Prevalence of CDKN2A mutations in pancreatic cancer patients: Implications for genetic counseling. *Eur J Hum Genet* 2011;19(4):472-8.
- Mehenni H, Resta N, Park JG, Miyaki M, Guanti G, Costanza MC. Cancer risks in LKB1 germline mutation carriers. *Gut* 2006;55(7):984-90.
- Mocci E, Milne RL, Mendez-Villamil EY, Hopper JL, John EM, Andrulis IL, et al. Risk of pancreatic cancer in breast cancer families from the breast cancer family registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(5):803-11.
- Myriad Genetics. Myriad myRisk™ Clinical Handbook. Salt Lake City, UT : Myriad Genetics Inc.; 2014. Disponible à : <https://myriad-web.s3.amazonaws.com/myRisk/myRisk-Clinical-Handbook-web.pdf> (consulté le 14 janvier 2016).
- Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene* 2004;23(38):6445-70.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Genetic/familial high-risk assessment: Breast and ovarian. Version 1.2016. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016. Disponible à : <http://www.nccn.org>.

- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Genetic/familial high-risk assessment: Colorectal. Version 2.2015. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2015a. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Genetic/familial high-risk assessment: Breast and ovarian. Version 2.2015. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2015b. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Gastric cancer. Version 3.2015. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2015c. Disponible à : <http://www.nccn.org>.
- Nielsen M, Hes FJ, Nagengast FM, Weiss MM, Mathus-Vliegen EM, Morreau H, et al. Germline mutations in APC and MUTYH are responsible for the majority of families with attenuated familial adenomatous polyposis. *Clin Genet* 2007;71(5):427-33.
- Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. E-cadherin alterations in hereditary disorders with emphasis on hereditary diffuse gastric cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013;116:337-59.
- Paul A et Paul S. The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2014;19:605-18.
- Pelttari LM, Kiiski J, Nurminen R, Kallioniemi A, Schleutker J, Gylfe A, et al. A Finnish founder mutation in RAD51D: Analysis in breast, ovarian, prostate, and colorectal cancer. *J Med Genet* 2012;49(7):429-32.
- Pelttari LM, Heikkinen T, Thompson D, Kallioniemi A, Schleutker J, Holli K, et al. RAD51C is a susceptibility gene for ovarian cancer. *Hum Mol Genet* 2011;20(16):3278-88.
- Ramsoekh D, Wagner A, van Leerdam ME, Dooijes D, Tops CM, Steyerberg EW, Kuipers EJ. Cancer risk in MLH1, MSH2 and MSH6 mutation carriers; different risk profiles may influence clinical management. *Hered Cancer Clin Pract* 2009;7(1):17.
- Ramus SJ, Song H, Dicks E, Tyrer JP, Rosenthal AN, Intermaggio MP, et al. Germline mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015;107(11):djv214.
- Ratajska M, Antoszewska E, Piskorz A, Brozek I, Borg A, Kusmirek H, et al. Cancer predisposing BARD1 mutations in breast-ovarian cancer families. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131(1):89-97.
- Resta N, Pierannunzio D, Lenato GM, Stella A, Capocaccia R, Bagnulo R, et al. Cancer risk associated with STK11/LKB1 germline mutations in Peutz-Jeghers syndrome patients: Results of an Italian multicenter study. *Dig Liver Dis* 2013;45(7):606-11.
- Riegert-Johnson DL, Gleeson FC, Roberts M, Tholen K, Youngborg L, Bullock M, Boardman LA. Cancer and Lhermitte-Duclos disease are common in Cowden syndrome patients. *Hered Cancer Clin Pract* 2010;8(1):6.

- Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American Society of Clinical Oncology Policy statement update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2015;33(31):3660-7.
- Senter L, Clendenning M, Sotamaa K, Hampel H, Green J, Potter JD, et al. The clinical phenotype of Lynch syndrome due to germ-line PMS2 mutations. *Gastroenterology* 2008;135(2):419-28.
- Société canadienne du cancer (SCC). Mutations des gènes BRCA [site Web]. Toronto, ON : SCC; 2016a. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/what-is-a-risk-factor/genetic-risk/brca-gene-mutations/?region=on> (consulté le 15 février 2016).
- Société canadienne du cancer (SCC). Risque de cancer héréditaire [site Web]. Toronto, ON : SCC; 2016b. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/what-is-a-risk-factor/genetic-risk/inherited-cancer-risk/?region=qc> (consulté le 14 janvier 2016).
- Société canadienne du cancer (SCC). Syndromes du cancer héréditaire [site Web]. Toronto, ON : SCC; 2016c. Disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/what-is-a-risk-factor/genetic-risk/hereditary-cancer-syndromes/?region=qc> (consulté le 14 janvier 2016).
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2015. Sujet particulier : prévisions concernant le fardeau futur du cancer au Canada. Toronto, ON : SCC; 2015. Disponible à : <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2015-FR.pdf?la=fr-CA>.
- Song H, Dicks E, Ramus SJ, Tyrer JP, Intermaggio MP, Hayward J, et al. Contribution of germline mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D genes to ovarian cancer in the population. *J Clin Oncol* 2015;33(26):2901-7.
- Sorrell AD, Espenschied CR, Culver JO, Weitzel JN. Tumor protein p53 (TP53) testing and Li-Fraumeni syndrome: Current status of clinical applications and future directions. *Mol Diagn Ther* 2013;17(1):31-47.
- Susswein LR, Marshall ML, Nusbaum R, Vogel Postula KJ, Weissman SM, Yackowski L, et al. Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing. *Genet Med* 2015 [Epub ahead of print].
- Tai YC, Domchek S, Parmigiani G, Chen S. Breast cancer risk among male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(23):1811-4.
- Tan MH, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clin Cancer Res* 2012;18(2):400-7.

- Ten Broeke SW, Brohet RM, Tops CM, van der Klift HM, Velthuis ME, Bernstein I, et al. Lynch syndrome caused by germline PMS2 mutations: Delineating the cancer risk. *J Clin Oncol* 2015;33(4):319-25.
- Thompson D et Easton DF. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(18):1358-65.
- Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, Contu G, Grandi G, Cagnacci A, et al. Hereditary ovarian cancer: Not only BRCA 1 and 2 genes. *Biomed Res Int* 2015;2015:341723.
- Tung N et Silver DP. Chek2 DNA damage response pathway and inherited breast cancer risk. *J Clin Oncol* 2011;29(28):3813-5.
- Tung N, Battelli C, Allen B, Kaldete R, Bhatnagar S, Bowles K, et al. Frequency of mutations in individuals with breast cancer referred for BRCA1 and BRCA2 testing using next-generation sequencing with a 25-gene panel. *Cancer* 2015;121(1):25-33.
- Uppal S, Mistry D, Coatesworth AP. Cowden disease: A review. *Int J Clin Pract* 2007;61(4):645-52.
- Van Asperen CJ, Brohet RM, Meijers-Heijboer EJ, Hoogerbrugge N, Verhoef S, Vasen HF, et al. Cancer risks in BRCA2 families: Estimates for sites other than breast and ovary. *J Med Genet* 2005;42(9):711-9.
- Van Lier MG, Westerman AM, Wagner A, Looman CW, Wilson JH, de Rooij FW, et al. High cancer risk and increased mortality in patients with Peutz-Jeghers syndrome. *Gut* 2011;60(2):141-7.
- Van Os NJ, Roeleveld N, Weemaes CM, Jongmans MC, Janssens GO, Taylor AM, et al. Health risks for ataxia-telangiectasia mutated heterozygotes: A systematic review, meta-analysis and evidence-based guideline. *Clin Genet* 2015 [Epub ahead of print].
- Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, et al. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut* 2008;57(5):704-13.
- Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. CHEK2*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: Meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls. *J Clin Oncol* 2008;26(4):542-8.
- Win AK, Dowty JG, Cleary SP, Kim H, Buchanan DD, Young JP, et al. Risk of colorectal cancer for carriers of mutations in MUTYH, with and without a family history of cancer. *Gastroenterology* 2014;146(5):1208-11 e1-5.
- Yang Y, Zhang F, Wang Y, Liu SC. CHEK2 1100delC variant and breast cancer risk in Caucasians: A meta-analysis based on 25 studies with 29,154 cases and 37,064 controls. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13(7):3501-5.
- Yorczyk A, Robinson LS, Ross TS. Use of panel tests in place of single gene tests in the cancer genetics clinic. *Clin Genet* 2015;88(3):278-82.

- Yurgelun MB, Allen B, Kaldate RR, Bowles KR, Judkins T, Kaushik P, et al. Identification of a variety of mutations in cancer predisposition genes in patients with suspected Lynch syndrome. *Gastroenterology* 2015;149(3):604-13 e20.
- Zhang B, Beeghly-Fadiel A, Long J, Zheng W. Genetic variants associated with breast-cancer risk: Comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. *Lancet Oncol* 2011;12(5):477-88.
- Zhang G, Zeng Y, Liu Z, Wei W. Significant association between Nijmegen breakage syndrome 1 657del5 polymorphism and breast cancer risk. *Tumour Biol* 2013;34(5):2753-7.

ANNEXE A

Gènes inclus dans les panels de gènes analysés par SNG offerts par Ambry Genetics au moment de l'étude de LaDuca et ses collaborateurs [2014]

GÈNE	SYNDROME ASSOCIÉ	PANEL	CANCERS ASSOCIÉS Risque à vie (%) ou augmentation du risque	RECOMMANDATIONS DU NCCN
APC	Polypose adénomateuses familiale (PAF), PAF atténuée (PAFA)	Co, Ca	Colorectal (PAFA : 70 %, PAF : 100 %), intestin grêle, gastrique, thyroïde, pancréas, foie, SNC	O
ATM	Ataxie téléangiectasie (AT)	Br, Ov, Ca	Sein (2 à 4 fois chez la femme), pancréas	N
BARD1	s. o.	Br, Ov, Ca	Sein (jusqu'à 3 fois chez la femme), ovaire	N
BMPR1A	Syndrome de la polypose juvénile (SPJ)	Co, Ca	Colorectal (40 % à 50 %), gastrique (jusqu'à 21 %)	O
SMAD4		Co, Ca		
BRIP1	Anémie de Fanconi (AF)	Br, Ov, Ca	Sein (jusqu'à 2 à 3 fois chez la femme), ovaire	N
CDH1	Cancer gastrique diffus héréditaire	Br, Ov, Co, Ca	Gastrique diffus (67 % à 83 %), lobulaire du sein (39 % à 52 % chez la femme)	N
CHEK2	s. o.	Br, Ov, Co, Ca	Sein (2 fois chez la femme), prostate, colorectal (2 fois), thyroïde, ovaire, rein	N
EPCAM	Syndrome de Lynch	Ov, Co, Ca	Colorectal (15 % à 82 %), endomètre (15 % à 60 %), gastrique (6 % à 13 %), ovarien (4 % à 12 %), intestin grêle, hépatobiliaire, voies urinaires supérieures, SNC, glande sébacée	O
MLH1		Ov, Co, Ca		
MSH2		Ov, Co, Ca		
MSH6		Ov, Co, Ca		
PMS2		Ov, Co, Ca		
MRE11A	Variante rare de l'ataxie téléangiectasie (<i>A-T like disorder</i>)	Br, Ov, Ca	Sein (jusqu'à 3 fois chez la femme), ovaire	N
MUTYH	Polypose associée au gène <i>MUTYH</i> (PAM)	Br, Ov, Co, Ca	Colorectal (80 %), sein (chez la femme), duodénum, gastrique, endomètre	O
NBN	Syndrome de Nijmegen (SN)	Br, Ov, Ca	Sein (jusqu'à 3 fois chez la femme), ovaire	N
PALB2	Anémie de Fanconi	Br, Ov, Ca	Sein (2 à 4 fois chez la femme), pancréas, ovaire	N
PTEN	Syndrome tumoral hamartomateux lié à <i>PTEN</i> , syndrome de Cowden	Br, Ov, Co, Ca	Sein (50 % à 85 %), colorectal (9 %), endomètre (10 % à 28 %), thyroïde (10 % à 35 %), rein (34 %), mélanome (6 %)	O
RAD50	Variante du syndrome Nijmegen (<i>Nijmegen-like</i>) (SNL)	Br, Ov, Ca	Sein (jusqu'à 3 fois chez la femme), ovaire	N
RAD51C	Anémie de Fanconi	Br, Ov, Ca	Sein (jusqu'à 3 fois chez la femme), ovaire (9 %)	N
STK11	Syndrome de Peutz-Jeghers (SPJ)	Br, Ov, Co, Ca	Gastro-intestinal (jusqu'à 57 %), sein (jusqu'à 45 % chez la femme), pancréas, poumon, col utérin, ovaire	O
TP53	Syndrome de Li-Fraumeni (SLF)	Br, Ov, Co, Ca	Sein (chez la femme préménopausée), cerveau, sarcome, corticosurrénalome, autres (risque à vie de 68 % à 93 %)	O

Abréviations : Br : BreastNext^{MD}; Ca : CancerNext^{MD}; Co : ColoNext^{MD}; N : non; NCCN : National Comprehensive Cancer Network; O : oui; Ov : OvaNext^{MD}; SNC : système nerveux central; s. o. : sans objet

Information tirée de LaDuca *et al.*, 2014 et des données complémentaires fournies avec l'étude.

ANNEXE B

Gènes inclus dans les panels par SNG offerts par GeneDx ainsi que la catégorie de risque associé aux différents cancers

Risk Category	Gene	Associated Cancers*	Comprehensive Panel (29 genes)	Breast/Ovarian Panel (21 genes)	High/Moderate Risk Panel (20 genes)	Colorectal Panel (16 genes)	Pancreatic Panel (16 genes)	Endometrial Panel (11 genes)	Lynch/Colorectal High Risk Panel (7 genes)	Breast Cancer High Risk Panel (6 genes)
High-Risk Genes	<i>APC</i>	Colorectal, Adenomatous polyps	◇		◇	◇	◇		◇	
	<i>BMPR1A</i>	Colorectal, Gastric, Juvenile polyps	◇		◇	◇				
	<i>BRCA1</i>	Breast, Ovarian	◇	◇	◇		◇	◇		◇
	<i>BRCA2</i>	Breast, Ovarian	◇	◇	◇		◇	◇		◇
	<i>CDH1</i>	Diffuse gastric, Lobular Breast	◇	◇	◇	◇				◇
	<i>CDKN2A</i>	Melanoma, Pancreatic	◇		◇		◇			
	<i>EPCAM</i>	Colorectal, Endometrial	◇	◇	◇	◇	◇	◇	◇	
	<i>MLH1</i>	Colorectal, Endometrial	◇	◇	◇	◇	◇	◇	◇	
	<i>MSH2</i>	Colorectal, Endometrial	◇	◇	◇	◇	◇	◇	◇	
	<i>MSH6</i>	Colorectal, Endometrial	◇	◇	◇	◇	◇	◇	◇	
	<i>MUTYH</i>	Colorectal, Adenomatous polyps	◇		◇	◇		◇	◇	
	<i>PMS2</i>	Colorectal, Endometrial	◇	◇	◇	◇	◇	◇	◇	
	<i>PTEN</i>	Breast, Thyroid, Endometrial, Hamartomatous polyps	◇	◇	◇	◇		◇		◇
	<i>SMAD4</i>	Colorectal, Gastric, Juvenile polyps	◇		◇	◇				
	<i>STK11</i>	Breast, Colorectal, Pancreatic, Hamartomatous polyps	◇	◇	◇	◇	◇			◇
	<i>TP53</i>	Breast, Sarcoma, Hematologic	◇	◇	◇	◇	◇	◇		◇
	<i>VHL</i>	Renal, Pancreatic neuroendocrine	◇		◇		◇			
Moderate-Risk Genes	<i>ATM</i>	Breast	◇	◇	◇	◇	◇			
	<i>CHEK2</i>	Breast	◇	◇	◇	◇		◇		
	<i>PALB2</i>	Breast, Pancreatic	◇	◇	◇		◇			
Unknown Risk Genes	<i>AXIN2</i>	Colorectal, Adenomatous polyps	◇			◇				
	<i>BARD1</i>	Breast, Ovarian	◇	◇						
	<i>BRIP1</i>	Breast, Ovarian	◇	◇						
	<i>CDK4</i>	Melanoma	◇				◇			
	<i>FANCC</i>	Breast	◇	◇						
	<i>NBN</i>	Breast	◇	◇						
	<i>RAD51C</i>	Breast, Ovarian	◇	◇						
	<i>RAD51D</i>	Breast, Ovarian	◇	◇						
	<i>XRCC2</i>	Breast	◇	◇			◇			

*Only the most prevalent or well-established cancers associated with each gene are listed.

Figure tirée de Susswein *et al.*, 2015.

ANNEXE C

Critères cliniques d'admissibilité à une analyse par panel de gènes par SNG ciblant des cancers héréditaires proposés par Mauer et ses collaborateurs [2014]

Panel SNG ciblant le cancer du sein

Antécédents personnels

- A priori, risque BRCA^a de > 20 %^a
- Cancer du sein et de l'ovaire^a
- Cancer du sein chez l'homme^a
- Cancer du sein bilatéral à < 55 ans^a
- Cancer du sein à ≤ 30 ans^a
- Cancers primaires multiples, y compris un cancer du sein^a

Antécédents personnels et familiaux

- Antécédents personnels de cancer du sein et présence de cancer du sein chez ≥ 2 parents au 1^{er} et au 2^e degré^a
- Considération de syndromes multiples, selon les critères du NCCN ou d'autres critères établis, avec une prépondérance de cancer du sein dans la famille^a

Panel SNG ciblant le cancer du côlon

Antécédents personnels

- Cancer colorectal à ≤ 40 ans^b
- Patient ayant de 10 à 20 polypes adénomateux

Antécédents personnels et familiaux

- Considération de syndromes multiples, selon les critères du NCCN ou d'autres critères établis, avec une prépondérance de cancer du côlon dans la famille^b

Panel SNG ciblant le cancer de l'ovaire

Antécédents personnels

- Cancer de l'ovaire à ≤ 50 ans^a

Antécédents personnels et familiaux

- Considération de syndromes multiples, selon les critères du NCCN ou d'autres critères établis, avec une prépondérance de cancer de l'ovaire dans la famille^a

Panel SNG ciblant divers cancers héréditaires

Antécédents personnels

- À considérer en présence de ≤ 2 cancers primaires (premier diagnostic à ≤ 50 ans) et si le syndrome spécifique de cancer héréditaire ne peut pas être déterminé

Antécédents personnels et familiaux

- Considération de syndromes multiples, selon les critères du NCCN ou d'autres critères établis, avec de multiples cancers primaires ou syndromiques dans la famille^{a,b}

^aÀ la suite d'un résultat négatif de séquençage complet et des réarrangements des gènes *BRCA* (*BRCA analysis rearrangement testing* ou BRCA-BART)

^bAvec des résultats d'IHC-IMS normaux de la tumeur ou si ces résultats ne sont pas disponibles

MÉTHYLATION DU PROMOTEUR DU GÈNE DE L'O⁶-MÉTHYLGUANINE-ADN MÉTHYLTRANSFÉrase (MGMT) PAR PCR SPÉCIFIQUE DE LA MÉTHYLATION (RÉFÉRENCE – 2015.01.001)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : CUSM – Hôpital neurologique de Montréal
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le Dr David S. Rosenblatt 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 la validation de cet avis, l'expert consulté est le Dr Benjamin Ellezam, M.D. Ph. D., FRCPC, neuropathologiste au CHU Sainte-Justine.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

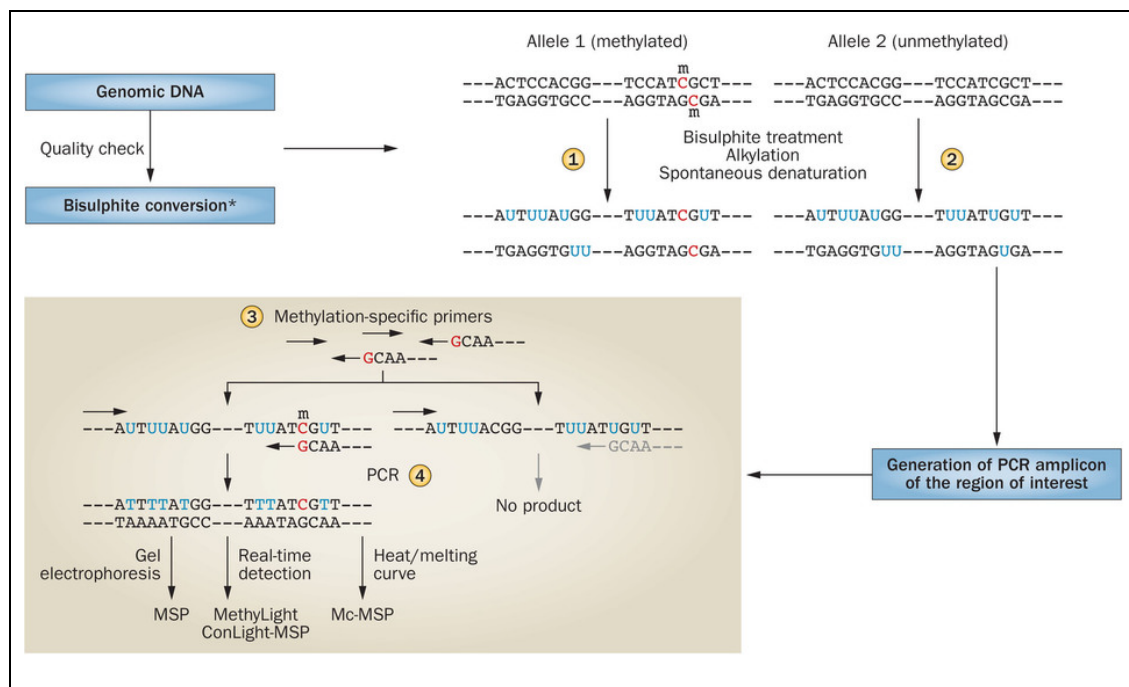
Méthylation du promoteur du gène de l'O⁶-méthylguanine-ADN méthyltransférase (MGMT) par PCR spécifique de la méthylation.

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

L'analyse vise à déterminer la présence respective d'allèles méthylés ou non méthylés dans l'ADN génomique. Elle consiste en deux réactions en chaîne par polymérase distinctes, spécifiques de la méthylation (*methylation-specific polymerase chain reaction* ou MS-PCR). L'extraction de l'ADN est effectuée à partir de tissus tumoraux fixés dans la paraffine, suivie de la modification de l'ADN par un

traitement au bisulfite afin de convertir les cytosines (C) non méthylées du promoteur du gène *MGMT* en uraciles (U). L'ADN ainsi traité sert de gabarit aux deux réactions (PCR) dont chacun des couples d'amorces s'apparie uniquement à la séquence méthylée ou non méthylée (C → U) (voir la figure 1).

Figure 1 Représentation schématique de la PCR spécifique de la méthylation (MS-PCR)



Source : Figure tirée de Wick *et al.*, 2014.

Précisons que le demandeur utilise, depuis le 1^{er} juin 2013, des amorces fluorescentes dans l'étape de la MS-PCR³⁹. La détection des produits amplifiés se fait par électrophorèse capillaire. Cette modification au protocole est en accord avec les recommandations visant à satisfaire les normes d'accréditation (Accreditation Canada program Qmentum et ISO 15189). Les résultats obtenus sont de type qualitatif. Le temps de réponse attendu est de quatre jours.

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons proviennent du laboratoire de neuropathologie de l'Hôpital neurologique de Montréal du Centre universitaire de santé McGill (CUSM), le centre de référence provincial en matière de tumeurs cérébrales. Une fois le diagnostic de gliome obtenu (chez l'adulte), l'échantillon de résection chirurgicale ou biopsique, dont les tissus sont fixés dans le formaldéhyde et enrobés de paraffine, est acheminé au laboratoire central de diagnostic moléculaire du CUSM, où l'analyse sera effectuée.

³⁹ Information tirée du manuel de méthodes et procédés (fourni par le demandeur) intitulé *Molecular pathology procedure: Validation MGMT test by capillary electrophoresis*, Version No. 1, Effective date: 2013-06-01.

2.4 Société ou concepteur

Ce test est une analyse maison mise au point par la Dre Marie-Christine Guiot, pathologiste au CUSM, selon le protocole original publié par Esteller et ses collaborateurs [1999].

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Sans objet

2.6 Valeur pondérée : 131,30

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés sont les adultes atteints d'une tumeur cérébrale de type gliome, essentiellement les astrocytomes diffus, les oligodendrogliomes et les glioblastomes.

3.2 Description de la maladie visée

Selon les plus récentes statistiques publiées par la Société canadienne du cancer (SCC), 800 nouveaux cas de cancer du cerveau ont été diagnostiqués, en 2015, au Québec. Au Canada, le taux d'incidence normalisé selon l'âge des tumeurs cérébrales varie de 12 à 16 cas pour 100 000 habitants selon la province [SCC, 2015]. La majorité des gliomes, qui représentent 30 % à 40 % des tumeurs cérébrales, sont sporadiques et se manifestent à tout âge, la pointe d'incidence se situant dans le groupe d'âge de 40 à 65 ans [Schneider *et al.*, 2010]. La classification généralement utilisée est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), qui regroupe les gliomes selon quatre degrés de différenciation (OMS I à IV) selon leurs caractéristiques histopathologiques et leur degré de malignité [Herranz *et al.*, 2015]. Or, cette classification fait l'objet de recommandations par l'International Society of Neuropathology (ISN) concernant, entre autres, l'intégration des données moléculaires, afin d'assurer une définition plus précise et hautement uniforme des groupes tumoraux du système nerveux central [Louis *et al.*, 2014]. Une nouvelle classification, qui tient compte des données moléculaires, est attendue incessamment.

Le glioblastome multiforme ou GBM (OMS IV) est la tumeur cérébrale la plus fréquente et représente de 12 % à 15 % des tumeurs intracrâniennes et de 50 % à 60 % des gliomes [Hess *et al.*, 2004]. Le GBM est aussi la tumeur cérébrale la plus agressive chez l'adulte, où la survie globale est d'environ 1 an [Louis *et al.*, 2007]. La survie globale estimée des patients atteints de gliomes de grade OMS II et OMS III est de plus de 5 ans et de 2 à 3 ans, respectivement [Louis *et al.*, 2007].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur prévoit respectivement 250, 275 et 300 tests annuels dans chacune des 3 années suivant l'ajout du test dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*).

3.4 Spécialités médicales concernées

Neuropathologie, neuro-oncologie, radio-oncologie et neurochirurgie

3.5 Brève description de la situation actuelle

La MS-PCR est la technique originale utilisée dans l'essai clinique randomisé réalisé en 2005 et dont l'objectif principal était de déterminer la valeur pronostique et prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (profil *MGMT*) [Hegi *et al.*, 2005]. À ce jour, la MS-PCR est la technique la plus utilisée en raison de sa simplicité, de l'accessibilité des équipements nécessaires et de son rapport coût-efficacité avantageux [Wick *et al.*, 2014; Mikeska *et al.*, 2012]. La principale limite de la MS-PCR tient du fait que les résultats sont qualitatifs et évalués subjectivement sur gel d'électrophorèse [Wick *et al.*, 2014; Quillien *et al.*, 2012]. Pour remédier à ces faiblesses, plusieurs options ont été mises au point, dont la MS-PCR quantitative en temps réel (MS-qPCR), la MS-qPCR avec sondes fluorescentes (en anglais MS-qPCR MethyLight), la MS avec pyroséquençage (MS-PSQ), la courbe de fusion à haute résolution spécifique de la méthylation (en anglais *high-resolution melt* ou MS-HRM) et l'amplification multiplexe de sondes hybridées et ligasées spécifique de la méthylation (en anglais *methyl-specific multiplex ligation-dependent probe amplification* ou MS-MLPA). Les résultats obtenus par la MS-MLPA sont semi-quantitatifs, c'est-à-dire qu'ils permettent d'obtenir simultanément le profil de méthylation de plusieurs régions ciblées, selon les sondes utilisées.

Afin d'être intégrée aux pratiques cliniques usuelles, la technique de détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* doit être sensible, spécifique, reproductible et applicable aux tissus fixés [Wick *et al.*, 2014]. Bien que les techniques quantitatives comme la MS-qPCR et la MS-PSQ soient de plus en plus utilisées, elles nécessitent la détermination et la validation d'un seuil de détection fiable du degré de méthylation qui comprend une zone grise. Cette zone représente les tumeurs faiblement ou partiellement méthylées qui ne peuvent être attribuées sans équivoque à la catégorie des tumeurs méthylées ou non méthylées. De plus, elles exigent des ressources substantielles ainsi que des équipements et des réactifs coûteux [Wick *et al.*, 2014].

Actuellement, au Canada, selon Orphanet⁴⁰, le test est offert par deux laboratoires cliniques ontariens accrédités, soit le Molecular Diagnostic Laboratory du Credit Valley Hospital ainsi que le Cancer Cytogenetics and Molecular Diagnostics Laboratory du Toronto General Hospital. Les méthodes utilisées sont la MS-MLPA et la MS-PSQ, respectivement.

Dans la Liste des médicaments (dernière mise à jour du 20 novembre 2015) de la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ), le témozolomide (TMZ) est classé parmi les médicaments d'exception. Les indications reconnues pour son remboursement se limitent au « traitement de première intention des personnes atteintes d'un glioblastome multiforme, en association avec la radiothérapie » ainsi qu'au « traitement des personnes atteintes d'un astrocytome anaplasique ou d'un glioblastome multiforme et présentant, après l'administration d'un traitement de première intention, une récurrence ou l'évolution de la maladie ».

⁴⁰ Site Web d'Orphanet : http://www.orpha.net/consor/www/cgi-bin/ClinicalLabs_Search_Simple.php?Ing=FR&LnkId=22077&Typ=Gen (consulté le 15 décembre 2015).

3.6 Données médico-administratives

L'analyse proposée n'est pas inscrite actuellement dans le *Répertoire*. Concernant les analyses réalisées par les établissements du réseau et celles envoyées hors Québec, réalisées au cours des années 2013-2014, les bases de données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) ne contiennent aucune statistique de production concernant le gène *MGMT*.

Précisons que l'analyse est déjà offerte par le centre demandeur depuis 2013. Selon les statistiques fournies par ce dernier, 96 analyses ont été effectuées en 2013, 124 en 2014, et 252 en 2015. Concernant les 252 analyses effectuées au cours de l'année 2015, 117 demandes provenaient du CUSM et 135 demandes provenaient du service de consultation du département de neuropathologie. De ces 135 demandes, 62 cas provenaient du Québec et 73 cas provenaient de l'extérieur, principalement de la Nouvelle-Écosse (95 %, 69/73 cas).

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse fait partie de l'algorithme décisionnel de prise en charge des gliomes chez l'adulte, lequel comprend la détection des mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2*, une analyse par hybridation *in situ* en fluorescence (ou FISH) visant la co-délétion des chromosomes 1p et 19q, ainsi que l'amplification du gène *EGFR*.

Le demandeur considère que le résultat de cette analyse est un élément essentiel du rapport de pathologie. Il serait nécessaire au choix du traitement de première ligne des gliomes, parce que la méthylation du promoteur du gène *MGMT* est un biomarqueur pronostique et prédictif de la sensibilité tumorale aux agents alkylants, dont le TMZ.

Le gain de survie attribué à l'ajout du TMZ dans le traitement des gliomes résulterait de la modification épigénétique du gène *MGMT*, dont le produit code pour une enzyme, l'O⁶-méthylguanine-ADN méthyltransférase (MGMT), impliquée dans la réparation des dommages à l'ADN causés par les agents alkylants. La méthylation épigénétique du promoteur de *MGMT* désactiverait ce mécanisme de réparation en modulant l'expression de l'enzyme [Wick *et al.*, 2014].

3.8 Assurance qualité

Le personnel du laboratoire central de diagnostic moléculaire du CUSM participe aux différents programmes de certification du College of American Pathologists (CAP), dont le programme de contrôle de qualité d'analyse des gliomes (code de programme : GLI). Ce programme de contrôle de la qualité comprend la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*, la détection des mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* ainsi que la délétion du chromosome 10q (gène *PTEN*)⁴¹. Les laboratoires certifiés par le CAP doivent participer à des audits deux fois par année relativement à ces analyses.

⁴¹ Information tirée de *2015 Surveys and Anatomic Pathology Education Programs*, disponible sur le site Web du College of American Pathologists à : <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution/Folders/WebContent/pdf/2015-surveys-catalog.pdf>.

Un témoin négatif (absence d'ADN) ainsi que des échantillons commerciaux d'ADN méthylé (DNA Zymo Research cat. n° D5014-2) et non méthylé (Promega cat. n° PR-G304110) sont inclus dans chaque série d'analyse. Le séquençage est effectué de façon bidirectionnelle. L'analyse est réalisée en suivant les normes du Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).

3.9 Remplacement d'un autre test

Cette analyse ne remplace aucune procédure inscrite dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Selon le demandeur, cette analyse permettrait de répondre à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue parce que la détermination du profil *MGMT* n'a pas pour objectif d'établir ni de préciser la nature ou la cause de la maladie (diagnostic).

4.2 Valeur pronostique

4.2.1 Gains de survie associés à un profil positif de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez l'adulte atteint de gliome, évalués par méta-analyse

À la suite de la recherche documentaire, cinq revues systématiques et méta-analyses traitant de la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints de gliome ont été retenues [Chen *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Olson *et al.*, 2011]. Le descriptif de chacune de ces revues et méta-analyses ainsi que l'évaluation de leur qualité méthodologique respective selon les critères d'AMSTAR-R (acronyme de l'anglais *Assessment of Multiple Systematic Reviews – Revised*) [Kung *et al.*, 2010] sont fournis dans l'annexe A du présent avis.

Les publications traitant de la valeur pronostique de la méthylation du promoteur de *MGMT* dans les GBM (OMS IV) sont les suivantes :

- Chen et ses collaborateurs [2015] : 32 études de cohortes cliniques de patients ayant reçu des traitements qui comprenaient le TMZ;
- Yang et ses collaborateurs [2014] : 50 études comprenant différentes interventions thérapeutiques;
- Zhang et ses collaborateurs [2013] : 30 études de cohortes comprenant différentes interventions thérapeutiques, profil *MGMT* déterminé par MS-PCR.

Les publications traitant de la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* dans les gliomes de haut grade (GHG, OMS III et OMS IV) sont les suivantes :

- Chen et ses collaborateurs [2013] : 24 études observationnelles;

- Olson et ses collaborateurs [2011] : 20 études sur des patients ayant subi une résection chirurgicale de leur tumeur et, dans certains cas, une chimiothérapie (CT), de la radiothérapie (RT) ou de la chimioradiothérapie (CRT).

Le tableau 1 présente les différents rapports de risque instantané (RRI) de décès et de progression obtenus, rapportés dans chacune des publications. Les cinq méta-analyses retenues confirment la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints de GBM (OMS IV). En effet, les données montrent que les patients atteints d'un GBM de profil *MGMT*^{met+} sont associés à une survie globale ainsi qu'à une survie sans progression supérieure à celles des patients atteints d'un GBM de profil *MGMT*^{met-}. Considérant les analyses regroupées, qui tiennent compte ou non d'autres facteurs pronostiques, un profil *MGMT*^{met+} serait associé à une réduction du risque de décès variant de 48 % à 56 % ainsi qu'à une réduction du risque de progression variant de 48 % à 70 % [Chen *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Olson *et al.*, 2011].

La valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients atteints de gliomes de haut grade autres que les GBM, n'est cependant pas clairement démontrée. En effet, selon les analyses de sous-groupes effectuées par Chen et ses collaborateurs [2013], des réductions non significatives du risque de décès de 61 % et de progression de 38 % ont été rapportées dans des études incluant des patients atteints de gliomes de grade III et IV, soit les GBM, les astrocytomes anaplasiques (AA), les oligoastrocytomes anaplasiques (OAA) ainsi que les oligodendrogliomes anaplasiques (ODA), alors que les analyses portant uniquement sur les GBM (OMS IV) sont associées à des réductions statistiquement significatives de risque de décès et de progression de 51 % et 55 %, respectivement [Chen *et al.*, 2013].

Tableau 1 Valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes, évaluée par une méta-analyse

MÉTA-ANALYSE	CARACTÉRISTIQUES DES ÉTUDES RETENUES (N)	PATIENTS (N)	VALEUR PRONOSTIQUE <i>MGMT</i> ^{MET+} C. <i>MGMT</i> ^{MET-}	HÉTÉROGÉNÉITÉ		BIAS DE PUBLICATION ⁴²
				I ²	Q-test	
Chen <i>et al.</i> , 2015	GBM traités par TMZ SG (32)	Total (2 377)	RRI décès : 0,52 (IC à 95 % : 0,45 – 0,61); p < 0,01	73,3 %	p < 0,001	Absent
	GBM traités par TMZ SSP (11)	n. d.	RRI progression : 0,52 (IC à 95 % : 0,32 – 0,84); p < 0,01	84,2 %	p < 0,001	Présent
Yang <i>et al.</i> , 2014	GBM (tous traitements); analyses multivariées SG (32)	Total (4 253)	RRI décès : 0,44 (IC à 95 % : 0,37 – 0,52); p < 0,001	60,5 %	p < 0,001	Absent
	GBM (tous traitements); analyses multivariées SSP (14)	Total (1 658)	RRI progression : 0,30 (IC à 95 % : 0,13 – 0,72); p = 0,007	97,6 %	p < 0,001	Absent
Zhang <i>et al.</i> , 2013	GBM (tous traitements); analyses multivariées SG (14)	Total (1 507)	RRI décès : 0,49 (IC à 95 % : 0,38 – 0,64)	68,6 %	p < 0,001	Absent
	agent alkylant (6)	(371)	0,42 (IC à 95 % : 0,29 – 0,60)	42,1 %	p = 0,125	
	GBM (tous traitements); analyses multivariées SSP (9)	Total (957)	RRI progression : 0,51 (IC à 95 % : 0,38 – 0,69)	68,6 %	p = 0,001	Absent
Chen <i>et al.</i> , 2013	Gliomes de haut grade SG (22)	Total (2 593)	RRI décès : 0,48 (IC à 95 % : 0,35 – 0,65); p < 0,01	79,8 %	n. d.	Absent
	GBM seulement (18) GBM, AA, OAA, ODA (4)	(1 824) (605)	0,49 (IC à 95 % : 0,35 – 0,68) 0,39 (IC à 95 % : 0,15 – 1,05)	87,1 % 15,9 %		
	Gliomes de haut grade SSP (12)	Total (1 261)	RRI progression : 0,43 (IC à 95 % : 0,32 – 0,56); p < 0,01	50,4 %	n. d.	Absent
	GBM seulement (9) GBM, AA, OAA, ODA (2)	(900) (287)	0,45 (IC à 95 % : 0,37 – 0,53) 0,62 (IC à 95 % : 0,10 – 3,68)	31,9 % 85,3 %		
Olson <i>et al.</i> , 2011	Gliomes de haut grade; analyses multivariées SG (20)	Total (2 018)	RRI décès : 0,44 (IC à 95 % : 0,33 – 0,57); p < 0,001	75,2 %	p < 0,001	n. d.
	Chirurgie et CRT (13)	(823)	0,40 (IC à 95 % : 0,28 – 0,58); p < 0,001	70,3 %	p < 0,001	
	Chirurgie et RT (2)	(380)	0,74 (IC à 95 % : 0,58 – 0,95); p = 0,020	n. d.	n. d.	
	Traitement combiné (4)	(585)	0,42 (IC à 95 % : 0,33 – 0,53); p < 0,001	n. d.	n. d.	

Abréviations : AA : astrocytome anaplasique; CT : chimiothérapie; CRT : chimioradiothérapie; GBM : glioblastome multiforme; N : nombre; n. d. : donnée non disponible; OAA : oligoastrocytome anaplasique; ODA : oligodendrogliome anaplasique; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; SG : survie globale; SSP : survie sans progression; TMZ : témozolomide

⁴² Le biais de publication est déterminé à l'aide de tests statistiques évaluant la probabilité que les résultats obtenus soient biaisés par le choix des études incluses dans l'analyse [Kung *et al.*, 2010].

4.2.2 Gains de survie associés à un profil positif de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints de gliome, évalués dans des études primaires

La recherche documentaire a également permis de retenir quatre études primaires portant sur l'évaluation de la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints d'un gliome. Seuls les études cliniques randomisés contrôlés (ERC) de phase III ou les études rétrospectives effectuées à partir de cohortes de patients recrutés lors d'ERC, publiés de janvier 2005 à décembre 2015, ont été sélectionnés. Un résumé des principaux résultats concernant les valeurs pronostiques de ce profil est présenté dans le tableau 2.

Les ERC de phase III traitant de la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* dans les gliomes sont les suivants :

- Hegi et ses collaborateurs [2005] : 307 adultes atteints d'un glioblastome de grade OMS IV, assignés de façon aléatoire à un traitement de RT seule ou de RT combinée au TMZ;
- Wick et ses collaborateurs [2009] : 318 adultes atteints d'un gliome anaplasique de grade OMS III, assignés de façon aléatoire à un traitement de RT, de PCV⁴³ ou de TMZ;
- Gilbert et ses collaborateurs [2013] : 833 patients atteints d'un glioblastome OMS IV, traités par différents régimes de TMZ.

Une étude ayant évalué de façon rétrospective la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* à partir d'une cohorte de patients recrutés lors d'un ERC a été retenue, soit la suivante :

- Collins et ses collaborateurs [2014] : 447 patients atteints d'un gliome de grade OMS III ou IV récurrent et traités par TMZ ou PCV.

Rétrospectivement, c'est en 2005 que Stupp et ses collaborateurs ont montré que l'utilisation précoce du TMZ, combinée au traitement standard habituel de radiothérapie (RT), permettait de prolonger significativement la survie des patients atteints d'un GBM (OMS IV). En effet, une médiane de survie de 14,6 mois a été observée chez les patients ayant reçu du TMZ, comparativement à 12,1 mois ($p < 0,001$) chez les patients ayant reçu la RT seule en traitement adjuvant [Stupp *et al.*, 2005]. Au cours d'une analyse additionnelle planifiée (EORTC-NCIC), le groupe a également vérifié l'effet de la méthylation du promoteur du gène *MGMT* préalablement identifié comme un possible facteur pronostique [Hegi *et al.*, 2005]. Leurs analyses multivariées de survie ont montré que le profil *MGMT*^{met+}, déterminé au moyen de la MS-PCR, est associé à une réduction du risque de décès de 59 %, et ce, peu importe que le traitement reçu soit la RT seule ou la RT combinée au TMZ. Des médianes de survie globale de 18,2 mois associées à un profil positif de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (*MGMT*^{met+}), comparativement à 12,2 mois ($p < 0,001$) pour le profil négatif (*MGMT*^{met-}), ont été rapportées [Hegi *et al.*, 2005].

Des résultats similaires ont été obtenus par Wick et ses collaborateurs [2009] lors d'un ERC de phase III (NOA-04) comparant l'utilisation de la chimiothérapie à base d'agents alkylants (PCV ou TMZ) à celle de la RT seule chez des patients atteints de gliomes de grade III. Dans cette étude, l'absence de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (*MGMT*^{met-}) a été associée à une

⁴³ PCV : chimiothérapie à base de procarbazine (agent alkylant), de lomustine (agent alkylant dérivé du N-méthyl-N-nitroso-urée aussi appelé CCNU) et de vincristine (alcaloïde antimitotique).

diminution de la survie sans progression de 90 % ($p = 0,0172$), comparativement au profil $MGMT^{met+}$ [Wick *et al.*, 2009].

Pour sa part, l'étude RTOG-0525 avait pour principal objectif de vérifier l'effet de différents régimes de TMZ sur la survie globale et sans progression de patients nouvellement diagnostiqués d'un GBM. L'évaluation de l'effet du profil $MGMT$ sur la survie figurait parmi les objectifs secondaires. Les résultats de cette partie de l'étude, publiés par Gilbert et ses collaborateurs [2013], confirment la valeur pronostique de ce biomarqueur, soit une survie médiane globale de 21,2 mois associée au profil $MGMT^{met+}$, comparativement à 14 mois dans le cas du profil $MGMT^{met-}$ ($p < 0,001$), ainsi qu'une survie médiane sans progression de 8,7 mois et de 5,7 mois ($p < 0,001$) respectivement [Gilbert *et al.*, 2013].

Plus récemment, une étude rétrospective dont l'objectif était d'évaluer la valeur pronostique et la valeur prédictive de différents marqueurs moléculaires chez des patients atteints de gliomes de grade III et IV en progression à la suite d'un traitement de RT puis traités par PCV, comparativement à ceux traités par TMZ, a été menée par Collins et ses collaborateurs [2014]. Aucun des marqueurs moléculaires étudiés, soit $IDH1$ et $IDH2$, $MGMT$, $TP53$ et les déséquilibres génomiques évalués par hybridation génomique comparative ou CGH (en anglais *comparative genomic hybridization*), n'a permis de mettre en évidence un avantage prédictif du TMZ par rapport au PCV. Toutefois, la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène $MGMT$ a été montrée par une réduction du risque de décès de 51 % associée à un profil positif ($MGMT^{met+}$), et ce, en tenant compte de l'influence d'autres variables pronostiques telles que l'âge, le sexe, le grade tumoral (OMS III ou IV) et l'indice de performance selon l'OMS.

En résumé, selon les méta-analyses et les études primaires retenues, le profil de méthylation du promoteur du gène $MGMT$ aurait une valeur pronostique chez les adultes atteints d'un GBM (OMS IV). Dans cette catégorie de patients, le profil d'hyperméthylation serait un facteur de bon pronostic, peu importe le type de traitement utilisé. La valeur pronostique chez les patients atteints de gliomes de moindre grade n'a pas été clairement démontrée par les méta-analyses. Cependant, les résultats du NOA-04, relatifs aux tumeurs de grade III, montrent que ce profil a une valeur pronostique chez les patients de cette catégorie.

Tableau 2 Valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez l'adulte atteint de gliome, évaluée dans des études primaires

ÉTUDE	PATIENT, N SUIVI MÉDIAN TRAITEMENT	PROFIL <i>MGMT</i> ^{met+} N (%) [*] MÉTHODE	VALEUR PRONOSTIQUE <i>MGMT</i> ^{met+} c. <i>MGMT</i> ^{met-}
Essais cliniques randomisés contrôlés (ERC) de phase III			
EORTC-NCIC <i>Hegi et al.</i> , 2005	N = 307, GBM (OMS IV) Suivi médian de 28 mois RT ou RT + TMZ	N = 92/206 (45 %) MS-PCR	SG : médianes de 18,2 mois c. 12,2 mois RRI décès : 0,41 (IC à 95 % : 0,29 – 0,57); p < 0,001 (MV)
NOA-04 <i>Wick et al.</i> , 2009	N = 318 (OMS III) Suivi de 54 mois RT ou PCV ou TMZ	N = 123/202 (61 %) MS-PCR	RRI progression [†] : 1,9 (IC à 95 % : 1,1 – 3,4); p = 0,0172 (MV)
RTOG-0525 <i>Gilbert et al.</i> , 2013	N = 833, GBM (OMS IV) Suivi médian de 32 mois TMZ ou DD-TMZ	N = 245/762 (32 %) MS-qPCR	SG : médianes de 21,2 mois c. 14,0 mois RRI décès : 0,58 (IC à 95 % : 0,48 – 0,69); p < 0,001 (UV) SSP : médianes de 8,7 mois c. 5,7 mois RRI progression : 0,61 (IC à 95 % : 0,52 – 0,73); p < 0,001 (UV)
Étude rétrospective effectuée à partir de cohortes de patients recrutés lors d'ERC de phase III			
MRC-BR12 <i>Collins et al.</i> , 2014	N = 447, AA (OMS III) et GBM (OMS IV) en échec à la suite de la RT (récurrents) PCV ou TMZ	N = 204/281 (73 %) MS-PSQ	RRI décès : 0,49 (IC à 95 % : 0,36 – 0,67); p < 0,001 (MV)

Abréviations : AA : astrocytome anaplasique (OMS III); DD-TMZ : *dose-dense schedules of temozolomide* (chimiothérapie à cycles rapprochés de TMZ); GBM : glioblastome multiforme (OMS IV); IC : intervalle de confiance; MS-PCR : PCR spécifique de la méthylation; MS-PSQ : pyroséquençage spécifique de la méthylation; MS-qPCR : PCR quantitatif spécifique de la méthylation; MV : analyse multivariée; N : nombre de patients; NS : non statistiquement significatif; p : valeur p du test statistique; PCV : procarbazine, lomustine et vincristine; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; SG : survie globale; SSP : survie sans progression; TMZ : témozolomide; UV : analyse univariée

Note : * La proportion de patients qui présentent un profil positif (*MGMT*^{met+}) a été calculée à partir du nombre de patients traités dont le profil était évaluable, à savoir que le tissu était disponible et le résultat, interprétable.

[†] Résultats de la comparaison du profil non-méthylé au profil méthylé (*MGMT*^{met-} c. *MGMT*^{met+}).

4.2.3 Gains de survie associés à un profil positif de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés de 65 ans et plus atteints de gliome, évalués par méta-analyse

Une méta-analyse évaluant la valeur pronostique et prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés de 65 ans et plus atteints d'un GBM a été répertoriée [Yin *et al.*, 2014]. Le descriptif de cette méta-analyse ainsi que l'évaluation de sa qualité méthodologique selon les critères d'AMSTAR-R sont fournis dans l'annexe B du présent avis. Les principaux résultats concernant la valeur pronostique de ce profil sont présentés dans le tableau 3 ci-après.

Tableau 3 Valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients de 65 ans et plus, évaluée par méta-analyse

MÉTA-ANALYSE	CARACTÉRISTIQUES DES ÉTUDES RETENUES (N)	PATIENTS (N)	VALEUR PRONOSTIQUE <i>MGMT</i> ^{MET+} C. <i>MGMT</i> ^{MET-}	HÉTÉROGÉNÉITÉ		BIAIS DE PUBLICATION
				I ²	Q-test	
Yin <i>et al.</i> , 2014	GBM (tous traitements) SG (13)	Total (1 119)	RRI décès : 0,55 (IC à 95 % : 0,42 – 0,73); p < 0,0001	71 %	p < 0,001	Absence
	Traitement incluant TMZ (12)	(635)	0,49 (IC à 95 % : 0,41 – 0,58); p < 0,001	29 %	p = 0,16	
	Traitement sans TMZ (4)	(368)	0,97 (IC à 95 % : 0,77 – 1,21); p = 0,760	3 %	p = 0,39	
	GBM (tous traitements) SSP (9)	Total (747)	RRI progression : 0,51 (IC à 95 % : 0,40 – 0,64); p < 0,0001	46 %	p = 0,06	
	Traitement incluant TMZ (9)	(477)	0,49 (IC à 95 % : 0,40 – 0,60); p < 0,001	15 %	n. d.	
	Traitement sans TMZ (3)	(237)	0,97 (IC à 95 % : 0,59 – 1,57); p = 0,890	58 %	n. d.	

Abréviations : GBM : glioblastome multiforme (OMS IV); n. d. : donnée non disponible; RRI : rapport de risque instantané; SG : survie globale; SSP : survie sans progression de la maladie; TMZ : témozolomide

Les résultats montrent un effet pronostique significatif, tous types de traitement confondus, soit une réduction du risque de décès de 45 % et du risque de progression de 49 % chez les patients dont le profil est positif ($MGMT^{met+}$). Cependant, les analyses de sous-groupes effectuées selon le traitement montrent que cet avantage se limite aux patients ayant reçu le TMZ, chez lesquels on observe une réduction du risque de décès de 51 % ($p < 0,001$), comparativement à 3 % ($p = 0,76$) chez ceux n'ayant pas reçu de TMZ. Le même effet a été observé concernant la survie sans progression. Les auteurs en concluent que la méthylation du promoteur du gène *MGMT* pourrait ne pas avoir d'incidence sur la survie des patients âgés qui n'ont pas reçu de TMZ [Yin *et al.*, 2014].

4.2.4 Gains de survie associés à un profil positif de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés atteints de gliome, évalués lors d'essais cliniques randomisés contrôlés

La recherche documentaire a permis de retenir deux essais cliniques randomisés contrôlés (ERC) de phase III au cours desquels la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés a été évaluée, soit les suivants :

- Malmström et ses collaborateurs [2012] : 342 patients de 60 ans et plus, atteints de glioblastome de grade OMS IV, assignés de façon aléatoire à recevoir un traitement de TMZ, de RT ou de RT hypofractionnée (RTHF);
- Wick et ses collaborateurs [2012] : 373 patients de 65 ans et plus, atteints de gliomes de grade OMS III et OMS IV, assignés de façon aléatoire à recevoir un traitement de TMZ ou de RT.

Le tableau 4 ci-après présente les principaux résultats de ces ERC.

Tableau 4 Valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés atteints de gliome, évaluée lors d'ERC

ERC	PATIENT, N SUIVI MÉDIAN TRAITEMENT	PROFIL <i>MGMT</i> ^{met+} N (%) * MÉTHODE	VALEUR PRONOSTIQUE <i>MGMT</i> ^{MET+} C. <i>MGMT</i> ^{MET-}
Nordic Elderly Malmström <i>et al.</i> , 2012	N = 342, ≥ 60 ans, GBM (OMS IV) TMZ ou RT ou RTHF	N = 91/203 (45 %) MS-qPCR	SG médiane (TMZ) : 9,7 mois vs 6,8 mois RRI décès : 0,56 (IC à 95 % : 0,34 – 0,93); $p = 0,02$ (MV) SG médiane (RT ou RTHF) : 8,2 mois c. 7,0 mois RRI décès : 0,97 (IC à 95 % : 0,69 – 1,38); $p = 0,81$ (MV)
NOA-08 Wick <i>et al.</i> , 2012	N = 373, ≥ 65 ans, OMS III et IV Suivi médian de 25,2 mois TMZ ou RT	N = 73/209 (35 %) MS-PCR	SG : médiane de 11,9 mois c. 8,2 mois RRI décès : 0,62 (IC à 95 % : 0,42 – 0,91); $p = 0,014$ (UV, MV NS) SSE : médiane de 5,7 mois c. 3,5 mois RRI événement : 0,50 (IC à 95 % : 0,36 – 0,68); $p < 0,0001$

Abréviations : c. : contre; IC : intervalle de confiance; MV : analyse multivariée; n. d. : donnée non disponible; NS : non significatif statistiquement; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; RTHF : radiothérapie hypofractionnée; SG : survie globale; SSE : survie sans événement; SSP : survie sans progression; TMZ : témozolomide; UV : analyse univariée

Note : *La proportion de patients ayant un profil positif ($MGMT^{met+}$) a été calculée à partir du nombre de patients traités dont le profil était évaluable, à savoir que le tissu était disponible et le résultat, interprétable.

L'étude de Malmström et ses collaborateurs [2012] (Nordic Ederly), dont l'objectif était d'évaluer les options de traitement des patients âgés de 60 ans et plus atteints de GBM (OMS IV), a montré la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients de cette catégorie. En effet, une survie globale de 9,7 mois, comparativement à 6,8 mois ($p = 0,02$), attribuée au profil positif ($MGMT^{met+}$) a été observée. Cet avantage n'a cependant pas été observé chez les patients traités par RT seule (régime standard ou hypofractionné), chez lesquels on a observé une survie globale de 8,2 mois, comparativement à 7,0 mois, correspondant à une réduction non significative du risque de décès de 3 % ($p = 0,81$) [Malmström *et al.*, 2012].

L'essai de Wick et ses collaborateurs [2012] (NOA-08), dont l'objectif principal était d'évaluer la survie globale chez des patients de 65 ans et plus atteints de gliomes de grade III et IV traités par TMZ, comparativement à ceux traités par RT seule, a également montré la valeur pronostique du profil de méthylation du promoteur de *MGMT*. Une médiane de survie globale de 11,9 mois attribuable au profil positif ($MGMT^{met+}$) a été obtenue, comparativement à 8,2 mois dans le cas de profil négatif ($MGMT^{met-}$) ($p = 0,014$). Un gain de survie sans événement⁴⁴ a également été observé, soit une médiane de 5,7 mois, comparativement à 3,5 mois ($p < 0,0001$), attribué au profil $MGMT^{met+}$ [Wick *et al.*, 2012].

En résumé, selon la méta-analyse et les études primaires retenues, le profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* aurait une valeur pronostique chez les patients âgés atteints d'un GBM (OMS IV). Dans cette catégorie de patients, l'hyperméthylation serait un facteur de bon pronostic, plus particulièrement chez les patients ayant reçu un traitement incluant le TMZ, ce qui laisse supposer une valeur prédictive de ce profil.

4.3 Valeur prédictive

4.3.1 Avantages d'un traitement associés au profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints de gliome, évalués lors d'études primaires

Les résultats de l'étude EORTC-NCIC ont montré que le gain de survie associé au profil $MGMT^{met+}$ des gliomes de grade IV était significatif (analyses univariées) chez les patients ayant reçu le TMZ combiné à la RT et que ce gain n'était pas observé chez les patients ayant reçu uniquement de la RT, ce qui laisse supposer une valeur prédictive de réponse aux agents alkylants. En effet, les analyses comparant différents traitements, chez les patients qui présentent un profil positif ($MGMT^{met+}$), montrent une médiane de survie globale de 21,7 mois chez les patients qui ont reçu le TMZ combiné à la RT, comparativement à 15,3 mois ($p = 0,007$) chez ceux qui ont reçu uniquement de la RT. Cet avantage a également été observé relativement à la survie sans progression, soit une médiane de 10,3 mois, comparativement à 5,9 mois ($p = 0,001$). Précisons que seuls les résultats des analyses univariées sont statistiquement significatifs. Les résultats des analyses ajustées en tenant compte de différents facteurs pronostiques, tels que l'âge, le type de chirurgie initiale, les traitements antérieurs de CT et l'indice de performance de Karnofsky⁴⁵, n'étaient pas statistiquement significatifs [Hegi *et al.*, 2005]. Les principaux résultats de cette étude

⁴⁴ Selon les auteurs, la survie sans événement correspond au délai d'apparition, à la suite de la chirurgie, d'une première progression chez les patients dont la maladie a progressé, ou à la mort chez les patients qui ne présentent aucune progression de la maladie.

⁴⁵ L'indice de performance de Karnofsky varie de 0 à 100, où 0 représente la mort et 100 représente la pleine santé. Il sert à évaluer les capacités d'un patient à survivre à un traitement de chimiothérapie [Karnofsky et Burchenal, 1949].

concernant la valeur prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* sont présentés dans le tableau 5 ci-après.

Tableau 5 Valeur prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes, évaluée lors d'un essai clinique randomisé contrôlé

ERC	PLAN DE L'ÉTUDE	PROFIL <i>MGMT</i> ^{met+} N (%) [*] MÉTHODE	VALEUR PRÉDICTIVE DU PROFIL <i>MGMT</i> ^{MET+}
EORTC-NCIC Hegi <i>et al.</i> , 2005	N = 307, GBM (OMS IV) Suivi médian de 28 mois RT ou RT + TMZ	N = 92/206 (45 %) MS-PCR	SG (TMZ + RT c. RT) : médianes de 21,7 mois c. 15,3 mois RRI décès : 0,51 (IC à 95 % : 0,31 – 0,84); p = 0,007 (UV) (analyses MV NS) SSP (TMZ + RT c. RT) : médianes de 10,3 mois c. 5,9 mois RRI progression : 0,48 (IC à 95 % : 0,31 – 0,75); p = 0,001 (UV)

Abréviations : GBM : glioblastome multiforme de grade IV; IC : intervalle de confiance; MS-PCR : PCR spécifique de la méthylation; MV : analyse multivariée; N : nombre de patients; NS : non significatif statistiquement; p : valeur p du test statistique; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; SG : survie globale; SSP : survie sans progression; TMZ : témozolomide; UV : analyse univariée

Note : ^{*}La proportion de patients ayant un profil positif (*MGMT*^{met+}) a été calculée à partir du nombre de patients traités dont le profil était évaluable, à savoir que le tissu était disponible et le résultat, interprétable.

4.3.2 Avantages d'un traitement associés au profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés de 65 ans et plus atteints d'un gliome, évalués lors d'une méta-analyse

La méta-analyse présentée dans la section 4.2.4 avait pour objectif d'évaluer à la fois la valeur pronostique et la valeur prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés de 65 ans et plus [Yin *et al.*, 2014]. Tel qu'il a été mentionné précédemment, le descriptif de cette méta-analyse ainsi que l'évaluation de sa qualité méthodologique selon les critères d'AMSTAR-R sont fournis dans l'annexe B du présent avis. Les principaux résultats concernant la valeur prédictive de ce profil sont présentés dans le tableau 6. Selon ces résultats, le profil *MGMT*^{met+} aurait une valeur prédictive de réponse positive au TMZ, comparativement à la RT seule, et ce, tant en ce qui concerne la survie globale qu'en ce qui concerne la survie sans progression. En effet, une réduction significative du risque de décès variant de 34 % à 67 % ainsi qu'une réduction du risque de progression variant de 51 % à 77 % ont été observées chez les patients atteints d'une tumeur de profil *MGMT*^{met+} et traités par TMZ. L'avantage le plus significatif a été obtenu chez les patients traités par RT combinée au TMZ, où l'on a observé une réduction du risque de décès de 67 % (p < 0,001) et une réduction du risque de progression de 77 % (p = 0,001). Cet avantage n'a pas été observé relativement au profil négatif (*MGMT*^{met-}) [Yin *et al.*, 2014].

Tableau 6 Valeurs prédictives du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients de 65 ans et plus, évaluées lors d'une méta-analyse

MÉTA-ANALYSE	CARACTÉRISTIQUES DES ÉTUDES RETENUES (N)	PATIENTS (N)	VALEUR PRÉDICTIVE <i>MGMT</i> ^{MET+}	HÉTÉROGÉNÉITÉ		BIAIS DE PUBLICATION
				I ²	Q-test	
Yin <i>et al.</i> , 2014	GBM, TMZ ⁺ c. RT, SG (5)	Total (293)	RRI décès : 0,48 (IC à 95 % : 0,36 – 0,65); p < 0,001	17 %	p = 0,31	Absence
	Traitement incluant TMZ c. RT (3)	(209)	0,66 (IC à 95 % : 0,47 – 0,93); p = 0,020	0 %	n. d.	
	Traitement incluant RT et TMZ c. RT (3)	(115)	0,33 (IC à 95 % : 0,21 – 0,52); p < 0,001	0 %	n. d.	
	GBM, TMZ ⁺ c. RT, SSP (3)	Total (187)	RRI progression : 0,35 (IC à 95 % : 0,20 – 0,62); p < 0,001	45 %	n. d.	
	Traitement incluant TMZ c. RT (2)	(118)	0,49 (IC à 95 % : 0,32 – 0,74); p < 0,001	0 %	n. d.	
	Traitement incluant RT et TMZ c. RT (2)	(98)	0,23 (IC à 95 % : 0,07 – 0,70); p = 0,010	46 %	n. d.	

Abréviations : GBM : glioblastome multiforme (OMS IV); IC : intervalle de confiance; n. d. : donnée non disponible; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; SG : survie globale; SSP : survie sans progression; TMZ : témozolomide; TMZ⁺ : tous les traitements comportant du témozolomide, seul ou combiné

4.3.3 Avantage d'un traitement associé au profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés atteints d'un gliome, évalué lors d'essais cliniques randomisés contrôlés

La valeur prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* a été étudiée en comparant un traitement de RT ou de CT à base d'agent alkylant (monothérapie) à une combinaison des deux traitements (polythérapie). La monothérapie est fréquemment utilisée chez les personnes âgées, parce que la polythérapie est souvent moins bien tolérée ou moins active chez ces patients [Weller *et al.*, 2012].

La valeur prédictive du profil *MGMT*^{met+} par rapport au type de traitement (TMZ ou RT) chez les patients âgés de 65 ans et plus a été mise en évidence par les résultats de l'étude NOA-08, qui rapporte une survie médiane sans évènement de 8,4 mois chez les patients traités au TMZ, comparativement à 4,6 mois chez ceux traités par RT seule, soit une réduction du risque de 47 % ($p = 0,01$). Cet avantage n'a cependant pas été observé relativement à la survie sans progression, soit une réduction non statistiquement significative du risque de décès de 31 % ($p = 0,139$) [Wick *et al.*, 2012]. Aucune valeur prédictive significative du profil *MGMT*^{met+} n'a été mise en évidence par les résultats du Nordic Elderly, qui indiquent une survie globale de 9,7 mois chez les patients ayant reçu un traitement de TMZ, comparativement à 8,2 mois chez ceux ayant reçu de la RT, ce qui correspond à une réduction non significative du risque de décès de 36 % ($p = 0,07$) [Malmström *et al.*, 2012]. Un résumé des principaux résultats de ces études concernant la valeur prédictive du profil *MGMT*^{met+} est présenté dans le tableau 7 ci-après.

Tableau 7 Valeur prédictive du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients de 60 ans et plus, évaluée lors d'essais cliniques randomisés contrôlés

ECR	PLAN DE L'ÉTUDE	PROFIL <i>MGMT</i> ^{met+} N (%) * MÉTHODE	VALEUR PRÉDICTIVE DU PROFIL <i>MGMT</i> ^{MET+}
NOA-08 <i>Wick et al.</i> , 2012	N = 373, ≥ 65 ans, OMS III et IV Suivi médian de 25,2 mois TMZ ou RT	N = 73/209 (35 %) MS-PCR	SG (TMZ c. RT) RRI décès : 0,69 (IC à 95 % : 0,35 – 1,16); $p = 0,139$ SSE (TMZ c. RT) : médiane de 8,4 mois c. 4,6 mois RRI évènement : 0,53 (IC à 95 % : 0,33 – 0,86); $p = 0,01$
Nordic Elderly <i>Malmström et al.</i> , 2012	N = 342, ≥ 60 ans, GBM (OMS IV) TMZ ou RT ou RTHF	N = 91/203 (45 %) MS-qPCR	SG (TMZ c. RT) : médiane de 9,7 mois c. 8,2 mois RRI décès : 0,64 (IC à 95 % : 0,39 – 1,04), $p = 0,07$

Abréviations : GBM : glioblastome multiforme (OMS IV); IC : intervalle de confiance; NS : non statistiquement significatif; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; RTHF : radiothérapie hypofractionnée; SG : survie globale; SSE : survie sans évènement; SSP : survie sans progression; TMZ : témozolomide

Note : *La proportion de patients qui présentent un profil positif (*MGMT*^{met+}) a été calculée à partir du nombre de patients traités dont le profil était évaluable, à savoir que le tissu était disponible et le résultat, interprétable.

En résumé, la valeur prédictive du profil *MGMT*^{met+} relativement à la réponse aux agents alkylants, tels que le TMZ, n'a pas été clairement démontrée chez les adultes atteints d'un GBM. Seuls les résultats des analyses univariées, obtenus par Hegi et ses collaborateurs

[2005] lors de l'étude EORTC-NCIC, sont statistiquement significatifs. Les résultats obtenus par analyses multivariées ne sont pas significatifs. Chez les personnes âgées de 65 ans et plus atteintes de GBM, le profil $MGMT^{met+}$ serait un facteur prédictif de réponse positive au TMZ, selon la méta-analyse retenue. Cette catégorie de patients pourrait ainsi tirer avantage d'un traitement adapté comportant du TMZ, dans les cas de tumeur dont le profil est positif ($MGMT^{met+}$), ou de RT seule, dans les cas de tumeurs dont le profil est négatif ($MGMT^{met-}$).

4.4 Validité analytique

À la suite de la revue de la littérature, deux études concernant l'évaluation de la validité analytique de la MS-PCR, comparativement à d'autres méthodes moléculaires, ont été retenues, soit les deux études suivantes :

- Quillien et ses collaborateurs [2012] : évaluation et comparaison de la validité analytique de quatre techniques moléculaires permettant la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*, soit la MS-PCR, la MS-PSQ, la MS-HRM et la MS-qPCR MethyLight;
- Lattanzio et ses collaborateurs [2015] : comparaison de validité analytique de la MS-PCR et de la MS-PSQ à partir de tissus frais et des tissus fixés prélevés chez 46 patients atteints d'un GBM.

4.4.1 Sensibilité et spécificité analytique

Quillien et ses collaborateurs [2012] ont réalisé des expériences de sensibilité analytique afin de comparer l'efficacité des différentes méthodes à l'étude. Pour ce faire, un échantillon témoin d'ADN méthylé a été dilué de façon à obtenir 13 échantillons dont les pourcentages théoriques de méthylation allaient de 0 % à 100 %. Chaque échantillon a été évalué 5 fois au cours de la même expérience. Les données comparant la MS-PCR, la MS-PSQ, la MS-HRM et la MS-qPCR sont présentées dans le tableau 8.

L'échantillon ayant la plus faible teneur en ADN méthylé, soit 2,5 %, a donné un résultat positif, tant par la méthode de MS-PCR que par la méthode de MS-HRM. Les méthodes de MS-PSQ et de qPCR MethyLight ont permis d'obtenir des teneurs de 4 % (CV, 14 %) et 5 % (CV, 13 %), respectivement. Ainsi, les 4 méthodes moléculaires permettent de détecter des degrés relativement faibles de méthylation. La méthode MS-HRM semble être la moins spécifique, les résultats obtenus à l'aide de cette méthode ayant été positifs à 3 reprises sur 5 essais (3/5 M) dans le cas de l'échantillon dont le pourcentage théorique de méthylation était inférieur au degré minimal [Quillien *et al.*, 2012]. Précisons que les techniques quantitatives telles que la MS-PSQ et la MS-qPCR exigent la détermination d'un seuil théorique de degré minimal de méthylation pour que l'échantillon puisse être classé « hyperméthylé » ou « hypométhylé » [Wick *et al.*, 2014].

Tableau 8 Sensibilité et spécificité analytiques de diverses techniques moléculaires de détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*, selon l'étude de Quillien et ses collaborateurs [2012]

% THÉORIQUE DE MÉTHYLATION	DÉTERMINATION DU PROFIL SELON LA MÉTHODE			
	MS-PCR	MS-PSQ, MOYENNE (CV)	MS-HRM	MS-qPCR MethyLight, MOYENNE (CV)
100 %	5/5 M	93 % (0,7 %)	5/5 M	89 % (11,9 %)
90 %	5/5 M	89 % (0,8 %)	5/5 M	74 % (14,1 %)
80 %	5/5 M	83 % (1,5 %)	5/5 M	60 % (7,2 %)
70 %	5/5 M	77 % (1,5 %)	5/5 M	62 % (7,3 %)
60 %	5/5 M	71 % (3,6 %)	5/5 M	50 % (9,8 %)
50 %	5/5 M	62 % (1,8 %)	5/5 M	41 % (9,7 %)
40 %	5/5 M	53 % (1,7 %)	5/5 M	33 % (10,0 %)
30 %	5/5 M	41 % (7,2 %)	5/5 M	25 % (4,0 %)
20 %	5/5 M	31 % (18,8 %)	5/5 M	20 % (13,6 %)
10 %	5/5 M	14 % (2,7 %)	5/5 M	15 % (19,4 %)
5 %	5/5 M	9 % (1,7 %)	5/5 M	7 % (12,6 %)
2,5 %	5/5 M	4 % (13,6 %)	5/5 M	5 % (12,7 %)
0 %	0/5 M	1 % (52,7 %)	3/5 M	0 % (n. d.)

Abréviations : CV : coefficient de variation; HRM : courbes de fusion à haute résolution (*high-resolution melt*); M : méthylé; MS : spécifique de la méthylation (*methylation specific*); n. d. : donnée non disponible; PCR : réaction de polymérisation en chaîne; PSQ : pyroséquençage; qPCR : PCR quantitatif en temps réel

La comparaison de la MS-PCR et de la MS-PSQ a également été effectuée par Lattanzio et ses collaborateurs [2015] sur 2 types d'échantillons provenant de 46 patients; 2 échantillons par patient ont été archivés, soit 1 échantillon congelé provenant de la résection chirurgicale et 1 échantillon biopsique FFPE (fixé dans le formaldéhyde et enrobé de paraffine). Des résultats sur le profil de tous les échantillons congelés et fixés ont été obtenus à l'aide de la MS-PSQ. Cependant, les résultats de 10,9 % (5/46) des échantillons FFPE n'ont montré aucune amplification par MS-PCR [Lattanzio *et al.*, 2015].

4.4.2 Précision

Quillien et ses collaborateurs [2012] ont également vérifié la précision des différentes techniques moléculaires à l'étude. L'ADN génomique de trois lignées cellulaires différentes (GB2, GB3 et GBM2) ont été utilisées afin d'évaluer la précision inter-essai (ADN évalué cinq fois au cours de la même expérience) et intra-essai (ADN évalué par dix expériences différentes) de chacune des quatre méthodes [Quillien *et al.*, 2012]. Les résultats sont présentés dans le tableau 9 ci-après.

Tableau 9 Précision de diverses techniques moléculaires de détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*, selon l'étude de Quillien et ses collaborateurs [2012]

ÉCHANTILLONS	MS-PCR	MS-PSQ, MOYENNE (CV)	HRM	MS-qPCR MethyLight MOYENNE (CV)
Reproductibilité				
GB2	1/5 M	7 % (35 %)	1/5 M	0 % (s. o.)
GB3	5/5 M	10 % (6 %)	5/5 M	0 % (s. o.)
GBM2	5/5 M	82 % (1 %)	5/5 M	28 % (36 %)
Répétabilité				
GB2	3/10 M	5 % (11 %)	0/10 M	0 % (s. o.)
GB3	9/10 M	9 % (6 %)	0/10 M	0 % (s. o.)
GBM2	10/10 M	77 % (7 %)	10/10 M	42 % (72 %)

Abréviations : CV : coefficient de variation; HRM : courbes de fusion à haute résolution (*high-resolution melt*); M : méthylé; MS : spécifique de la méthylation (*methylation specific*); PCR : réaction de polymérisation en chaîne; PSQ : pyroséquençage; qPCR : PCR quantitatif; s. o. : sans objet

Les résultats montrent que sur des échantillons dont le degré de méthylation est relativement faible (ex. : lignée GB2), la précision et la répétabilité des méthodes étaient diminuées. En effet, dans la plupart des cas, la lignée cellulaire GB2 s'est révélée « non méthylée » par MS-PCR, par MS-HRM et par MS-qPCR MethyLight. Dans le cas de la MS-PSQ, le degré moyen de méthylation obtenu était de 7 % (coefficient de variation (CV) de 35 %) concernant la précision intra-essai et de 5 % (CV de 11 %) concernant la précision inter-essai. Dans la plupart des analyses, la lignée GB3 s'est révélée « non méthylée » par MS-HRM et par MS-qPCR MethyLight. Elle s'est par contre révélée « méthylée » dans la majorité des analyses par MS-PCR, avec une précision de 5/5 (100 %) et une répétabilité de 9/10 (90 %). Dans le cas de la MS-PSQ, le degré moyen de méthylation obtenu était de 10 % (CV de 6 %) et 9 % (CV de 6 %) concernant la précision intra-essai et inter-essai, respectivement. Concernant les degrés élevés de méthylation (ex. : lignée GBM2), la précision et la répétabilité des méthodes étaient plus grandes. En effet, la lignée GBM2 s'est révélée « méthylée » dans toutes les analyses par MS-PCR et par MS-HRM. Les pourcentages moyens de méthylation obtenus par la MS-qPCR MethyLight étaient de 28 % (CV de 36 %) et 42 % (CV de 72 %), et ceux obtenus par la MS-PSQ étaient de 82 % (CV de 1 %) et 77 % (CV de 7 %) concernant la précision intra-essai et inter-essai, respectivement.

4.4.3 Concordance

Dans les travaux de Lattanzio et ses collaborateurs [2015], la comparaison de la MS-PCR et de la MS-PSQ montre que la concordance plus grande est obtenue à partir des échantillons congelés (88,5 %, 23/26 échantillons), alors que la comparaison des deux types de tissus montre une meilleure concordance à l'aide de la méthode MS-PSQ (76,7 %, 23/30 échantillons). Au total, 28 % (13/46) des échantillons ont donné des résultats discordant entre la MS-PCR et la MS-PSQ.

4.5 Données fournies par le demandeur

Les données de validation de l'analyse utilisant des amorces fluorescentes et la détection des produits amplifiés par électrophorèse capillaire, comparativement à la méthode de

détection par gel d'agarose, ont été fournies par le demandeur. Ainsi, 8 séries d'analyses distinctes ont été effectuées à partir des mêmes échantillons sur une période de 30 jours (répétabilité). Au total, 22 échantillons provenant de patients, 1 échantillon témoin méthylé, 1 échantillon témoin non méthylé et 1 échantillon témoin sans ADN ont été utilisés dans chacune des séries d'analyses. Les pourcentages de concordance globale entre les deux méthodes (équivalent de précision), des tests positifs (équivalent de sensibilité) et des tests négatifs (équivalent de spécificité) étaient de 100 %. Les données de validation sont fournies dans l'annexe C du présent avis.

Afin d'évaluer la reproductibilité de la détection des amplicons par électrophorèse capillaire, 10 répliquats des témoins positifs et négatifs ont été analysés. Les amplicons correspondant au promoteur du gène *MGMT* non méthylé ont une longueur de 93 paires de bases (pb) et ceux correspondant au promoteur méthylé ont une longueur de 84 pb. Des écarts de 0,4 pb et de 0,05 pb ont été observés dans la précision de lecture des échantillons témoins d'ADN méthylé et non méthylé, respectivement. Ces écarts sont compatibles avec ceux rapportés par le fabricant, Applied Biosystems, concernant la précision de lecture du séquenceur ABI 3130, l'appareil ayant servi à réaliser l'électrophorèse capillaire de cette analyse. La détection par électrophorèse capillaire des produits amplifiés ainsi que les données de reproductibilité sont respectivement présentées dans les annexes D et E de cet avis.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire tient compte des coûts directs et indirects associés à l'introduction dans le *Répertoire* de l'analyse permettant la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* par MS-PCR.

L'évaluation des coûts directs est présentée dans le tableau 10 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Selon le demandeur, respectivement 250, 275 et 300 demandes d'analyses par des établissements du Québec sont prévues au cours de chacune des 3 premières années suivant l'ajout du test dans le *Répertoire*.
- Considérant que près de 30 % de ces analyses sont effectuées par le demandeur pour des établissements hors Québec, il est estimé que respectivement 178, 195 et 213 analyses seront réalisées pour des établissements du Québec au cours des 3 premières années suivant l'ajout du test dans le *Répertoire*.
- Ces analyses représentent 100 % des analyses prévues concernant les établissements du Québec.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur concernant l'évaluation du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* est de 131,3.

Tableau 10 Coûts directs associés à l'ajout de l'analyse du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* par MS-PCR dans le *Répertoire*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre prévu d'analyses	178	195	213	586
Coûts directs associés	23 316 \$	25 648 \$	27 979 \$	76 943 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement associés à l'introduction de l'analyse du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* par MS-PCR dans le *Répertoire* sont estimés à un total de 76 943 \$ pour les 3 premières années. L'évaluation des coûts indirects est réalisée à l'aide de l'algorithme de traitement décrit dans les annexes F et G du présent avis. Des économies provenant essentiellement des coûts de TMZ qui sont évités chez les patients ayant un profil négatif (*MGMT*^{met-}) sont prévues. En effet, en évitant d'utiliser cet agent alkylant chez les patients qui n'y répondraient pas, une économie de 12 355 \$ par traitement pourrait être réalisée. Toutefois, en considérant que les patients atteints d'un gliome de grade II ou III (*MGMT*^{met-}) recevraient la CT par PCV (procarbazine, lomustine et vincristine), les économies prévues relativement à cette catégorie de patients seraient moindres et sont plutôt estimées à 5 733 \$ par patient. Donc, en effectuant l'évaluation du profil par MS-PCR chez les patients atteints de gliomes de grades II à IV, une réduction des coûts de traitement de 1,3 M\$, de 1,4 M\$ et de 1,5 M\$ par année est prévue, respectivement, concernant chacune des 3 prochaines années suivant l'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*, soit une économie totale de 4,2 M\$.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La classification actuelle des tumeurs cérébrales, soit celle de l'OMS (2007), fondée sur des critères histopathologiques, est en pleine évolution. Une refonte de cette classification est attendue en 2016; elle devrait s'appuyer davantage sur des marqueurs moléculaires tels que la méthylation du promoteur du gène *MGMT*, la co-délétion des chromosomes 1p/19q et les mutations ponctuelles des gènes *IDH1* et *IDH2*, entres autres [Louis *et al.*, 2014].

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

L'Alberta Health Services (AHS) recommande, depuis septembre 2012, la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints de gliome [AHS, 2012]. Aucun test n'est précisément mentionné, mais la recommandation est appuyée par les études originales de Stupp et ses collaborateurs [2005] et de Hegi et ses collaborateurs [2005], qui utilisent la MS-PCR.

Selon la Société européenne d'oncologie médicale, l'ESMO (European Society for Medical Oncology), le diagnostic histologique des gliomes de haut grade est obligatoire et doit inclure une quantité suffisante de tissu pour permettre de réaliser la caractérisation moléculaire de la tumeur. La détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*, la détection de mutations dans les gènes de l'isocitrate déshydrogénase (*IDH1* et *IDH2*) ainsi que la co-délétion 1p et 19q sont, en général, effectuées en fonction du contexte clinique et histologique. Chez les patients âgés atteints d'une tumeur dont le profil est positif (*MGMT*^{met+}), la CT exclusive par TMZ peut être considérée, tandis que la RT hypofractionnée est le traitement de choix pour traiter les patients atteints d'une tumeur dont le profil est négatif (*MGMT*^{met-}) [Lai *et al.*, 2015].

De même, le NCCN (National Comprehensive Cancer Network) recommande l'utilisation du TMZ seul chez les patients de plus de 70 ans ainsi que chez les patients présentant un score

inférieur à 60 sur l'échelle de Karnofsky, lorsque le profil de la tumeur est positif ($MGMT^{met+}$) [NCCN, 2015].

L'Association européenne de neuro-oncologie, l'EANO (European Association of Neuro-Oncology) recommande également l'utilisation du TMZ, avec ou sans RT, selon le profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés de 65 à 70 ans atteints d'un GBM [Weller *et al.*, 2014].

Le CAP (College of American Pathologist) a introduit, en 2013, le programme d'analyse de contrôle de qualité d'analyse des gliomes (code du programme : GLI). Ce programme comprend la détermination de la méthylation du promoteur du gène *MGMT*, la détection des mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* ainsi que la délétion 10q (gène *PTEN*). Les laboratoires certifiés par le CAP sont soumis à un audit, deux fois par année, relativement à ces analyses⁴⁶.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* fait partie de l'algorithme de base de diagnostic des gliomes chez l'adulte. Le résultat de cette analyse serait nécessaire au choix du traitement de première ligne des gliomes, parce que ce profil est un biomarqueur pronostique et prédictif de la sensibilité tumorale aux agents alkylants tels que le témozolomide (TMZ).

Selon les données probantes, le profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* aurait une valeur pronostique chez les adultes atteints de gliomes de grade III et IV. Dans cette catégorie de patients, le profil hyperméthylé serait un facteur de bon pronostic, peu importe le type de traitement utilisé. Chez les personnes âgées de 65 ans et plus atteintes de GBM, le profil hyperméthylé serait un facteur de bon pronostic, principalement chez ceux ayant reçu un traitement comportant du TMZ. Dans cette catégorie de patients, un profil positif de méthylation ($MGMT^{met+}$) indiquerait également une valeur prédictive de réponse positive au TMZ. Les patients âgés pourraient ainsi tirer avantage d'un traitement adapté comportant du TMZ, dans les cas de tumeur de profil positif ($MGMT^{met+}$), ou de radiothérapie (RT) seule, dans les cas de tumeurs de profil négatif ($MGMT^{met-}$).

La MS-PCR est une technique qualitative simple, accessible, peu coûteuse et reconnue. Sa sensibilité est comparable à celle d'autres techniques qualitatives et quantitatives, mais sa spécificité serait inférieure à celle de certaines techniques quantitatives, dont la MS-PSQ.

Les coûts directement associés à l'introduction de l'analyse du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* par MS-PCR dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* sont estimées à 76 943 \$, et ce, dans les 3 premières années. Une réduction des coûts de traitement de 1,3 M\$, de 1,4 M\$ et de 1,5 M\$ respectivement est prévue pour chacune des 3 années suivant l'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*, soit une économie totale de 4,2 M\$.

L'ESMO, l'EANO ainsi que le NCCN recommandent la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients atteints de gliome. Dans leurs recommandations, ils précisent que chez les patients âgés atteints d'une tumeur dont le

⁴⁶ Information tirée du site Web GLIOMA - GLI du College of American Pathologists, disponible à : https://estore.cap.org/OA_HTML/ibeCCtpltmDspRte.jsp?section=10202&item=344606&sitex=10020:22372:US.

profil est positif ($MGMT^{met+}$), la chimiothérapie seule par TMZ peut être considérée, tandis que la RT est le traitement de choix pour traiter les patients dont le profil est négatif ($MGMT^{met-}$). Au Canada, l'AHS recommande, depuis septembre 2012, la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les adultes atteints de gliome. Finalement, le CAP a introduit, en 2013, le programme de contrôle de qualité d'analyse des gliomes (code du programme : GLI). Ce programme comprend notamment la détermination du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Méthylation du promoteur du gène de l'O⁶-méthylguanine-ADN méthyltransférase (*MGMT*) par PCR spécifique de la méthylation

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

- ✓ Réévaluation de l'avis publié en avril 2013
- ✓ Un suivi du nombre de tests réalisés (volumétrie) ainsi que des résultats de cette analyse est recommandé.

BIBLIOGRAPHIE

- Alberta Health Services (AHS). Glioblastoma. Clinical Practice Guideline CNS-001 Version 3. Edmonton, AB : AHS; 2012. Disponible à : <http://www.albertahealthservices.ca/assets/info/hp/cancer/if-hp-cancer-guide-cns001-glioblastoma.pdf>.
- Chen C, Wang F, Cheng Y, Ren X, Huai H. Predictive value of MGMT promoter methylation status in Asian and Caucasian patients with malignant gliomas: A meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(4):6553-62.
- Chen Y, Hu F, Zhou Y, Chen W, Shao H, Zhang Y. MGMT promoter methylation and glioblastoma prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Arch Med Res* 2013;44(4):281-90.
- Collins VP, Ichimura K, Di Y, Pearson D, Chan R, Thompson LC, et al. Prognostic and predictive markers in recurrent high grade glioma; results from the BR12 randomised trial. *Acta Neuropathol Commun* 2014;2:68.
- Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res* 1999;59(4):793-7.
- Gilbert MR, Wang M, Aldape KD, Stupp R, Hegi ME, Jaeckle KA, et al. Dose-dense temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: A randomized phase III clinical trial. *J Clin Oncol* 2013;31(32):4085-91.
- Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352(10):997-1003.
- Herranz M, Padin-Iruegas ME, Martinez-Lago N, Losada SA, Raña-Diez P, Vazquez EB, et al. HIN-1: A new epigenetic biomarker crucial for therapy selection in glioblastoma multiforme. *Mol Neurobiol* 2015;53(3):1802-7.
- Hess KR, Broglio KR, Bondy ML. Adult glioma incidence trends in the United States, 1977-2000. *Cancer* 2004;101(10):2293-9.
- Karnofsky DA et Burchenal JH. The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. Dans : MacLeod CM, réd. *Evaluation of chemotherapeutic agents*. New York, NY : Columbia University Press; 1949 : 191-205.
- Kung J, Chiappelli F, Cajulis OO, Avezova R, Kossan G, Chew L, Maida CA. From systematic reviews to clinical recommendations for evidence-based health care: Validation of revised assessment of multiple systematic reviews (R-AMSTAR) for grading of clinical relevance. *Open Dent J* 2010;4:84-91.

- Lai IC, Shih PH, Yao CJ, Yeh CT, Wang-Peng J, Lui TN, et al. Elimination of cancer stem-like cells and potentiation of temozolomide sensitivity by Honokiol in glioblastoma multiforme cells. *PLoS One* 2015;10(3):e0114830.
- Lattanzio L, Borgognone M, Mocellini C, Giordano F, Favata E, Fasano G, et al. MGMT promoter methylation and glioblastoma: A comparison of analytical methods and of tumor specimens. *Int J Biol Markers* 2015;30(2):e208-16.
- Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, et al. International Society Of Neuropathology—Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol* 2014;24(5):429-35.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114(2):97-109.
- Malmström A, Gronberg BH, Marosi C, Stupp R, Frappaz D, Schultz H, et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: The Nordic randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13(9):916-26.
- Mikeska T, Bock C, Do H, Dobrovic A. DNA methylation biomarkers in cancer: Progress towards clinical implementation. *Expert Rev Mol Diagn* 2012;12(5):473-87.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Central nervous system cancers, Version 1.2015. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2015. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- Olson RA, Brastianos PK, Palma DA. Prognostic and predictive value of epigenetic silencing of MGMT in patients with high grade gliomas: A systematic review and meta-analysis. *J Neurooncol* 2011;105(2):325-35.
- Quillien V, Lavenu A, Karayan-Tapon L, Carpentier C, Labussiere M, Lesimple T, et al. Comparative assessment of 5 methods (methylation-specific polymerase chain reaction, MethyLight, pyrosequencing, methylation-sensitive high-resolution melting, and immunohistochemistry) to analyze O6-methylguanine-DNA-methyltransferase in a series of 100 glioblastoma patients. *Cancer* 2012;118(17):4201-11.
- Schneider T, Mawrin C, Scherlach C, Skalej M, Firsching R. Gliomas in adults. *Dtsch Arztebl Int* 2010;107(45):799-807.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2015. Sujet particulier : prévisions concernant le fardeau futur du cancer au Canada. Toronto, ON : SCC; 2015. Disponible à : <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2015-FR.pdf?la=fr-CA>.
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352(10):987-96.

- Weller M, van den Bent M, Hopkins K, Tonn JC, Stupp R, Falini A, et al. EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. *Lancet Oncol* 2014;15(9):e395-e403.
- Weller M, Stupp R, Hegi ME, van den Bent M, Tonn JC, Sanson M, et al. Personalized care in neuro-oncology coming of age: Why we need MGMT and 1p/19q testing for malignant glioma patients in clinical practice. *Neuro Oncol* 2012;14(Suppl 4):iv100-8.
- Wick W, Weller M, van den Bent M, Sanson M, Weiler M, von Deimling A, et al. MGMT testing—The challenges for biomarker-based glioma treatment. *Nat Rev Neurol* 2014;10(7):372-85.
- Wick W, Platten M, Meisner C, Felsberg J, Tabatabai G, Simon M, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: The NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13(7):707-15.
- Wick W, Hartmann C, Engel C, Stoffels M, Felsberg J, Stockhammer F, et al. NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide. *J Clin Oncol* 2009;27(35):5874-80.
- Yang H, Wei D, Yang K, Tang W, Luo Y, Zhang J. The prognosis of MGMT promoter methylation in glioblastoma patients of different race: A meta-analysis. *Neurochem Res* 2014;39(12):2277-87.
- Yin AA, Zhang LH, Cheng JX, Dong Y, Liu BL, Han N, Zhang X. The predictive but not prognostic value of MGMT promoter methylation status in elderly glioblastoma patients: A meta-analysis. *PLoS One* 2014;9(1):e85102.
- Zhang W, Zhang J, Yan W, You G, Bao Z, Li S, et al. Whole-genome microRNA expression profiling identifies a 5-microRNA signature as a prognostic biomarker in Chinese patients with primary glioblastoma multiforme. *Cancer* 2013;119(4):814-24.

ANNEXE A

Descriptif des méta-analyses ayant évalué la valeur pronostique du profil de la méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients adultes atteints d'un gliome

MÉTA-ANALYSE	*COTE AMSTAR-R	CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	SOURCES	PÉRIODE DE PUBLICATION	DIAGNOSTIC, PATIENTS	N ÉTUDES (N PATIENTS)
Chen <i>et al.</i> , 2015	35/44	1) Cohorte clinique; 2) études portant sur la valeur pronostique de la méthylation du promoteur du gène <i>MGMT</i> ; 3) patients atteints d'un GBM; 4) données publiées sur la SG et la SSP	PubMed, Embase, Cochrane Library, Web of Science, CBM	2004 au 20-10-2014	GBM	32 (2 377)
Yang <i>et al.</i> , 2014	32/44	1) Articles traitant de corrélation entre le promoteur du gène <i>MGMT</i> dont le profil de méthylation est positif et les patients de différentes races atteints d'un GBM; 2) mention des RRI, IC à 95 %; 3) aucune restriction de langue de publication	PubMed, OVID, Science Direct, Springer Link, EBSCO, CNKI, Embase	1994 à 2014	GBM	50 (6 309)
Zhang <i>et al.</i> , 2013	28/44	1) Études de cohorte publiées; 2) corrélation entre la méthylation du promoteur du gène <i>MGMT</i> et les données de SG et SSP; 3) méthylation déterminée par MS-PCR; 4) patients atteints de GBM ayant subi une résection chirurgicale de la tumeur; 5) analyse moléculaire effectuée à partir de la tumeur; 6) données suffisantes pour le calcul des RRI de SG et SSP	PubMed, CNKI	2000 au 20-06-2012	GBM	30 (2 986)
Chen <i>et al.</i> , 2013	36/44	1) Études observationnelles; 2) corrélation entre la méthylation du promoteur du gène <i>MGMT</i> et le pronostic des GHG; 3) données sur RRI, IC à 95 %; 4) études non reliées; 5) priorisation de l'étude la plus importante ou de la plus récente dans les cas d'articles comportant les mêmes sources populationnelles; 6) publications en anglais	PubMed, Embase, Cochrane databases	01-2003 au 01-11-2011	GBM, AA, ODA, OAA	24 (2 524)
Olson <i>et al.</i> , 2011	30/44	1) Études de corrélation entre le profil de méthylation du promoteur du gène <i>MGMT</i> et la SG; 2) sujets humains atteints de GHG traités par chirurgie et, dans certains cas, par CT, RT ou CRT pour traitement adjuvant; 3) données sur le RRI ajusté par analyse multivariée; 4) études publiées en anglais; 5) exclusion des études de cas, des études évaluant le degré de l'expression de la protéine MGMT et des études où les patients sont assignés à des traitements différents selon le profil de méthylation du promoteur du gène <i>MGMT</i> .	MEDLINE, Embase	Jusqu'au 07-2010	GHG (III-IV)	20 (2 018)

Abréviations : AA : astrocytome anaplasique; CT : chimiothérapie; CRT : chimioradiothérapie; GBM : glioblastome multiforme; GHG : gliome de haut grade; IC : intervalle de confiance; MS-PCR : PCR spécifique de la méthylation; OAA : oligoastrocytome anaplasique; ODA : oligodendrogliome anaplasique; RRI : rapport de risque instantané; RT : radiothérapie; SG : survie globale; SSP : survie sans progression

ANNEXE B

Descriptif de la méta-analyse ayant évalué la valeur pronostique et la valeur prédictive de la méthylation du promoteur du gène *MGMT* chez les patients âgés atteints d'un gliome

MÉTA-ANALYSE	*COTE AMSTAR-R	CRITÈRES DE SÉLECTION DES ÉTUDES	SOURCES	PÉRIODE DE PUBLICATION	DIAGNOSTIC, PATIENTS	N ÉTUDES (N PATIENTS)
Yin <i>et al.</i> , 2014	39/44	1) Études de corrélation entre la méthylation du promoteur du gène <i>MGMT</i> et des données de survie; 2) GBM nouvellement diagnostiqué; 3) patients ≥ 65 ans	PubMed, Embase, Cochrane databases	n. d. (aucune restriction de date)	GBM, ≥ 65 ans	13 (1 175)

Abréviations : GBM : glioblastome multiforme; N : nombre; n. d. : donnée non disponible

ANNEXE C

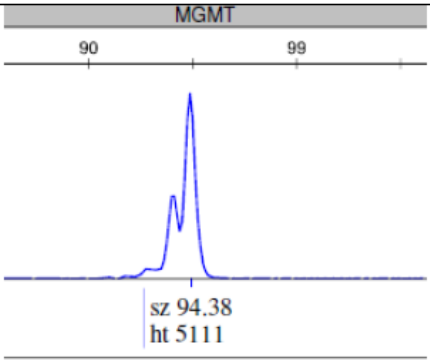
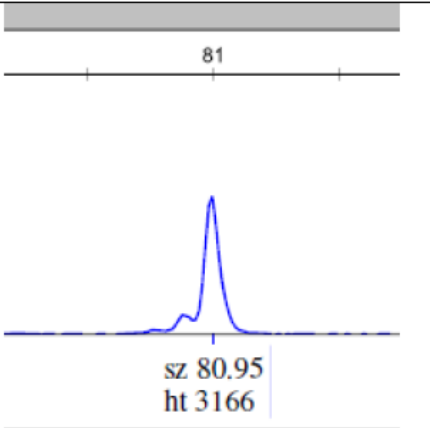
Pourcentage de concordance globale (équivalent de précision), des tests positifs (équivalent de sensibilité) et négatifs (équivalent de spécificité) entre les méthodes d'électrophorèse capillaire et par gel d'agarose (en anglais)

		Acrylamide gel (comparative method)		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
Capillary electrophoresis (Candidate method)	POSITIVE	14-a	0- b	14
	NEGATIVE	0-c	8-d	8
	Total	14 (a+c)	8(b+d)	22
PPA	Percent positive Agreement (New/Old)=	100%*14/14= 100%		
PNA	Percent negative Agreement (New/Old)=	100%*8/8= 100%		
OPA	Overall Percent Agreement	100%*22/22=100%		
A 95% score confidence for PPA is calculated as:				
Lower		Upper		
[100 X (Q _{1,ppa} -Q _{2,ppa})/Q _{3,ppa} , 100x (Q _{1,ppa} +Q _{2,ppa})/Q _{3,ppa}]		Lower		Upper
Q _{1,ppa} = 2a + 1.96 ² = 2a + 3.84		78,5		100,0
Q _{2,ppa} = 1.96√1.96 ² + 4ac/(a+c) = 1.96√3.84 + 4ac/(a+c)				
Q _{3,ppa} = 2(a + c + 1.96 ²) = 2(a + c + 7.68				
Then,				
Q _{1,ppa} = 28+ 1.96 ² = 28+ 3.84 = 31.84				
Q _{2,ppa} = 1.96√1.96 ² + 4ac/(a+c) = 1.96√3.84 + 4x14x0/(14) = 3.84				
Q _{3,ppa} = 2(a + c + 1.96 ²) = 2(a + c) + 7.68 = 2(14) + 7.68 = 35.68				
A 95% score confidence interval for NPA is :				
[100 X (Q _{1,npa} -Q _{2,npa})/Q _{3,npa} , 100x (Q _{1,npa} +Q _{2,npa})/Q _{3,npa}]		Lower		Upper
Q ₁ npa 31,84		78,5		100,0
Q ₂ npa 3,84				
Q ₃ npa 35,68				
A 95% score confidence interval for OPA is :				
		Lower		Upper
		85		100
Q1	2(a+d)+3.84	47,84		
Q2	1.96√(3.98+4(a+d)(b+c)/n	3,84		
Q3	2n+7.68	51,68		

Tiré du manuel de méthodes et procédés (fourni par le demandeur) intitulé *Molecular pathology procedure: Validation MGMT test by capillary electrophoresis*, Version No. 1, Effective date: 2013-06-01.

ANNEXE D

Détection des produits amplifiés par électrophorèse capillaire (en anglais)

Expected size of control amplified products for methyl specific PCR			
Target	Control DNA	Product Size in basepairs	CE example
MGMT Promoter	Human Genomic Unmethylated	Expected: 93 bp Observed: 94.38 bp	
	Human Genomic Methylated	Expected: 81 bp Observed: 80.95 bp	
Note: A methylated peak can be observed in unmethylated control depending on the batch of Human genomic DNA. Cells can have small levels of methylation on MGMT promoter and is considered normal. The same phenomenon is observed in methylated control a small unmethylated peak can be observed in methylated controls.			

Tiré du manuel de méthodes et procédés (fourni par le demandeur) intitulé *Molecular pathology procedure: Validation MGMT test by capillary electrophoresis*, Version No. 1, Effective date: 2013-06-01.

ANNEXE E

Reproductibilité de la méthode de détection des amplicons par électrophorèse capillaire (en anglais)

Reproducibility for positives controls using capillary electrophoresis method

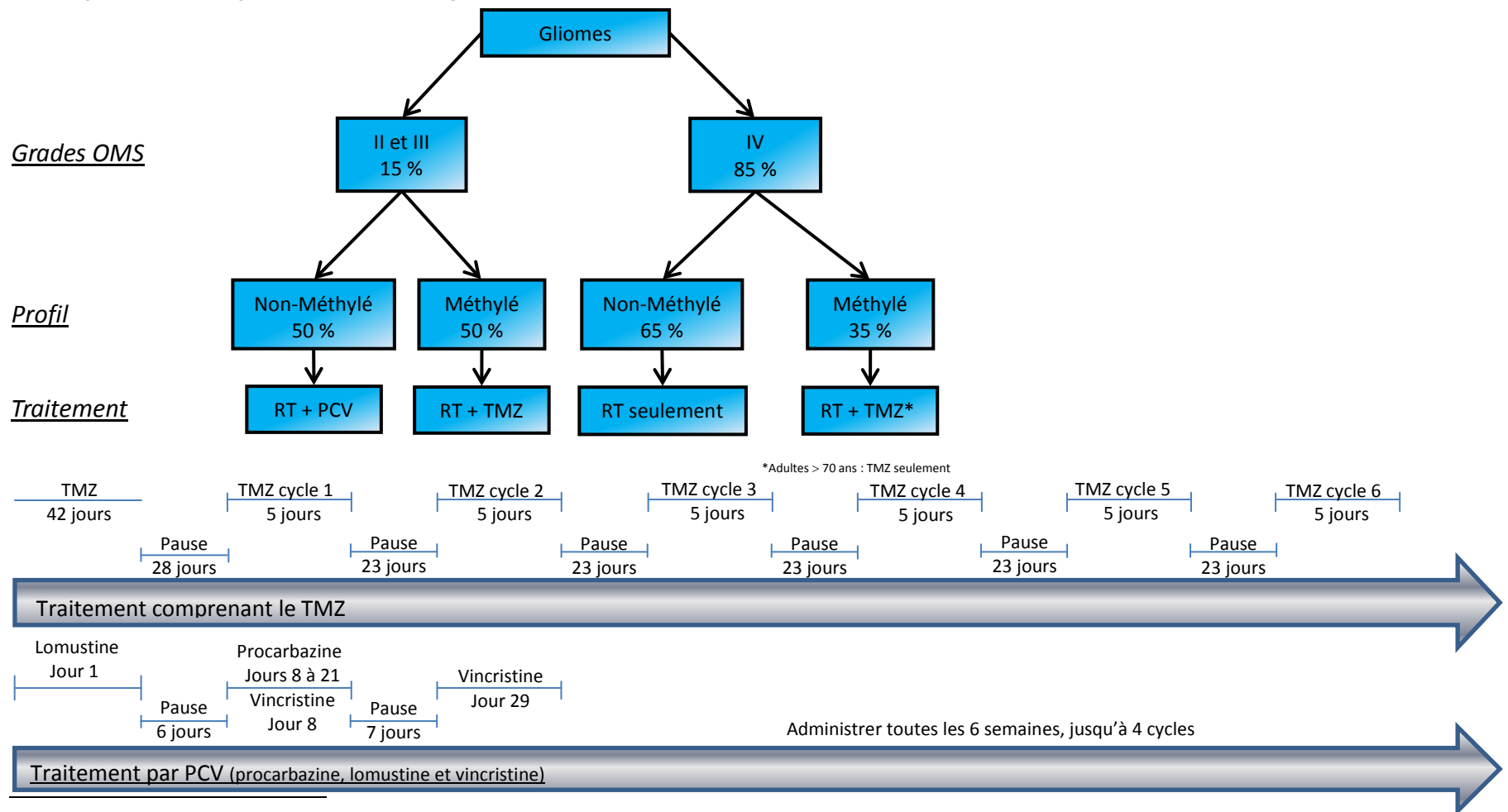
CONTROL		Methylated	Unmethylated
Run/Expected size		81	93
05/04/2013	1	81	93,71
13/04/2013	2	80,93	93,71
11/04/2013	3	81,05	93,71
15/04/2013	4	81,01	93,76
22/04/2013	5	80,99	93,74
29/04/2013	6	81	93,71
06/05/2013	7	80,78	93,62
24/05/2013	8	80,94	93,78
31/05/2013	9	79,84	93,66
06/06/2013	10	80,96	94,4

Average	80,80142857	93,71125
Deviation standard	0,432875216	0,051944338
Coefficient variation	0,005357272	0,000554302

Tiré du manuel de méthodes et procédés (fourni par le demandeur) intitulé *Molecular pathology procedure: Validation MGMT test by capillary electrophoresis*, Version No. 1, Effective date: 2013-06-01.

ANNEXE F

Algorithme de traitement des patients atteints de gliomes de grade II à IV en fonction du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*⁴⁷



⁴⁷ Algorithme validé par le Dr Kevin Pettreca, neurochirurgien, chef du service de neurochirurgie de l'Institut et hôpital neurologiques de Montréal.

ANNEXE G

Régimes posologiques des chimiothérapies utilisées pour le traitement des gliomes de grade II à IV en fonction du profil de méthylation du promoteur du gène *MGMT*

TMZ : témozolomide

Traitement combiné avec RT en concomitance :

75 mg/m²/jour x 42 jours

Pause : 4 semaines (28 jours)

Traitement d'entretien

1^{er} cycle : 150 mg/m²/jour x 5 jours

2^e au 6^e cycle: 200 mg/m²/jour x 5 jours

Pause de 23 jours entre chacun des cycles

Adulte de 1,73 m²

Le coût d'un traitement de TMZ est établi selon les prix indiqués dans la *Liste de médicaments* de la RAMQ (version de février 2016).

PCV : procarbazine, lomustine et vincristine

Traitement combiné avec RT en concomitance :

lomustine : 110 mg/m² par voie orale (VO) au jour 1

+

procarbazine : 60 mg/m² VO les jours 8 à 21

+

vincristine : 1,4 mg/m² par intraveineuse (IV) les jours 8 et 29 (ne pas dépasser 2 mg/dose)

Administrer toutes les 6 semaines, jusqu'à 4 cycles

Adulte de 1,73 m²

Les posologies du protocole PCV sont établies à partir des données du Groupe d'étude en oncologie du Québec (GEOQ). Les coûts associés à la thérapie PCV sont établis selon les prix négociés des regroupements d'achats des établissements de santé de la région de Montréal.

DÉTECTION DE MUTATIONS DANS LES GÈNES *IDH1* (R132) ET *IDH2* (R172) PAR SNaPshot^{MC} (RÉFÉRENCE – 2015.03.01)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Centre universitaire de santé McGill (CUSM)

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 2 mai 2016

1.3 Date de publication de l'avis : 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le D^r David S. Rosenblatt 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 la validation de cet avis, l'expert consulté est le D^r Benjamin Ellezam, M.D., PhD, FRCPC, neuropathologiste au CHU Sainte-Justine

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Détection de mutations dans les gènes *IDH1* (R132) et *IDH2* (R172) par SNaPshot^{MC}

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

Une réaction de polymérase en chaîne (PCR) est effectuée en premier lieu avec deux paires d'amorces spécifiques au quatrième exon des gènes *IDH1* et *IDH2*. La réaction de SNaPshot^{MC} est ensuite réalisée sur les amplicons. Comme dans le séquençage de Sanger, l'élongation de l'amorce s'arrête si le nucléotide à incorporer dans la chaîne n'est pas disponible ou si ce dernier ne contient pas d'extrémité 3'OH (didésoxyribonucléoside ou ddNTP) [Sanger *et al.*, 1977]. Dans le cas présent, on parle d'un mini-séquençage, parce que l'élongation de l'amorce (non marquée) se fait sur une seule base (*single base extension* ou élongation de base unique).

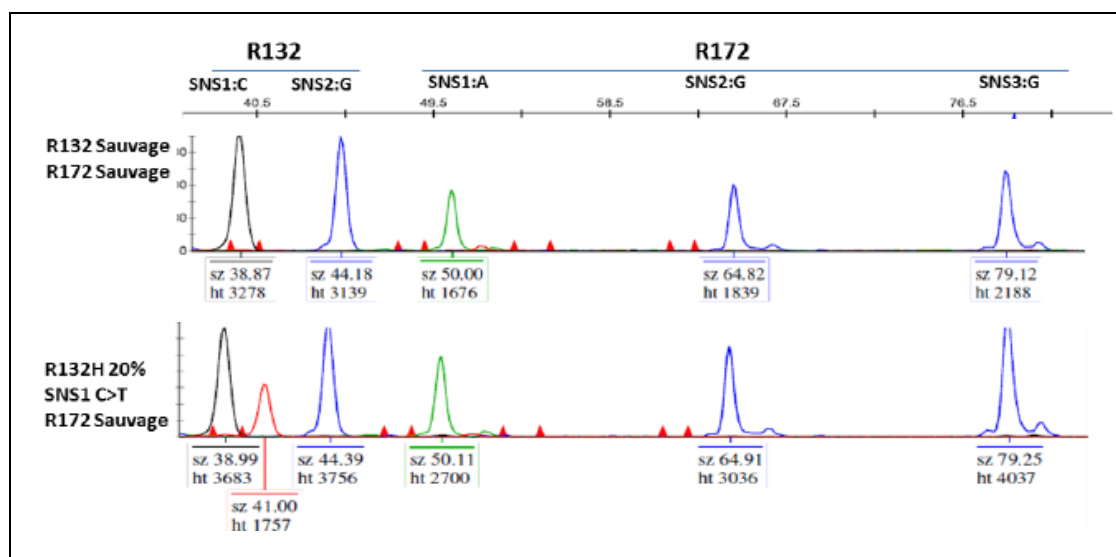
L'amorce doit s'apparier directement en amont du polymorphisme visé. L'ADN polymérase Taq insère un seul ddNTP marqué par un fluorophore unique à chacune des bases [Pastinen *et al.*, 1996]. Le demandeur réalise cinq réactions d'élongation de base avec des amorces de tailles différentes. Une électrophorèse par capillaire permet ensuite de distinguer les amorces en fonction de leur taille et de la fluorescence émise par le ddNTP incorporé. La liste des amorces est présentée dans le tableau 1 et un exemple d'électrophorégramme est présenté dans la figure 1.

Tableau 1 Liste des amorces utilisées dans la réaction de SNaPshot^{MC} servant à la détection des mutations aux positions R132 et R172 dans les gènes *IDH1* et *IDH2*, respectivement

Amorces pour l'amplification des exons					
Séquence (5'-> 3')		Gene	Taille de l'amplicon (bp)	Brin d'ADN	
GGTTGAGGAGTTCAAGTTG		IDH1 ex.4	235	Sense	
AGTTGGAAATTTCTGGGCCAT		IDH1 ex.4		Antisense	
GCTGCAGTGGGACCACTATT		IDH2 ex.4	293	Sense	
TGTGGCCTTGTACTGCAGAG		IDH2 ex.4		Antisense	
Amorces pour l'extension de base					
Nom de l'amorce	Séquence (5'-> 3')		Position évaluée	Taille de l'amorce (nt)	Brin d'ADN
IDH1 SNS1	A12-CTTACTTGATCCCCATAAG	CATGA	R132 <u>CGT</u>	36	Antisense
IDH1 SNS2	A18-CTTACTTGATCCCCATAAG	CATGAC	R132 <u>CGT</u>	44	Antisense
IDH2 SNS1	A28-GACCAAGCCCATCACCATTGGC		R172 <u>AGG</u>	51	Sense
IDH2 SNS2	A-50 CCAAGCCCATCACCATTGGCA		R172 <u>AGG</u>	68	Sense
IDH2 SNS3	A-60 GGACCAAGCCCATCACCATTGGCAG		R172 <u>AGG</u>	77	Sense

Source : tableau tiré du « Rapport de validation pour le test de détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* » (Andréa Gomez, Ph. D.).

Figure 1 Exemple d'électrophorégrammes obtenus lors du génotypage des gènes *IDH1* (R132) et *IDH2* (R172) par SNaPshot^{MC}



Source : figure tirée du « Rapport de validation pour le test de détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* » (Andréa Gomez, Ph. D.).

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons proviennent du laboratoire de neuropathologie de l'Institut et hôpital neurologiques de Montréal, qui est un centre de référence provincial en matière de tumeurs cérébrales. Les échantillons sont ensuite acheminés au laboratoire de biologie moléculaire du CUSM où l'ADN est extrait et le génotypage est réalisé. Si nécessaire, une confirmation est réalisée par séquençage de Sanger. Il s'agit d'une analyse « de court délai », réalisée en 5 jours ouvrables.

2.4 Société ou concepteur

La méthode proposée par le demandeur est une analyse maison mise au point à l'Université de Calgary et dont la description a été publiée en 2012 [Perizzolo *et al.*, 2012]. L'information soumise par le demandeur montre que deux amorces SNaPshot^{MC} additionnelles sont utilisées pour le génotypage de deux positions additionnelles de la R172 dans le gène *IDH2*, qui n'ont pas été analysées par Perizzolo et ses collaborateurs.

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Sans objet

2.6 Valeur pondérée : 155,71

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

La détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* par SNaPshot^{MC} sera effectuée sur les échantillons tumoraux provenant de patients dont l'analyse de l'expression de la protéine mutante IDH1 R132H par immunohistochimie (IHC) est négative ou équivoque, parmi les patients atteints de :

- gliomes de grades II et III;
- glioblastomes (tumeur de grade IV) et dont l'expression en IHC d'ATRX est anormale.

3.2 Description de la maladie visée

Selon les plus récentes statistiques publiées par la Société canadienne du cancer (SCC), 800 nouveaux cas de cancer du cerveau ont été diagnostiqués en 2015 au Québec, où le taux d'incidence normalisé des tumeurs cérébrales selon l'âge est respectivement de 9 et de 7 nouveaux cas pour 100 000 hommes et femmes. La SCC estime que le nombre de décès associés à des tumeurs du système nerveux central (SNC) serait de 310 chez les hommes et de 240 chez les femmes [SCC, 2015]. Les gliomes sont les tumeurs cérébrales primaires les plus courantes chez l'adulte. Ils représentent environ 70 % des tumeurs de haut grade du SNC⁴⁸.

Les gliomes sont des tumeurs cérébrales issues des cellules gliales de l'encéphale ou de la moelle épinière. Parmi les gliomes, on trouve les astrocytomes, issus des astrocytes, et les oligodendrogliomes, issus des oligodendrocytes. On appelle oligoastrocytomes les gliomes mixtes qui présentent ces deux aspects [Capper *et al.*, 2011].

La classification traditionnellement utilisée est celle de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), qui regroupe les gliomes selon quatre grades de différenciation (OMS I à IV) en fonction de leurs caractéristiques histopathologiques et de leur degré de malignité [Louis *et al.*, 2007].

Le grade I s'applique à des lésions qui ont un faible potentiel de prolifération et la résection chirurgicale est généralement suffisante pour guérir les patients qui en sont atteints.

À partir du grade II, les gliomes sont généralement de nature infiltrante. On parle alors de gliomes diffus. En dépit d'une faible prolifération, ils sont souvent récurrents. Certains gliomes de grade II tendent à progresser vers des degrés plus avancés de malignité.

La désignation de grade III est généralement réservée aux lésions qui présentent des caractéristiques histologiques évidentes de malignité, y compris un noyau atypique et une activité mitotique soutenue. On les nomme gliomes diffus anaplasiques ou gliomes anaplasiques.

⁴⁸ Information tirée du site Web « Astrocytome » de la Société canadienne du cancer (SCC), disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/brain-spinal/brain-and-spinal-tumours/astrocytoma/?region=on> (consulté le 13 janvier 2016).

Les gliomes de grade IV, en plus d'être diffus et anaplasiques, sont malins. Ces tumeurs présentent une activité mitotique soutenue et une tendance à la nécrose. On les nomme glioblastomes et ceux-ci sont associés à une évolution rapide et à un mauvais pronostic.

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur prévoit effectuer une cinquantaine d'analyses par année en ce qui a trait aux demandes provenant du réseau universitaire intégré de santé McGill et 120 analyses par année en ce qui a trait aux demandes provenant de l'ensemble du Québec.

3.4 Spécialités médicales concernées

Neuropathologie, neuro-oncologie, radio-oncologie, neurochirurgie

3.5 Brève description de la situation actuelle

Les échantillons provenant de patients atteints d'un gliome de grades II, III ou IV sont initialement analysés en IHC afin d'y détecter l'expression de la protéine IDH1 mutante (R132H) et de la protéine ATRX. Une expression anormale d'ATRX est un marqueur associé à l'astrocytome [Wiestler *et al.*, 2014], alors que la codélétion 1p/19q est un marqueur de l'oligodendrogliome [INESSS, 2013].

Selon les données recueillies auprès des experts consultés, 90 % des mutations présentes dans les gènes *IDH1* et *IDH2* seraient détectables par l'analyse par IHC « IDH1 R132H ». D'autres mutations dans le gène *IDH1* à la position R132 ainsi que dans le gène *IDH2* à la position R172 seraient également associées au pronostic des patients atteints de gliomes diffus. Ainsi, il demeure environ 7 % des patients atteints de gliomes de grade II et III dont la tumeur présente une mutation non détectée dans l'un de ces gènes. Ces mutations non détectées sont ainsi présentes chez environ 20 % des patients ayant obtenu un résultat négatif à l'analyse par IHC.

3.6 Données médico-administratives

Les données de production locale relatives aux analyses « IDH1 R132H » et « ATRX » par IHC ne sont pas disponibles, parce qu'il n'existe pas de codes spécifiques pour ces deux analyses. La volumétrie associée aux différentes analyses en IHC est obtenue par l'utilisation d'un code générique de pathologie clinique (60151, VP = 20,0). Aux fins du présent avis, le centre demandeur a transmis à l'INESSS ses statistiques de 2014 et de 2015 sur l'utilisation des analyses « IDH1 R132H » et « ATRX » en IHC. Le tableau 2 ci-après indique également le nombre de génotypages SNaPshot^{MC} effectués par le demandeur au cours de ces deux années.

Tableau 2 Données des analyses relatives à l'expression des protéines IDH mutantes et de la protéine ATRX effectuées au CUSM en 2014 et 2015

ANALYSES	CODE	VALEUR PONDÉRÉE (UNITÉS)	2014		2015	
			VOLUME	VALEUR ANNUELLE (\$)	VOLUME	VALEUR ANNUELLE (\$)
IDH1 R132H par immunohistochimie	60151	20	82	1640	88	1 760
ATRX par immunohistochimie	60151	20	n. d.	n. d.	36	720
SNaPshot ^{MC} IDH1 R132 et IDH2 R172	-	156	2	312	18	2 808

Abréviation : n. d. : donnée non disponible

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'algorithme proposé permet de classer les gliomes non seulement selon le phénotype, ce qui peut être très subjectif, mais également selon un profil moléculaire qui est reproductible et objectif. La présence d'une mutation dans le gène *IDH1* ou dans le gène *IDH2* est un marqueur pronostique très fiable, particulièrement en ce qui concerne les astrocytomes diffus de bas grade et peut très certainement influencer la décision thérapeutique. Cette nouvelle analyse permet de détecter dans le groupe des gliomes dont le résultat à l'analyse « IDH1 R132H » est négatif, ceux dont le gène *IDH* est de type sauvage et ceux qui portent une autre mutation que R132H.

3.8 Assurance qualité

L'analyse proposée est réalisée selon les normes du Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Le personnel du laboratoire central de diagnostic moléculaire du CUSM participe aux différents programmes de certification du College of American Pathologist (CAP). Il a effectué avec succès, en septembre 2015, le programme de contrôle de qualité d'analyse des gliomes (code de programme : GLI). Ce programme de contrôle de la qualité du CAP comprend la méthylation du promoteur du gène *MGMT*, la détection des mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* ainsi que la délétion du chromosome 10q (gène *PTEN*). Les laboratoires certifiés par le CAP doivent participer à des audits deux fois par année relativement à ces analyses.

Des contrôles de qualité sont réalisés à chaque étape du test, de la réception de l'échantillon jusqu'à la production du rapport. Des échantillons témoins positifs et négatifs sont inclus dans chaque série d'analyses. Une réaction d'amplification sans ADN est effectuée afin de confirmer l'absence de contamination des réactifs. De plus, la taille des amplicons générés à partir des échantillons à analyser et des échantillons témoins est vérifiée; les tailles attendues sont respectivement de 235 et 293 paires de bases dans le gène *IDH1* et dans le gène *IDH2*.

La détection des mutations R132H, R132C et R172K ne requiert pas de confirmation additionnelle parce que la méthode a été validée à l'aide d'échantillons témoins commerciaux. Dans le cas où une mutation différente serait détectée dans un échantillon, un test de confirmation par séquençage de type Sanger est effectué afin de valider le résultat.

3.9 Remplacement d'un autre test

L'analyse proposée, soit la détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* par SNaPshot^{MC} est un complément à la détection de la mutation R132H dans le gène *IDH1* par IHC et répond à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Capper et ses collaborateurs [2011] ont réalisé une étude multicentrique dont l'objectif était de vérifier la valeur diagnostique des mutations aux positions R132 dans le gène *IDH1* et R172 dans le gène *IDH2* afin de distinguer les oligodendrogliomes des oligoastrocytomes dans les tumeurs dont les caractéristiques histologiques sont similaires. L'expression d'*IDH1* R132H a d'abord été analysée par IHC sur 274 échantillons provenant de 14 types de tumeur cérébrale. Parmi ceux-ci, 155 étaient positifs, soit l'équivalent de 92 % des oligodendrogliomes (132/143), 84 % des oligoastrocytomes (21/25) et 67 % des oligodendrogliomes avec différenciation neurocytique présents dans la série. L'analyse « *IDH1* R132H » par IHC des autres types de tumeur s'est avérée négative (0/103). L'analyse par séquençage de 15 échantillons qui se sont révélés négatifs par IHC a permis de détecter 6 mutations additionnelles dans un gène *IDH*. L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau 3.

Tableau 3 Fréquence de détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* dans les différents types de tumeur cérébrale

TYPE DE TUMEUR	N ÉCHANTILLONS (POSITIFS/ANALYSÉS)		
	IHC	SÉQ.	TOTAL (%)
Oligodendrogliome de grade II	67/74	0/6*	67/74 (91)
Oligodendrogliome de grade III	65/69	3/4	68/69 (99)
Oligoastrocytome de grade II	11/14	2/3	13/14 (93)
Oligoastrocytome de grade III	10/11	0/1	10/11 (91)
Oligodendrogliome avec différenciation neurocytique	2/3	1/1	3/3 (100)
Oligodendrogliome et oligoastrocytome pédiatrique, neurocytome central ou extraventriculaire, liponeurocytome cérébelleux, tumeur neuroépithéliale dysembryoplasique, épendymome ou méningiome à cellules claires, glioblastome primaire ou astrocytome pilocytique à différenciation oligodendrogliale	0/103	n. d.	0/103

Sigles et abréviations : IHC : immunohistochimie; n. d. : donnée non disponible; SÉQ : séquençage

* 7 échantillons se sont révélés négatifs en IHC, mais seulement 6 ont pu être analysés par séquençage.

Ainsi, la détection d'une mutation dans le gène *IDH1* par IHC et dans les gènes *IDH1* et *IDH2* par séquençage montre une sensibilité de 94,1 % (161/171) et une spécificité de 100 % (0/103) relativement aux diagnostics d'oligodendrogliome et d'oligoastrocytome chez l'adulte.

4.2 Valeur pronostique

4.2.1 Gains de survie associés au profil de mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* évalués par méta-analyse

La recherche documentaire a permis de retenir 6 méta-analyses ayant évalué la valeur pronostique du profil de mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* des patients atteints d'un gliome. Un tableau qui résume les principales caractéristiques de ces études est fourni dans l'annexe A du présent document.

Les publications retenues sont les suivantes :

- Xia et ses collaborateurs [2015] : 55 études traitant d'*IDH1* et d'*IDH2* dans les cas de gliomes;
- Dai et ses collaborateurs [2016] : 20 études traitant d'*IDH1* dans les cas de glioblastomes;
- Thuy et ses collaborateurs [2015] : 174 études traitant de marqueurs moléculaires et génétiques, dont *IDH1* et *IDH2* (7 études), dans les cas de glioblastomes;
- Cheng et ses collaborateurs [2013] : 9 études traitant d'*IDH1* dans les cas de glioblastomes;
- Sun et ses collaborateurs [2013] : 10 études traitant d'*IDH1* et d'*IDH2* dans les cas de gliomes de grade II;
- Zou et ses collaborateurs [2013] : 12 études traitant d'*IDH1* et d'*IDH2* dans les cas de gliomes.

Xia et ses collaborateurs [2015] de même que Zou et ses collaborateurs [2013] ont réalisé des méta-analyses traitant de l'effet des mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* sur la survie globale (SG) et la survie sans progression (SSP) des patients atteints d'un gliome. Ils ont également réalisé des analyses de sous-groupes selon le grade de la tumeur. Sun et ses collaborateurs [2013] ont analysé l'effet de ce type de mutations uniquement sur la SG des patients atteints d'un gliome de grade II. Thuy et ses collaborateurs [2015] ont vérifié l'effet de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* sur la SG des patients atteints d'un gliome de grade IV. Les deux autres méta-analyses ont évalué l'effet des mutations dans le gène *IDH1* sur la SG des patients atteints d'un gliome de grade IV [Dai *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2013].

Les analyses de survie réalisées, relativement à l'ensemble des patients atteints d'un gliome diffus (grades II, III et IV), ont montré que la présence d'une mutation dans l'un des gènes *IDH* est associée à une réduction du risque de décès variant de 61 % à 67 % comparativement à l'absence d'une mutation dans l'un de ces gènes. Une mutation dans un gène *IDH* a également été associée à une réduction du risque de progression tumorale variant de 58 % à 62 % comparativement à l'absence d'une mutation dans l'un de ces gènes (voir les tableaux 4 et 5).

Considérant les analyses de survie réalisées par sous-groupes de tumeurs, les données montrent que la présence d'une mutation dans un gène *IDH* est associée à une réduction significative du risque de décès (voir le tableau 4) variant de :

- 41 % à 55 % chez les patients atteints d'un gliome de grade II;

- 73 % à 81 % chez les patients atteints d'un gliome de grade III;
- 46 % à 61 % chez les patients atteints d'un gliome de grade IV.

De même, la présence d'une mutation dans un gène *IDH* est associée à une réduction significative du risque de progression de la maladie (voir le tableau 5) de :

- 34 % chez les patients atteints d'un gliome de grade II;
- 78 % à 83 % chez les patients atteints d'un gliome de grade III.

Tableau 4 Survie globale associée à une mutation dans un gène *IDH* chez les patients atteints de gliomes, selon les méta-analyses

GRADE DES GLIOMES	MÉTA-ANALYSES	ÉTUDES N	RAPPORT DES RISQUES INSTANTANÉS [IC95 %]	VALEUR P	HÉTÉROGÉNÉITÉ I ² (%)
II, III, IV	Xia <i>et al.</i> , 2015	54	0,39 [0,34-0,45]	< 0,001	54,7
	Zou <i>et al.</i> , 2013	11	0,33 [0,25-0,42]	n. d.	25,2
II	Xia <i>et al.</i> , 2015	17	0,45 [0,35-0,59]	< 0,001	59,5
	Sun <i>et al.</i> , 2013	10	0,586 [0,376-0,911]	n. d.	52,8
III	Xia <i>et al.</i> , 2015	11	0,27 [0,22-0,32]	< 0,001	10,1
	Zou <i>et al.</i> , 2013	n. d.	0,19 [0,11-0,35]	n. d.	0,0
IV	Xia <i>et al.</i> , 2015	20	0,49 [0,40-0,60]	< 0,001	46,1
	Dai <i>et al.</i> , 2016	20	0,43 [0,35-0,54]	< 0,001	52,2
	Thuy <i>et al.</i> , 2015	6	0,54 [0,42-0,70]	2,26 x 10 ⁻⁶	n. d.
	Cheng <i>et al.</i> , 2013	9	0,45 [0,29-0,69]	< 0,001	71,0
	Zou <i>et al.</i> , 2013	n. d.	0,39 [0,27-0,56]	n. d.	58,4

Abréviations : N : nombre; n. d. : non documenté

Tableau 5 Survie sans progression associée à une mutation dans un gène *IDH* chez les patients atteints de gliomes, selon les méta-analyses

GRADE DES GLIOMES	MÉTA-ANALYSES	ÉTUDES N	RAPPORT DES RISQUES INSTANTANÉS [IC95 %]	VALEUR P	HÉTÉROGÉNÉITÉ I ² (%)
II, III, IV	Xia <i>et al.</i> , 2015	27	0,42 [0,35-0,51]	< 0,001	59,15
	Zou <i>et al.</i> , 2013	7	0,38 [0,21-0,68]	n. d.	77,7
II	Xia <i>et al.</i> , 2015	13	0,66 [0,48-0,90]	0,009	60,4
III	Xia <i>et al.</i> , 2015	7	0,22 [0,12-0,42]	< 0,001	85,1
	Zou <i>et al.</i> , 2013	n. d.	0,17 [0,05-0,58]	n. d.	87,2
IV	Xia <i>et al.</i> , 2015	9	0,65 [0,41-1,05]	< 0,078	75,2
	Zou <i>et al.</i> , 2013	n. d.	0,67 [0,40-1,13]	n. d.	0,0

Abréviations : N : nombre; n. d. : non documenté

La méta-analyse de Thuy et ses collaborateurs [2015] présente également l'écart entre les médianes de survie globale selon le profil de mutation dans les gènes *IDH* des patients atteints d'un glioblastome. Comparativement à ceux dont ce profil est négatif, les patients atteints d'un glioblastome de profil positif présentent un gain significatif de survie globale de 14,74 mois [IC95 % : 10,44 à 19,05]; $p < 0,0001$.

4.2.2 Gains de survie associés au profil de mutation dans les gènes *IDH* évalués par une étude de cohorte

Wang et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une étude de cohorte rétrospective dans laquelle le profil de mutation du gène *IDH1* et du gène *IDH2* a été investigué chez plus de 1 300 patients atteints d'un gliome diffus. L'analyse *IDH1* R132H par IHC réalisée sur un échantillon tumoral s'est avérée positive chez 572 (43,7 %) de ces patients, alors que la recherche d'autres mutations aux positions R132 du gène *IDH1* et R172 du gène *IDH2* par séquençage a permis d'identifier 68 cas additionnels (5,2 %). Considérant le nombre total de cas où une mutation a été détectée dans un gène *IDH* par les 2 techniques, soit 640 cas, les analyses par IHC et par séquençage ont respectivement contribué à détecter 89 % et 11 % des mutations aux positions R132 du gène *IDH1* et R172 du gène *IDH2*. Comme l'illustre le tableau 6, ces mutations ont été détectées plus fréquemment chez les patients atteints de gliomes de grade II (77 %) et de grade III (66 %) que chez les patients atteints de tumeurs de grade IV (9 %).

Tableau 6 Distribution histologique des mutations d'un gène *IDH* dans les cas de gliomes diffus

SOUS-TYPE HISTOLOGIQUE	N (1 307)	<i>IDH1</i> R132H (IHC)	AUTRES MUTATIONS DANS UN GÈNE <i>IDH</i> * (SÉQUENÇAGE)	<i>IDH1</i> ET <i>IDH2</i> (%)
Grades II (total)	438	299	39	338 (77)
A II	61	41	3	44 (72)
O II	243	172	25	197 (81)
OA II	134	86	11	97 (72)
Grades III (total)	394	233	26	259 (66)
A III	33	13	4	17 (52)
O III	220	145	12	157 (71)
OA III	141	75	10	85 (60)
Grades IV (total)	475	40	3	43 (9)
GBM	354	26	2	28 (8)
GBMO	121	14	1	15 (12)

Sigles et abréviations : A : astrocytome; GBM : glioblastome; GBMO : glioblastome d'aspect oligodendroglial; IHC : immunohistochimie; O : oligodendrogliome; OA : oligoastrocytome

* Correspond aux mutations à la position R132 dans le gène *IDH1*, autres que R132H, et aux mutations à la position R172 dans le gène *IDH2*.

Indépendamment du profil de mutation des gènes *IDH*, les médianes de survie globale étaient moindres dans les cas de gliomes de grades plus élevés (voir le tableau 7). Toutefois, relativement à chacun des grades II, III et IV, Wang et ses collaborateurs [2014] ont montré qu'une mutation dans un gène *IDH* est associée à une survie globale significativement plus longue, comparativement à l'absence de

mutation, et ce, de façon plus marquée dans les cas de tumeurs de grades II et III (voir le tableau 7). Concernant la survie sans progression, des données similaires ont été rapportées (voir le tableau 8).

Tableau 7 Médianes de survie globale des patients atteints de gliomes en fonction du profil de mutation des gènes *IDH*

GRADE DES GLIOMES	PRÉSENCE D'UNE MUTATION DANS UN GÈNE <i>IDH</i>			VALEUR P [†]
	NON ÉVALUÉE*	POSITIVE [§]	NÉGATIVE [§]	
	MÉDIANES DE SURVIE GLOBALE (MOIS)			
II	121,9	136,5	67,0	< 0,0001
III	41,7	136,9	20,1	< 0,0001
IV	14,5	26,6	14,2	0,0004

* Survie déterminée chez 1 305 patients

[§] Survie déterminée chez 1 047 patients ayant obtenu un résultat positif ou négatif

[†] Valeur p calculée entre les médianes de survie globale des patients ayant obtenu un résultat positif comparativement à un résultat négatif

Tableau 8 Médianes de survie sans progression des patients atteints de gliomes en fonction du profil de mutation des gènes *IDH*

GRADE DES GLIOMES	PRÉSENCE D'UNE MUTATION DANS UN GÈNE <i>IDH</i>			VALEUR P [†]
	NON ÉVALUÉE*	POSITIVE [§]	NÉGATIVE [§]	
	MÉDIANES DE SURVIE SANS PROGRESSION (MOIS)			
II	38,8	41,3	28,5	0,0363
III	19,5	31,9	10,4	< 0,0001
IV	8,2	10,0	8,1	0,0008

* Survie déterminée chez 1 305 patients

[§] Survie déterminée chez 1 047 patients ayant obtenu un résultat positif ou négatif

[†] Valeur P calculée entre les médianes de survie sans progression des patients ayant obtenu un résultat positif comparativement à un résultat négatif

Wang et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une analyse multivariée de survie au moyen d'une régression de Cox en considérant les covariables suivantes : les mutations dans un gène *IDH*, la délétion P16, la codélétion 1p/19q, l'étendue de la chirurgie, l'indice de Karnofsky et l'âge au moment du diagnostic. Les auteurs rapportent que la présence d'une mutation dans un gène *IDH* est associée à une réduction de 64 % du risque de décès (RRI : 0,36 [IC95 % : 0,25 à 0,52]; $p < 0,0001$) et de 53 % du risque de progression de la tumeur (RRI : 0,47 [IC95 % : 0,35 à 0,63]; $p < 0,0001$).

4.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue sur ce sujet parce que la recherche de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* n'a pas pour objectif de prévoir la réponse à un traitement ou d'en évaluer l'efficacité.

4.4 Validité analytique

Perizzolo et ses collaborateurs [2012] ont décrit une méthode d'analyse par SNaPshot^{MC} pour la détection des principales mutations d'*IDH1* R132 et d'*IDH2* R172 dans les gliomes. Les auteurs ont utilisé 3 amorces de mini-séquençage, soit 2 ciblant la position R132 dans le gène *IDH1* et une ciblant la position R172 du gène *IDH2*. La méthode a été testée à l'aveugle sur 32 échantillons archivés contenant plus de 50 % de cellules cancéreuses et dont le génotype avait préalablement été déterminé par séquençage de type Sanger. La concordance entre les génotypes déterminés par SNaPshot^{MC} et par Sanger était de 100 %. Par la suite, 57 échantillons additionnels, principalement des cas de glioblastome primaire, ont été testés par SNaPshot^{MC}. Au total, 11 mutations ont été détectées (9 R132H et 2 R132S dans *IDH1*; 0 R172 dans *IDH2*).

Afin de déterminer le seuil de détection de la méthode SNaPshot^{MC}, un titrage des amplicons PCR a été effectué de manière à réduire progressivement la concentration des allèles mutants. La méthode SNaPshot^{MC} a présenté un seuil de détection variant de 2,5 % à 5 % d'allèles mutants. La figure 2 présente la comparaison entre l'électrophorégramme issu de la méthode SNaPshot^{MC} et celui issu du séquençage. La présence d'une mutation est détectée dans une proportion de 10 % par la méthode SNaPshot^{MC} tandis qu'elle disparaît dans le bruit de fond lors du séquençage de type Sanger.

Figure 2 Comparaison de l'électrophorégramme obtenu par la méthode SNaPshot^{MC} et par séquençage

Allèle mutant R132H présent à A) 60 %; B) 40 %; C) 20 %; D) 10 %

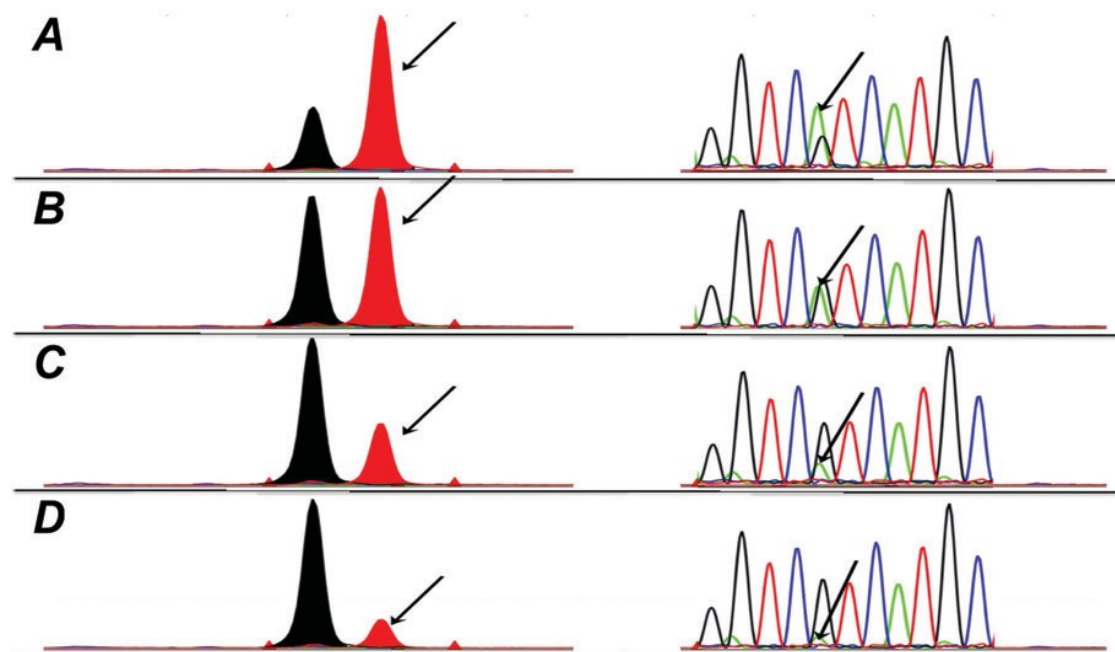


Figure adaptée de Perizzolo *et al.*, 2012.

Les allèles d'*IDH1* et d'*IDH2* les plus fréquemment détectés (R132, R132H, R132C, R132L, R132S, R132G et *IDH2* R172, R172M) ont été créés par mutagenèse dirigée et utilisés pour valider la méthode. Un échantillon témoin a été créé en incorporant tous les allèles dans un même tube. La méthode a été testée sur cet échantillon témoin dilué 1 000 fois. L'électrophorégramme obtenu à la suite de la réaction par SNaPshot^{MC} a permis de visualiser tous les allèles mutants (voir la figure 3).

Figure 3 Électrophorégramme d'une réaction par SNaPshot^{MC} obtenu à partir d'un échantillon témoin constitué de tous les allèles dilués, mutants ou non

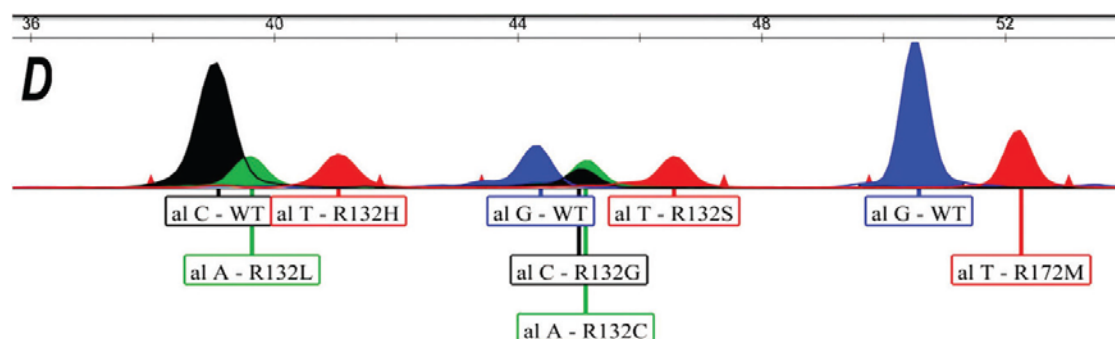


Figure tirée de Perizzolo *et al.*, 2012.

Abréviations : al : allèle; WT : *wild type* (de type sauvage)

4.5 Données fournies par le demandeur

Sensibilité et spécificité

La méthode proposée par le demandeur pour déterminer le génotype des positions R132 d'*IDH1* et R172 d'*IDH2* s'inspire de la méthode de mini-séquençage par réactions multiplexes publiée par Perizzolo [2012]. Des modifications mineures quant au nombre et à la longueur des amorces ont été apportées. Notamment, la méthode proposée utilise 5 amorces au lieu de 3, couvrant ainsi 2 des 3 nucléotides de la position R132 d'*IDH1* et les 3 nucléotides de la position R172 d'*IDH2*.

L'efficacité de l'analyse par la méthode SNaPshot^{MC} a été évaluée à l'aide de 30 échantillons dont le génotype avait préalablement été évalué par séquençage de type Sanger. Parmi les 15 échantillons comportant une mutation, 9 ont préalablement été analysés par séquençage de type Sanger dans un autre laboratoire et 3 étaient des échantillons témoins commerciaux de 2 concentrations différentes (5 % et 50 %). Concernant les échantillons non-mutés, 14 ont préalablement été analysés par Sanger et 1 était un échantillon témoin commercial. Globalement, le mini-séquençage des positions R132 d'*IDH1* et R172 d'*IDH2*, proposé par le demandeur, a permis de détecter toutes les mutations préalablement détectées par séquençage de type Sanger (concordance de 100 %)⁴⁹.

Quantité minimale d'ADN

La quantité minimale d'ADN nécessaire à la détection d'une mutation par SNaPshot^{MC} a été déterminée en réalisant des dilutions en série de 20 ng à 0,2 ng d'ADN provenant d'un échantillon témoin commercial de R132H contenant 50 % de cellules tumorales. Le seuil de détection d'ADN minimal obtenu est de 2,5 ng. Aucun pic (présence ou absence de mutation) n'est observé à 0,14 ng d'ADN.

Robustesse

À partir de 2,5 ng et jusqu'à 50 ng d'ADN, le ratio d'intensité entre les pics de fluorescence des allèles, mutants ou non, est conservé, soit $1,16 \pm 0,17$.

Limite de détection

La limite de détection des mutations dans un gène *IDH* a été évaluée à l'aide de 3 échantillons témoins commerciaux (R132H, R132C, R172K) et 3 échantillons cliniques comportant une mutation (R132G, R132S, R172M). Les concentrations d'ADN nécessaires à la détection d'une mutation dans les échantillons sont :

- 2,5 % (R132H, R172K);
- 5 % (R132C, R132G, R132S, R172M).

Reproductibilité

L'évaluation de la reproductibilité de la méthode SNaPshot^{MC} a été réalisée en double, sur 3 jours, par des techniciens différents et à l'aide de lots de réactifs différents; 1 échantillon témoin non-muté et 2 échantillons témoins comportant une mutation (R132H) à 50 % et à 5 % ont été utilisés. Aucune différence significative n'a été observée entre les différentes répétitions et le ratio a été conservé entre les différents essais concernant les échantillons comportant une mutation. Dans le cas

⁴⁹ Information tirée du « Rapport de validation pour le test de détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* », rédigé par Andrea Gomez, Ph. D., et révisé par la D^e Marie-Christine Guiot en septembre 2015.

de l'échantillon non-muté, seuls les pics des ddNTP sans mutation ont été détectés (voir le tableau 9).

Tableau 9 Reproductibilité des analyses par la méthode SNaPshot^{MC}

FRACTION DE L'ALLÈLE MUTANT (%)	RATIO *	ÉCART TYPE
50	1,19	0,09
5	0,12	0,06
0 (sans mutation)	0	0

* Ratio : hauteur du pic de fluorescence du ddNTP indiquant une mutation par rapport à la hauteur du pic de fluorescence du ddNTP indiquant l'absence d'une mutation

Comparaison de la méthode SNaPshot^{MC} et de la méthode par immunohistochimie

Des tests de comparaison entre la méthode SNaPshot^{MC} et la méthode par IHC ont été effectués en parallèle à l'aide de 67 échantillons. La méthode SNaPshot^{MC} a permis de détecter les 34 échantillons positifs par IHC (IDH1 R132H) en plus de 6 échantillons additionnels contenant des mutations autres que R132H dans le gène *IDH1* (voir le tableau 10). Des analyses par séquençage ont été réalisées sur 24 de ces échantillons, permettant de contre vérifier 5 mutations R132H dans le gène *IDH1*, 5 mutations autres que celle-ci et 14 échantillons négatifs.

Tableau 10 Concordance entre la méthode SNaPshot^{MD} et la méthode par immunohistochimie

MÉTHODE SNAPSHOT ^{MC}	ANALYSE « IDH1 R132H » PAR IMMUNOHISTOCHIMIE	
	POSITIFS	NÉGATIFS
Positifs	34 (R132H)	6*
Négatifs	0	27 (sans mutation)

* Mutations autres que R132H dans le gène *IDH1*: R172K, R132C, R172M, R132G, R132S validées par séquençage et 1 mutation R132C non validée

Depuis l'instauration de l'analyse en 2014, le laboratoire de biologie moléculaire du CUSM a analysé 20 échantillons, parmi lesquels 11 contenaient des mutations d'un gène *IDH* (voir le tableau 11).

Tableau 11 Résultats des analyses par SNaPshot^{MC} réalisées au CUSM

RÉSULTATS PAR IMMUNOHISTOCHIMIE	RÉSULTATS POSITIFS PAR SNAPSHOT ^{MC}	MUTATIONS DÉTECTÉES
9 négatifs	5	R172K
1 positif	1	R132H
10 non analysés	5	R132H, R132G, R172K

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs associés à l'introduction au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* de l'analyse permettant la détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* par SNaPshot^{MC}. L'évaluation des coûts est présentée dans le tableau 12 et repose sur les éléments suivants :

- Selon le demandeur, 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.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur est de 155,71.

Tableau 12 Coûts directs associés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* par SNaPshot^{MC}

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre prévu d'analyses	120	120	120	360
Coût si introduction de l'analyse	18 685 \$	18 685 \$	18 685 \$	56 055 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les coûts directement associés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de mutations *IDH1* et *IDH2* par SNaPshot^{MC} sont estimés à près de 18 700 \$ annuellement.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La classification actuelle des tumeurs cérébrales, soit celle de l'OMS (2007), qui repose sur des critères histopathologiques, est en pleine évolution. Une refonte de cette classification, attendue en 2016, devrait s'appuyer davantage sur des marqueurs moléculaires tels que la codélétion des chromosomes 1p/19q, l'expression d'ATRX et la présence de mutations ponctuelles dans les gènes *IDH1* et *IDH2* [Louis *et al.*, 2014].

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

Le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) a publié, le 5 janvier 2015, une mise à jour de son guide de pratique clinique en oncologie concernant les tumeurs du SNC [NCCN, 2015]. Les membres du NCCN ont discuté du rôle des gènes *IDH1* et *IDH2* dans les cas de gliomes de bas grade. Les mutations dans un gène *IDH* sont communes chez ces patients et sont rapportées comme un marqueur significatif de bon pronostic. Toutefois, le NCCN ne recommande pas de test de routine visant la détection des mutations dans un gène *IDH*, parce que leur incidence sur le traitement des patients n'est pas encore clairement établie.

Le Joint Guidelines Committee a formé un groupe de travail dont le mandat était de réviser la littérature existante sur le diagnostic neuropathologique des gliomes diffus de bas grade. Le groupe recommande de vérifier par IHC l'expression d'une mutation R132H dans tous les cas de gliomes diffus de bas grade. Toutefois, comme 10 % à 20 % des mutations touchent d'autres positions nucléotidiques, il ne faut pas supposer que les résultats négatifs en IHC confirment une absence de mutation. Une stratégie couramment utilisée consiste à poursuivre la recherche des autres mutations dans un gène *IDH* par séquençage à la suite d'un résultat négatif en IHC [Cahill *et al.*, 2015].

L'European Society of Medical Oncology (ESMO) a publié, en 2014, un guide de pratique clinique sur le diagnostic, le traitement et le suivi des patients atteints de gliomes de grades III et IV. Les mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* y sont décrites comme des marqueurs moléculaires typiques des gliomes de bas grade et leur recherche est considérée comme une norme de pratique clinique. Lorsqu'elles sont présentes dans une lésion de haut grade, les mutations dans un gène *IDH* indiquent l'évolution d'une lésion de bas grade (glioblastome secondaire) [Stupp *et al.*, 2014]. Le College of American Pathologist (CAP) a introduit, en 2013, un programme de contrôle de qualité d'analyse des gliomes qui comprend la méthylation du promoteur du gène *MGMT*, la détection des mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* ainsi que la délétion 10q (gène *PTEN*). Les laboratoires certifiés par le CAP sont audités deux fois par année relativement à ces analyses⁵⁰.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Afin de préciser le diagnostic des patients atteints d'un gliome, une analyse en immunohistochimie (IHC) permet de détecter la mutation R132H dans le gène *IDH1*. Toutefois, cette analyse ne permet de détecter que 90 % des mutations dans un gène *IDH* qui sont pertinentes. Une analyse par SNaPshot^{MC} permet de détecter les mutations que l'IHC ne permet pas de détecter.

La présence d'une mutation dans un gène *IDH* dans les cas de tumeur cérébrale constitue un marqueur diagnostique à la fois sensible (92 %) et spécifique (100 %) relativement aux gliomes diffus.

Lorsqu'elle est présente chez un patient atteint d'un gliome, une mutation dans un gène *IDH* constitue aussi un marqueur de bon pronostic. Elle est associée à une réduction du risque de décès variant de :

- 41 % à 55 % chez les patients atteints d'un gliome de grade II;
- 73 % à 81 % chez les patients atteints d'un gliome de grade III;
- 46 % à 61 % chez les patients atteints d'un gliome de grade IV.

Cette réduction du risque de décès se traduit par une espérance de vie variant selon la présence ou l'absence d'une mutation dans un gène *IDH* chez les patients atteints d'un gliome. La présence d'une mutation dans un gène *IDH* est prédictive d'un gain de survie de :

- 70 mois chez les patients atteints d'un gliome de grade II;

⁵⁰ Information tirée du site Web *GLIOMA - GLI* du College of American Pathologists, disponible à : https://estore.cap.org/OA_HTML/ibeCCTpltmDspRte.jsp?section=10202&item=344606&sitex=10020:22372:US (consulté le 9 février 2016).

- 117 mois chez les patients atteints d'un gliome de grade III;
- 12 mois chez les patients atteints d'un gliome de grade IV.

La refonte de la classification actuelle des tumeurs cérébrales, attendue en 2016, devrait s'appuyer davantage sur des marqueurs moléculaires tels que les mutations dans un gène *IDH*.

Le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) reconnaît la valeur pronostique des mutations dans un gène *IDH* chez les patients atteints de gliomes.

Le Joint Guidelines Committee recommande la détection de la mutation R132H dans le gène *IDH1* par IHC, mais il reconnaît qu'un résultat négatif ne permet pas de conclure à l'absence d'une mutation dans un gène *IDH*.

Selon l'European Society of Medical Oncology (ESMO), les mutations dans les gènes *IDH* constituent des marqueurs moléculaires pertinents et le recours au séquençage est également pertinent lorsqu'un résultat à l'analyse « *IDH1* R132H » par IHC est négatif.

Le College of American Pathologists (CAP) a instauré, en 2013, un programme de contrôle de qualité s'appliquant aux mutations dans un gène *IDH*.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de mutations dans les gènes *IDH1* (R132) et *IDH2* (R172) par la méthode SNaPshot^{MC}

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ L'analyse proposée répond à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement par le *Répertoire*.
- ✓ L'analyse est complémentaire à l'immunohistochimie.
- ✓ Les données locales de validation sont détaillées et ont été jugées suffisantes.

BIBLIOGRAPHIE

- Cahill DP, Sloan AE, Nahed BV, Aldape KD, Louis DN, Ryken TC, et al. The role of neuropathology in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol* 2015;125(3):531-49.
- Capper D, Reuss D, Schittenhelm J, Hartmann C, Bremer J, Sahm F, et al. Mutation-specific IDH1 antibody differentiates oligodendrogliomas and oligoastrocytomas from other brain tumors with oligodendroglioma-like morphology. *Acta Neuropathol* 2011;121(2):241-52.
- Cheng HB, Yue W, Xie C, Zhang RY, Hu SS, Wang Z. IDH1 mutation is associated with improved overall survival in patients with glioblastoma: A meta-analysis. *Tumour Biol* 2013;34(6):3555-9.
- Dai Y, Ning X, Han G, Li W. Assessment of the association between isocitrate dehydrogenase 1 mutation and mortality risk of glioblastoma patients. *Mol Neurobiol* 2016;53(3):1501-8.
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Codélétion des chromosomes 1p et 19q par FISH sur coupe paraffinée. Québec, Qc : INESSS; 2013. Disponible à : https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse_biomedicale/Mars_2013/INESSS_Analyse_6.pdf.
- Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, et al. International Society of Neuropathology—Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol* 2014;24(5):429-35.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114(2):97-109.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Central nervous system cancers, Version 1.2015. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2015. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- Pastinen T, Partanen J, Syvanen AC. Multiplex, fluorescent, solid-phase minisequencing for efficient screening of DNA sequence variation. *Clin Chem* 1996;42(9):1391-7.
- Perizzolo M, Winkfein B, Hui S, Krulicki W, Chan JA, Demetrick DJ. IDH mutation detection in formalin-fixed paraffin-embedded gliomas using multiplex PCR and single-base extension. *Brain Pathol* 2012;22(5):619-24.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(12):5463-7.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2015. Sujet particulier : prévisions concernant le fardeau futur du cancer au Canada. Toronto, ON : SCC; 2015. Disponible à : <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2015-FR.pdf?la=fr-CA>.

- Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, Tonn JC, Pentheroudakis G. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25(Suppl 3):iii93-101.
- Sun H, Yin L, Li S, Han S, Song G, Liu N, Yan C. Prognostic significance of IDH mutation in adult low-grade gliomas: A meta-analysis. *J Neurooncol* 2013;113(2):277-84.
- Thuy MN, Kam JK, Lee GC, Tao PL, Ling DQ, Cheng M, et al. A novel literature-based approach to identify genetic and molecular predictors of survival in glioblastoma multiforme: Analysis of 14,678 patients using systematic review and meta-analytical tools. *J Clin Neurosci* 2015;22(5):785-99.
- Wang XW, Ciccarino P, Rossetto M, Boisselier B, Marie Y, Desestret V, et al. IDH mutations: Genotype-phenotype correlation and prognostic impact. *Biomed Res Int* 2014;2014:540236.
- Wiestler B, Capper D, Sill M, Jones DT, Hovestadt V, Sturm D, et al. Integrated DNA methylation and copy-number profiling identify three clinically and biologically relevant groups of anaplastic glioma. *Acta Neuropathol* 2014;128(4):561-71.
- Xia L, Wu B, Fu Z, Feng F, Qiao E, Li Q, et al. Prognostic role of IDH mutations in gliomas: A meta-analysis of 55 observational studies. *Oncotarget* 2015;6(19):17354-65.
- Zou P, Xu H, Chen P, Yan Q, Zhao L, Zhao P, Gu A. IDH1/IDH2 mutations define the prognosis and molecular profiles of patients with gliomas: A meta-analysis. *PLoS One* 2013;8(7):e68782.

ANNEXE A

Description des méta-analyses sur la valeur pronostique des mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* chez les patients atteints d'un gliome diffus

MÉTA-ANALYSE	N ÉTUDES (N PATIENTS)	MARQUEURS	GRADE DES GLIOMES	DATES DES ÉTUDES INCLUSES	MESURES	BIAIS DE PUBLICATION
Xia <i>et al.</i> , 2015	55 (9 487)	<i>IDH1</i> , <i>IDH2</i>	II, III, IV	2009-2014	SG, SSP	Absent
Zou <i>et al.</i> , 2103	12 (2 190)	<i>IDH1</i> , <i>IDH2</i>	II, III, IV	2009-2012	SG, SSP	Absent
Sun <i>et al.</i> , 2013	10 (937)	<i>IDH1</i> , <i>IDH2</i>	II	2009-2012	SG	Absent
Thuy <i>et al.</i> , 2015	174 (14 678); 7 sur <i>IDH1</i> (1 114)	39 différents (dont <i>IDH1</i> et <i>IDH2</i>)	IV	2009-2010	SG	n. d.
Dai <i>et al.</i> , 2016	20 (3 464)	<i>IDH1</i>	IV	2008-2014	SG	Absent
Cheng <i>et al.</i> , 2013	9 (1 669)	<i>IDH1</i>	IV	2009-2013	SG	Absent

Abréviations : n. d. : non déterminé; SG : survie globale; SSP : survie sans progression

STRATIFICATION PRONOSTIQUE DES LEUCÉMIES MYÉLOÏDES AIGÜES PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION - PANEL DE GÈNES (RÉFÉRENCE – 2015.01.003)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 2 mai 2016
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

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

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

Aux fins de la validation de cet avis, les experts consultés sont le D^r Olivier Larochelle, hémato-oncologue au CHU de Québec, et le D^r Sébastien Lévesque, médecin généticien au Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke (CHUS).

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Stratification pronostique des leucémies myéloïdes aiguës (LMA) par séquençage de nouvelle génération - panel de gènes

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

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) désigne les différents systèmes de séquençage qui permettent d'obtenir la séquence de plusieurs gènes simultanément. Cette technologie est caractérisée par un rendement de lecture très élevé, comparativement à la méthode de séquençage classique, soit le séquençage de Sanger. Le SNG est réalisé en trois étapes principales, soit la préparation de l'ADN

génomique et de la librairie (ADN fragmenté), le séquençage et l'analyse des variants. Lorsqu'une méthode d'analyse par panel de gènes est utilisée, un enrichissement des régions d'intérêt est nécessaire avant de procéder au séquençage proprement dit.

Plusieurs systèmes de SNG utilisant des technologies et des chimies différentes sont offertes sur le marché. Dans le cas de l'analyse proposée, le système Ion Torrent^{MC} PGM⁵¹ (Life Technologies) servira à réaliser la stratification pronostique des LMA par SNG. La recherche de mutations et la détermination de la fréquence allélique des variants (FAV) seront effectuées à l'aide du panel de gènes Ion AmpliSeq^{MC} AML (Life Technologies). Ce dernier compte 19 gènes⁵², dont 9 seront analysés aux fins de la stratification pronostique des LMA, soit *TET2*, *IDH2*, *ASXL1*, *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* biallélique, *RUNX1*, *KIT* et *TP53*. Parmi ces gènes, 6 figurent déjà dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (*FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* biallélique, *RUNX1*, *KIT*, *TP53*) et 3 s'y ajouteraient (*TET2*, *IDH2*, *ASXL1*).

La technique de séquençage utilisée par le système Ion Torrent^{MC} PGM⁵³, aussi appelée séquençage par semiconducteur, consiste d'abord à construire une librairie à partir d'un produit de réaction en chaîne par polymérase ou PCR (sigle de l'anglais *polymerase chain reaction*) de 200 paires de bases (pb). Par la suite, l'enrichissement des régions d'intérêt est réalisé par une PCR en émulsion au cours de laquelle un brin d'ADN complémentaire à chacun des brins de la matrice, préalablement fixé à une bille, est synthétisé. Les ions H⁺ relargués au moment de la synthèse du brin complémentaire sont détectés par un capteur qui mesure le pH dans chacun des puits. La variation de pH permet de déterminer si un ou plusieurs nucléotides ont été ajoutés. Toutes les séquences ainsi obtenues sont par la suite assemblées et alignées contre une séquence de référence.

L'analyse des variants détectés est effectuée à l'aide de logiciels utilisant des paramètres et des filtres bien définis. L'appel des bases (en anglais *base calling*) est réalisé par Torrent Browser et plusieurs logiciels seront utilisés pour poursuivre l'analyse⁵⁴. Les paramètres utilisés pour réaliser l'analyse des variants sont ceux mis au point par les membres du consortium du panel AmpliSeq^{MC} AML. Le seuil minimal concernant la profondeur de lecture est de 500x. Le critère de qualité est établi à 20 ou plus. Une fois les variants obtenus, ils sont filtrés, comparés entre eux pour éliminer les faux positifs, interprétés et caractérisés selon l'algorithme élaboré par l'American College of Medical Genetics (ACMG) (Annexe A). Les mutations reconnues et rapportées dans la littérature ne seront pas validées. Toute nouvelle mutation non répertoriée sera confirmée par une seconde technique (séquençage Sanger, sonde TaqMan ou analyse de la longueur des fragments d'ADN).

⁵¹ PGM : Personal Genome Machine.

⁵² Les 19 gènes du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML de Life Technologies sont les suivants: *CEBPA*, *DNMT3A*, *GATA2*, *TET2*, *TP53*, *ASXL1*, *BRAF*, *CBL*, *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *NPM1*, *NRAS*, *PTPN11*, *RUNX1* et *WT1*.

⁵³ Information tirée du site Web de EMBL-EBI, *Ion Torrent: Proton / PGM sequencing*, disponible à :

<https://www.ebi.ac.uk/training/online/course/ebi-next-generation-sequencing-practical-course/what-next-generation-dna-sequencing/ion-tor-re> (consulté le 21 mai 2015).

⁵⁴ Les logiciels Ion Reporter (Life Technologies) et le système Galaxy avec les outils FASTQ, TopHat2, BWA et Haplotype Caller (outil d'analyse de variants de l'ensemble GATK) seront utilisés.

2.3 Modalités d'administration du test

Le prélèvement d'un échantillon de moelle osseuse ou de sang⁵⁵ est effectué le plus souvent chez un patient hospitalisé, parfois en clinique externe ou au service des urgences. L'échantillon est ensuite acheminé au laboratoire de diagnostic moléculaire où l'ADN génomique est préparé et le SNG est effectué. Le rapport validé est transmis à l'équipe de soins qui oriente les traitements selon la catégorie de risque à laquelle appartient le patient (voir la section 3.2). Un algorithme d'interprétation des résultats de séquençage relatifs à la LMA sera utilisé par le centre demandeur (Annexe B).

Le temps de réponse estimé est de 15 à 20 jours ouvrables. Si les renseignements cliniques disponibles exigent l'obtention urgente des résultats, il est possible de réaliser l'analyse dans un court délai (5 jours ouvrables). Dans un tel cas, seuls l'échantillon urgent ainsi qu'un échantillon témoin (contrôle de qualité interne) seront analysés.

2.4 Société ou concepteur

Life Technologies

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Le système de séquençage Ion Torrent^{MC} PGM (Life Technologies) a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis pour un usage en diagnostic clinique.

Le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML (Life Technologies) est une trousse conçue pour la détection des mutations somatiques dans les cas de LMA. Cette trousse est offerte depuis juin 2014 à des fins de recherche⁵⁶.

2.6 Valeur pondérée

Coût de l'analyse de 9 gènes par SNG

- 1) 810 \$ (groupe de 4 échantillons de patient et échantillons témoins⁵⁷);
- 2) 2 040 \$ (1 échantillon et 1 échantillon témoin).

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les nouveaux cas de LMA admissibles à une greffe de cellules souches hématopoïétiques parmi les patients âgés de 65 ans et moins.

3.2 Description de la maladie visée

La leucémie myéloïde aiguë (LMA) est une hémopathie maligne hétérogène caractérisée par l'expansion clonale de cellules myéloblastiques dans le sang, la moelle osseuse ou dans d'autres tissus. Il s'agit de la forme la plus commune de leucémie aiguë chez les adultes. L'âge médian est de 67 ans au moment du diagnostic

⁵⁵ Un échantillon sanguin peut être utilisé si la proportion de blastes est suffisamment élevée, soit 90 % (information fournie par le demandeur).

⁵⁶ L'information est tirée du site Web de AmpliSeq, disponible à : <https://www.ampliseq.com/> (consulté le 15 juin 2015).

⁵⁷ Échantillon témoin : échantillon préalablement analysé par séquençage dans lequel un ou plusieurs variants ont été détectés.

[NCCN, 2015]. Certains cas de LMA sont dits *de novo* (ou primaires) et d'autres peuvent être consécutifs aux traitements de chimiothérapie ou de radiothérapie.

L'analyse cytogénétique d'un échantillon de moelle osseuse permet de révéler le caryotype ainsi que les anomalies les plus courantes des cellules tumorales et d'établir le diagnostic de la LMA [NCCN, 2015]. Le caryotype peut être normal, favorable ou défavorable. La pertinence pronostique des anomalies cytogénétiques a mené à l'adoption d'un consensus sur la stratification du risque déterminée à partir du caryotype montrant des différences significatives sur le plan de la survie globale [Slovak *et al.*, 2000] (Tableau 1).

Tableau 1 Catégories de risque déterminées à partir de l'analyse du caryotype

CLASSIFICATION CYTOGÉNÉTIQUE	RÉPARTITION DES CAS	CATÉGORIE DE RISQUE	SURVIE GLOBALE À 3 ANS
Caryotype favorable*	10,6 %	Favorable	58 %
Caryotype normal	44,7 %	Intermédiaire 1	36 %
Caryotype avec anomalies à risque intermédiaire	24,1 %	Intermédiaire 2	
Caryotype défavorable	20,6 %	Défavorable	11 %

Source : Grossmann *et al.*, 2012; Patel *et al.*, 2012; Döhner *et al.*, 2010.

* Les leucémies à caryotype favorable se caractérisent par la présence de deux réarrangements spécifiques des gènes *CBF* (sigle de l'anglais *core binding factor*) : les translocations inv(16) ou t(8;21). Comparativement aux autres groupes de risque, les patients atteints de LMA-CBF sont considérés à risque favorable en raison de leurs taux de rémission et de survie élevés [Paschka et Döhner, 2013].

Bien que l'analyse du caryotype permette de dépister rapidement les patients « à risque favorable » ou « à risque défavorable », des analyses additionnelles sont requises afin d'obtenir une stratification plus fine du risque. Ainsi, l'évaluation du profil mutationnel des gènes *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* et *KIT* peut contribuer à préciser le pronostic et à orienter le traitement [NCCN, 2015], particulièrement dans le cas de patients qui présentent un caryotype normal, chez lesquels on rapporte la fréquence de mutations la plus élevée [Grossmann *et al.*, 2012].

Chez les patients atteints de LMA, 45 % à 48 % ont un caryotype normal [Grossmann *et al.*, 2012; Byrd *et al.*, 2002], lequel est associé à un risque intermédiaire [Grimwade *et al.*, 2010; Byrd *et al.*, 2002]. La catégorie de risque cytogénétique « intermédiaire » constitue le groupe le plus hétérogène parce qu'elle comprend la LMA à caryotype normal (LMA-CN) et les LMA où les anomalies ne sont considérées ni à risque défavorable, ni à risque favorable [NCCN, 2015].

3.3 Nombre de patients visés

En moyenne, 120 nouveaux patients atteints de LMA se présentent chaque année au centre demandeur, ce qui représente environ le quart de tous les cas au Québec.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hématologie, génétique, hématologie-oncologie

3.5 Données médico-administratives

Les données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) sur la valeur pondérée (VP) et le volume d'activités concernant les analyses incluses dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* qui seront remplacées par le SNG sont présentées dans le tableau 2, y compris l'analyse du gène *FLT3*, laquelle sera complémentaire. Ces analyses sont présentement réalisées par PCR ou par séquençage direct. Les données sur les volumes d'activités concernant l'analyse des gènes *RUNX1* et *TP53* ne sont pas disponibles actuellement, parce que l'introduction de ces analyses dans le *Répertoire* est récente.

Tableau 2 Données médico-administratives sur les analyses incluses dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* concernant l'année 2014-2015

GÈNE	CODE	VALEUR PONDÉRÉE	VOLUME ANNUEL *	INCIDENCE BUDGÉTAIRE [†]
<i>NPM1</i>	60171	102	246	25 092 \$
<i>NPM1</i> exon 12	20075	126	19	2 394 \$
<i>CEBPA</i>	60166	234	127	29 718 \$
<i>KIT</i> exon 12	21021	125	4	500 \$
<i>FLT3-ITD</i>	20992	73	568	41 464 \$

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

†L'incidence budgétaire est calculée en multipliant le volume annuel par la valeur pondérée.

3.6 Brève description de la situation actuelle

La détermination de la catégorie de risque reposait auparavant sur l'analyse du caryotype et constituait un facteur prédictif significatif de la réponse au traitement [Slovak *et al.*, 2000]. Les anomalies chromosomiques constituaient les indicateurs pronostiques les plus fiables relativement à l'atteinte d'une rémission complète⁵⁸, d'un risque de rechute ou de la survie à long terme chez les adultes atteints de LMA. Actuellement, la détermination du profil mutationnel (réarrangements et mutations ponctuelles) de certains gènes associés à la LMA, de concert avec l'analyse du caryotype, permet une meilleure stratification pronostique des LMA [Dohner *et al.*, 2010].

En effet, l'analyse du profil mutationnel et des dérèglements de l'expression des gènes a permis de mieux comprendre la diversité génétique dans les divers groupes

⁵⁸ On parle de rémission complète lorsqu'aucune cellule cancéreuse ne peut être détectée dans l'organisme, qu'aucune tumeur ne peut être détectée à l'examen clinique ou par des techniques d'imagerie, ou qu'aucune anomalie ne peut être détectée dans la moelle osseuse, le sang ou les urines. Information tirée du site Web « Rémission, guérison » de l'Institut national du cancer (France), disponible à : <http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/le-cancer-chez-l-enfant/la-remission-la-guerison> (consulté le 15 juin 2015).

cytogénétiques, en particulier dans le groupe hétérogène de patients atteints de LMA-CN [Schlenk *et al.*, 2008].

L'analyse du profil mutationnel des gènes associés à la LMA est généralement réalisée par une PCR et un séquençage direct de type Sanger. Étant donné le nombre grandissant de gènes ayant une signification pronostique, le SNG est davantage utilisé en clinique. Le séquençage de Sanger ainsi que les autres techniques employées demeurent tout de même utiles à la confirmation de certaines mutations non répertoriées. Toutefois, la sensibilité du séquençage de Sanger est limitée (généralement 15 % à 25 %) concernant les mutations somatiques, comparativement au SNG. Les techniques ayant recours à la PCR en temps réel (qPCR) demeurent néanmoins les plus sensibles (de l'ordre de 0,2 %), mais ne permettent de détecter que quelques mutations spécifiques à la fois par rapport au très grand nombre de mutations que le SNG permet de détecter [Hughes *et al.*, 2006].

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

La stratification pronostique de base, établie à partir de l'analyse cytogénétique des cellules blastiques de la moelle osseuse ou du sang, ne permet pas à elle seule de déterminer avec précision le pronostic (catégorie de risque) de tous les patients, en particulier ceux qui n'ont pas d'anomalies chromosomiques apparentes (caryotype normal). On attribue à ces patients un risque cytogénétique dit « intermédiaire », ce qui ne permet pas de statuer sur les risques de rechute. Le séquençage d'un panel de gènes associés à la LMA permettra de préciser le pronostic de ces patients et, pour la majorité des cas, de les reclasser dans les catégories de risque « favorable » ou « défavorable », à la lumière de leur profil mutationnel détaillé.

L'analyse du profil mutationnel de ces gènes aura une répercussion directe sur les patients, car ces derniers pourront ainsi obtenir un traitement adapté à la catégorie de risque qui leur est attribuée. Selon le demandeur, les indications de greffe de cellules souches varient en fonction de la catégorie de risque à laquelle appartient un patient. À la suite d'une première rémission complète, les patients « à risque favorable » ne seront pas orientés vers la greffe en raison du risque plus faible de rechute qu'ils présentent. Les patients qui présentent un risque élevé de rechute seront mieux repérés et auront donc une meilleure chance de recevoir une greffe de cellules souches au moment de leur première rémission complète. Les patients dont le pronostic est mauvais, c'est-à-dire qui n'ont aucune chance de guérison par la chimiothérapie seule, pourront obtenir plus rapidement une greffe de cellules souches, là où leurs chances de guérison sont les meilleures. Concernant les patients dits « à risque de complications », s'ils subissent une chimiothérapie intensive, la présence d'une mutation dite « défavorable » (p. ex. une mutation dans le gène *TP53*) pourrait orienter le médecin vers une approche moins agressive, par exemple un traitement palliatif, afin d'éviter de prescrire un traitement de chimiothérapie toxique et inefficace.

La liste des gènes ayant une signification pronostique dans les cas de LMA s'allonge rapidement et rend le séquençage de Sanger de plus en plus coûteux et complexe en comparaison du SNG. L'analyse d'un panel de gènes restreint et validé cliniquement permettrait non seulement d'améliorer la précision du pronostic, mais également de

réduire de façon importante les coûts de séquençage et de faire un usage plus judicieux de la greffe de cellules souches.

L'analyse par SNG de 9 gènes associés à la LMA à l'aide de la trousse Ion AmpliSeq^{MC} AML permettra de remplacer certaines analyses déjà incluses dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*⁵⁹, soit la recherche de mutations dans les gènes *NPM1* (code 65150), *CEBPA* (code 65098) et *KIT* (code 65180), qui sont actuellement réalisées par PCR ou par séquençage direct. L'analyse des gènes *RUNX1* (code 65120) et *TP53* (code 65122), qui a fait récemment l'objet d'une recommandation d'introduction dans le *Répertoire* par l'INESSS, est également couverte par le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML. La recherche de longues insertions dans le gène *FLT3* (*FLT3*-ITD⁶⁰) (code 65088) sera faite par PCR, et sera complémentaire au SNG⁶¹. L'analyse des gènes *TET2*, *IDH2* et *ASXL1* (inclus dans le panel), dans lesquels la recherche individuelle de mutations par séquençage Sanger est ardue et coûteuse, répondrait à un besoin clinique qui n'est pas couvert actuellement.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

L'analyse par SNG du profil mutationnel des gènes du panel LMA n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic, mais plutôt de préciser le pronostic préalablement établi à partir de l'analyse cytogénétique.

4.2 Valeur pronostique

La prise en charge d'un patient atteint de LMA varie en fonction de la catégorie de risque à laquelle il appartient. Selon la classification des groupes de risque de l'European LeukemiaNet (ELN), décrite dans l'annexe C du présent avis, l'analyse du caryotype et des marqueurs moléculaires permet de déterminer si le recours à une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques à la suite d'une première rémission complète est judicieux.

En général, les patients de la catégorie de risque « favorable » ne sont pas considérés comme de bons sujets pour recevoir une greffe de cellules souches, contrairement à ceux de la catégorie de risque « défavorable ». Par ailleurs, concernant les patients qui ne présentent aucune anomalie du caryotype et qui font partie des catégories de risque « intermédiaire 1 » (LMA-CN, excepté ceux inclus dans la catégorie « favorable ») et « intermédiaire 2 », la réponse au traitement classique demeure parfois insatisfaisante [Döhner *et al.*, 2010]. Il s'agit d'un groupe de patients dont le pronostic est hétérogène et concernant lequel la décision de proposer ou non une greffe de cellules souches est difficile à prendre, malgré la détermination du profil mutationnel des gènes *NPM1*, *CEBPA* et *FLT3* inclus dans le modèle de stratification de l'ELN. L'ajout de nouveaux marqueurs moléculaires pourrait permettre de préciser

⁵⁹ Les codes mentionnés dans la présente section sont ceux de l'édition 2015-2016 [MSSS, 2015].

⁶⁰ *FLT3*-ITD : duplication interne en tandem (*internal tandem duplication*) du gène *FLT3*.

⁶¹ L'analyse *FLT3* incluse dans le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML ne couvre pas le site d'insertion *FLT3*-ITD, une mutation déterminante à des fins pronostiques. La détection de la présence ou de l'absence de *FLT3*-ITD devra donc, pour l'instant, être effectuée séparément par une PCR simple. Dès que la couverture de cette région sera incluse dans le panel, l'analyse *FLT3*-ITD du *Répertoire* (code 65088) ne sera plus utile (information du Dr Lambert Busque, communication écrite du 25 mai 2015).

le pronostic d'un plus grand nombre de ces patients et, ultimement, d'offrir le traitement approprié [Luthra *et al.*, 2014; Patel *et al.*, 2012].

TET2

L'effet pronostique des mutations dans les gènes *TET2* et *IDH2* est controversé [Grossmann *et al.*, 2012]. Concernant le gène *TET2*, deux études de cohortes rapportent un effet défavorable de mutations dans le gène *TET2* (*TET2+*) [Weissmann *et al.*, 2012; Metzeler *et al.*, 2011b] et trois études de cohortes n'ont pas rapporté d'effet pronostique significatif associé à ces mutations [Damm *et al.*, 2014; Gaidzik *et al.*, 2012; Nibourel *et al.*, 2010] (Tableau 3). Les deux études ayant rapporté un effet défavorable de *TET2+* étaient constituées de cohortes de patients atteints de LMA-CN (en majorité *de novo*) âgés respectivement de 18 à 83 ans [Metzeler *et al.*, 2011b] et de 19,7 à 89,8 ans (âge médian de 66,4 ans) [Weissmann *et al.*, 2012]. Par contre, deux des trois autres études qui n'ont rapporté aucun effet pronostique significatif étaient constituées de cohortes où l'âge des patients était inférieur à 60 ans. On observe également que l'effet pronostique peut varier selon la catégorie de risque attribuée à partir de la classification de l'ELN. À cet égard, l'étude de Metzeler et ses collaborateurs [2011b] a rapporté, d'une part, que l'effet de *TET2+* était significativement défavorable concernant le taux de rémission complète chez les patients de la catégorie de risque « favorable » et, d'autre part, que le statut *TET2+* n'avait montré aucun effet sur la survie sans événement (SSE) à 3 ans et sur la survie globale (SG) à 3 ans chez les patients de la catégorie « à risque intermédiaire » [Metzeler *et al.*, 2011b]. Un effet différentiel a également été rapporté dans l'étude de Gaidzik et ses collaborateurs [2012] concernant le taux de rémission complète. Par ailleurs, un effet favorable significatif et confirmé par une analyse multivariée a été observé concernant le taux de rémission complète dans le groupe de patients de la catégorie « intermédiaire 1 », contrairement à ce qui a été observé dans le groupe de patients de la catégorie « à risque favorable ». De plus, l'effet pronostique de *TET2+* serait défavorable lorsqu'il est associé à la présence de duplications dans le gène *FLT3* (*FLT3-ITD*⁶²) [Damm *et al.*, 2014]. Ainsi, l'effet pronostique de *TET2+* serait influencé par l'âge, la catégorie de risque et la présence de *FLT3-ITD*.

Tableau 3 Effet pronostique des mutations somatiques du gène *TET2*

ÉTUDE	COHORTE N (ÂGE)	DIAGNOSTIC	MUTATIONS DÉTECTÉES (%)	ISSUE CLINIQUE (MUTÉ C. NON-MUTÉ)			EFFET PRONOSTIQUE
				RÉM-C (%)	SSE (%)	SG (%)	
Nibourel <i>et al.</i> , 2010	111 (15 à 69 ans)	LMA <i>de novo</i>	19/111 (17,1)	n. d.	n. d.	n. s.	Aucun
Gaidzik <i>et al.</i> , 2012	783 âge médian : 47,5 ans (18 à 60)	LMA <i>de novo</i> : 725 LMA-s et LMA- t : 57 cat. ELN : favorable : 155 int.-1 : 437 défavorable :	56/725 (7,7)	cat. ELN favorable : n. s. cat. ELN int.-1 90,0 % c. 66,2 % (RC = 5,59 [IC à 95 %	n. s.	n. s.	Aucun effet SSE et SG Favorable pour RC cat. ELN int.-1

⁶² *FLT3-ITD* : duplication interne en tandem (*internal tandem duplication*) du gène *FLT3*.

ÉTUDE	COHORTE N (ÂGE)	DIAGNOSTIC	MUTATIONS DÉTECTÉES (%)	ISSUE CLINIQUE (MUTÉ C. NON-MUTÉ)			EFFET PRONOSTIQUE
				RÉM-C (%)	SSE (%)	SG (%)	
		121		1,20 à 26,10] p = 0,03)			
Damm <i>et al.</i> , 2014	215 (17 à 60 ans)	LMA-CN LMA <i>de novo</i> : 197 LMA-s : 18	13/215 (6,0)	n. s.	n. s.	n. s.	Aucun effet SSE et SG (défavorable SSE et SG si associé à <i>FLT3</i> -ITD)
Metzeler <i>et al.</i> , 2011b	418 (18 à 83 ans)	LMA-CN <i>de novo</i> <u>cat. ELN</u> : favorable : 199 int.-1 : 219	95/418 (22,7)	cat. ELN favorable : 74 % c. 90 % (p = 0,007)	cat. ELN favorable : SSE 3 ans : 21 % c. 42 % (p < 0,001)	cat. ELN favorable : SG 3 ans : 32 % c. 54 % (p = 0,001)	Défavorable cat. ELN favorable Aucun effet cat. ELN int.-1
Weissmann <i>et al.</i> , 2012	318 âge médian : 66,4 ans (19,7 – 89,8)	LMA <i>de novo</i> : 255 LMA-s : 38 LMA-t : 25	87/318 (27,4)	n. d.	SSE médiane : 6,7 mois c. 18,7 mois (p = 0,009) Délai de rechute médian : 10,3 mois c. 41,3 mois (p = 0,048)	n. s.	Défavorable cat. ELN favorable <i>TET2</i> + ↓SSE (≤ 65 ans), ↑ prob. rechute

Abréviations : cat. : catégorie; ELN : European LeukemiaNet; *FLT3*-ITD : duplication interne en tandem du gène *FLT3*;
int. : intermédiaire; LMA : leucémie myéloïde aiguë; LMA-CN : leucémie myéloïde aiguë avec un caryotype normal; LMA-s : leucémie
myéloïde aiguë secondaire; LMA-t : leucémie myéloïde aiguë consécutive au traitement; N : nombre (population); n. d. : donnée non
disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); prob. : probabilité; RÉM-C : rémission complète; RC :
rapport de cotes (odds ratio); SG : survie globale; SSE : survie sans évènement

IDH2

Les deux mutations détectées le plus fréquemment dans le gène *IDH2* sont localisées aux positions R140 et R172. L'effet pronostique défavorable d'une mutation en position R172 du gène *IDH2* a été rapporté dans deux études de cohorte [Green *et al.*, 2011; Boissel *et al.*, 2010] (Tableau 4). De même, l'effet favorable d'une mutation en position R140 a été mis en évidence dans l'étude de Green et ses collaborateurs [2011]. Cette étude avait pour objectif d'évaluer la contribution des mutations R140 et R172 aux résultats cliniques chez 1 473 patients atteints de LMA. Parmi ceux-ci, 10 % présentaient une mutation dans le gène *IDH2*, dont 20 % en position R172 et 80 % en position R140. Comparativement à une mutation en position R140, une mutation en position R172 (en l'absence de mutation dans les gènes *FLT3* et *NPM1*) a été associée à un pronostic défavorable semblable à celui des patients « à risque défavorable » de cette cohorte en matière de risque de récurrence. La présence d'une mutation en position R140 était par ailleurs un facteur pronostique favorable indépendant pour le risque de rechute et la survie globale. De plus, les auteurs d'une méta-analyse incluant l'étude de Green et ses collaborateurs [2011] concluent que les mutations dans le gène *IDH2* confèrent une tendance pronostique favorable, parce que la majorité de ces mutations sont situées en position R140 [Zhou *et al.*, 2012]. L'étude de Boissel et ses collaborateurs [2010] a également montré l'effet défavorable d'une mutation en position R172 en matière de taux de rémission complète, de survie sans évènement et de survie globale.

Tableau 4 Effet pronostique des mutations somatiques dans le gène *IDH2*

ÉTUDE	COHORTE N (ÂGE)	DIAGNOSTIC N	MUTATIONS DÉTECTÉES N (%)	ISSUE CLINIQUE (MUTÉ C. NON-MUTÉ)			EFFET PRONOSTIQUE
				RÉM-C (%)	SSE (%)	SG (%)	
Boissel <i>et al.</i> , 2010	502 (15 à 70 ans)	LMA <i>de novo</i> LMA-CN : 205	<u>R172</u> 15/502 (3,0) 12/205 (5,9)	LMA-CN : 58 % c. 87 % (p = 0,02)	LMA-CN Risque rechute 5 ans : 100 % c. 60 % (RRI = 2,48 [IC à 95 % : 1,05 – 5,85] p = 0,04)	LMA-CN SG 4 ans : 0 % c. 46 % (RRI = 2,74 [IC à 95 % : 1,33 – 5,68] p = 0,006)	Très défavorable (mutation R172)
Green <i>et al.</i> , 2011	1 473 âge médian : 43 ans* (15 à 68 ans)	LMA <i>de novo</i> : 1 363 LMA-s : 110	148/1 473 (10,0) <u>R140</u> : 119/148 (80) <u>R172</u> : 29/148 (20)	RÉM-C 5 ans : R140 c. R172 (88 % c. 48 %) p < 0,0001 [†] (n. s. par analyse multivariée)	ICR 10 ans : R140 c. R172 (35 % c. 70 %) p = 0,0001 [†]	SG 10 ans : R140 c. R172 (46 % c. 9 %) p = 0,0002 [†]	Défavorable (mutation R172) Favorable (mutation R140)

Abréviations : IC : intervalle de confiance; ICR : incidence cumulative de rechute; LMA : leucémie myéloïde aiguë; LMA-CN : leucémie myéloïde aiguë avec un caryotype normal; LMA-s : leucémie myéloïde aiguë secondaire; N : nombre (population); n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RÉM-C : rémission complète; RRI : rapport de risques instantanés (Hazard ratio); SG : survie globale ; SSE : survie sans évènement

* Une discordance est observée concernant l'âge médian de la cohorte de patients dans le supplément de l'article : on indique 43 ans (15 – 68 ans) dans la section « Patients and mutation analysis » et 48 ans (15 – 68 ans) dans le tableau S1 (Patients demographics).

[†]Les auteurs n'indiquent pas clairement la façon dont les valeurs de p ont été calculées.

ASXL1

Les mutations dans le gène *ASXL1* (*ASXL1*+) ont été associées à un effet pronostique défavorable chez les patients atteints de LMA *de novo* de trois cohortes (Tableau 5). L'étude de Metzeler et ses collaborateurs [2011a] rapporte que la fréquence de détection d'une mutation dans le gène *ASXL1* est significativement plus faible chez les patients âgés de moins de 60 ans comparativement à ceux âgés de 60 ans et plus (3,2 % contre 16,2 %, p < 0,001). Un effet défavorable d'une mutation dans le gène *ASXL1* a été observé chez les patients classés « à risque favorable » (classification ELN) âgés de 60 ans et plus [Metzeler *et al.*, 2011a]. L'étude de Schnittger et ses collaborateurs [2013] montre que la présence de ces mutations est associée à un âge avancé, détectée à une fréquence comparable à celle rapportée dans l'étude de Metzeler et ses collaborateurs [2011a], soit 134 sur 740 (18,1 %) [Schnittger *et al.*, 2013]. Une autre étude de cohorte montre un effet défavorable d'une mutation dans le gène *ASXL1* [Pratcorona *et al.*, 2012]. L'âge médian des patients chez lesquels ce type de mutation a été détecté (54 ans, 15 – 74 ans) était significativement plus avancé que celui des patients chez lesquels ce type de mutation n'a pas été détecté (47 ans, 15 – 77 ans; p = 0,002).

Ainsi, l'effet défavorable d'une mutation dans le gène *ASXL1* serait davantage observé chez les patients de 60 ans et plus, où la fréquence de détection est significativement plus élevée. En règle générale, une allogreffe de cellules souches

n'est pas indiquée pour traiter ces patients. Par ailleurs, les patients visés par l'analyse proposée sont des nouveaux cas de LMA, admissibles à une greffe de cellules souches hématopoïétiques, âgés de 65 ans et moins (voir section 3.1).

Tableau 5 Effet pronostique des mutations somatiques dans le gène *ASXL1*

ÉTUDE	COHORTE N (ÂGE)	DIAGNOSTIC	MUTATIONS DÉTECTÉES N (%)	ISSUE CLINIQUE (MUTÉ C. NON-MUTÉ)			EFFET PRONOSTIQUE
				RÉM-C (%)	SSE (%)	SG (%)	
Metzeler <i>et al.</i> , 2011a	423 (18 à 83 ans) < 60 ans : 189 ≥ 60 ans : 234	LMA-CN <i>de novo</i>	44/423 (10,4) < 60 ans : 6/189 (3,2) ≥ 60 ans : 38/234 (16,2)	Cat. ELN favorable ≥ 60 ans : 53 % c. 71 % (RC = 0,24 [IC à 95 % : 0,06 – 0,90] p = 0,03)	Cat. ELN favorable ≥ 60 ans : SSE 3 ans : 5 % c. 14 % (RRI = 3,61 [IC à 95 % : 1,93 – 6,75] p < 0,001)	Cat. ELN favorable ≥ 60 ans : SG 3 ans : 5 % c. 23 % (RRI = 4,43 [IC à 95 % : 2,35 – 8,33] p < 0,001)	Défavorable, cat. ELN favorable n. s. cat. ELN int.-1
Pratcorona <i>et al.</i> , 2012	882 âge médian : <i>ASXL1</i> + 54 (15 – 74) <i>ASXL1</i> - 47 (15 – 77) p = 0,002	LMA <i>de novo</i> : 775 LMA postSMD : 24 LMA-t : 37	46/882 (5,2) LMA <i>de novo</i> : 35/775 (4,5)	N = 807 (< 65 ans) 61 % c. 79,6 % (p = 0,004)	N = 807 (< 65 ans) n. s.	N = 807 (< 65 ans) SG médiane : 15,9 mois c. 22,3 mois (RRI : 1,64 [IC à 95 % : 1,12 – 2,4] p = 0,010)	Défavorable, SG Mutations associées à un âge avancé
Schnittger <i>et al.</i> , 2013	740 âge médian : 66,9 (18,5 – 100,4)	LMA <i>de novo</i> : 697 LMA-s : 26 LMA-t : 17	134/740 (18,1)	n. d.	SSE médiane : 9,1 mois c. 16,3 mois (p = 0,012) (n. s. par analyse multivariée)	11,0 mois c. 62,2 mois (p < 0,001) (RR : 1,73, p = 0,028)	Défavorable, SG Mutations associées à un âge avancé

Abréviations : cat. : catégorie de risque; ELN : European LeukemiaNet; IC : intervalle de confiance; int. : intermédiaire; LMA : leucémie myéloïde aiguë; LMA-CN : leucémie myéloïde aiguë avec un caryotype normal; LMA-s : leucémie myéloïde aiguë secondaire; LMA-t : leucémie myéloïde aiguë consécutive au traitement; N : nombre (population); n. d. : donnée non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RC : rapport de cotes (odds ratio); RÉM-C : rémission complète; RR : risque relatif; RRI : rapport de risque instantané (Hazard ratio); SG : survie globale; SMD : syndrome myélodysplasique; SSE : survie sans évènement

* Les analyses ont été limitées aux patients de 60 ans et plus, parce que le nombre de patients âgés de moins de 60 ans (n = 6) ne permet pas une évaluation détaillée.

FLT3

Les duplications internes en tandem (ou ITD, sigle de l'anglais *internal tandem duplication*) du gène *FLT3* (*FLT3*-ITD) ont un effet défavorable sur le pronostic et leur présence renverse l'effet favorable des mutations dans les gènes *NPM1* et *CEBPA* [Renneville *et al.*, 2009; Schlenk *et al.*, 2008]. Toutefois, l'analyse du gène *FLT3*, inclus dans le panel, ne couvre pas le site d'insertion des ITD, un facteur pronostique déterminant. La présence ou l'absence de *FLT3*-ITD devra donc, jusqu'à nouvel ordre, être évaluée séparément par PCR.

NPM1, CEBPA, RUNX1, KIT et TP53

En l'absence de *FLT3*-ITD, les mutations dans les gènes *NPM1* [Döhner *et al.*, 2005] et *CEBPA* (biallélique) [Green *et al.*, 2010; Renneville *et al.*, 2009] ont un effet pronostique favorable selon ce qui est rapporté dans la littérature. Les mutations dans les gènes *RUNX1* [Greif *et al.*, 2012; Gaidzik *et al.*, 2011; Schnittger *et al.*, 2011], *KIT* [Paschka *et al.*, 2006; Schnittger *et al.*, 2006] et *TP53* [Grossmann *et al.*, 2012; Rücker *et al.*, 2012] ont un effet pronostique défavorable. Le tableau 6 résume les principaux résultats des études dans lesquelles on rapporte l'effet pronostique de ces gènes, lesquels figurent déjà dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

Tableau 6 Effet pronostique des mutations somatiques dans les gènes *NPM1, CEBPA, RUNX1, KIT et TP53*

GÈNE	COHORTE N (ÂGE)	DIAGNOSTIC N	MUTATIONS DÉTECTÉES (%)	ISSUE CLINIQUE (MUTÉ C. NON MUTÉ)			EFFET PRONOSTIQUE	ÉTUDE
				RÉM-C (%)	SSE (%)	SG (%)		
<i>NPM1</i>	300 (16 à 60 ans)	LMA-CN LMA <i>de novo</i> : 257 LMA-s et LMA-t : 24 n. d. : 19	145/300 (48)	<i>NPM1</i> +; <i>FLT3</i> -ITD- 86 % c. 68,5 % (RC = 2,81 [IC à 95 % : 1,39 – 5,69] p = 0,004)	Meilleure SSR si <i>NPM1</i> +/ <i>FLT3</i> -ITD ⁻ (p < 0,001) [*] (confirmé par analyse multivariée, p < 0,001)	SG 5 ans : ~ 60 % Meilleure SG si <i>NPM1</i> +/ <i>FLT3</i> -ITD ⁻ (p = 0,001) [*] (RRI = 0,44 [IC à 95 % : 0,30 – 0,66] p < 0,001)	Favorable en l'absence de <i>FLT3</i> -ITD	Döhner <i>et al.</i> , 2005
<i>CEBPA</i>	638 (15 à 70 ans)	LMA <i>de novo</i>	53/638 (8)	n. s.	SSR 5 ans : 52 % c. 27 % (p = 0,04)	n. s.	Favorable, davantage chez patients à CN sans <i>FLT3</i> -ITD	Renneville <i>et al.</i> , 2009
	1 427 (âge médian : 43 ans) (≥ 60 ans, N = 35)	LMA <i>de novo</i> (92 %)	107/1 427 (7) <i>CEBPA</i> + : 48/107 (45) <i>CEBPA</i> ++ : 59/107 (55)	n. s.	SSR 8 ans : t. s. (34 %), <i>CEBPA</i> + (35 %), <i>CEBPA</i> ++ (45 %) (p = 0,04) Effet bénéfique <i>CEBPA</i> ++ (RRI = 0,60 [IC à 95 % : 0,40 – 0,91] p = 0,02)	SG 8 ans : 44 % c. 34 % (p = 0,02) t. s. (34 %), <i>CEBPA</i> + (31 %), <i>CEBPA</i> ++ (54 %) (p = 0,004) Effet bénéfique <i>CEBPA</i> ++ (RRI = 0,53 [IC 95 à % : 0,35 – 0,81] p = 0,004)	Favorable, limité aux patients <i>CEBPA</i> ++ sans <i>FLT3</i> -ITD	Green <i>et al.</i> , 2010
<i>RUNX1</i>	945 (18 à 60 ans) âge médian <i>RUNX1</i> + : 48,1 ans (19 – 60)	LMA-CN : 538 Cat. int. : 640	53/945 (5,6) LMA-CN : 34/538 (6,3) cat. int. : 46/640 (7,2)	N = 878 60,4 % c. 73,4 % (p = 0,055) (n. s. selon analyse multivariée)	N = 878 SSE 4 ans : 8 % c. 30 % <u>Cohorte entière</u> (RRI = 1,49 [IC à 95 % : 1,10 – 2,04] p = 0,011) <u>Cat. int.</u> (RRI = 1,61; p = 0,005) <u>LMA-CN</u> (n. s. selon analyse)	N = 878 SG 4 ans : 32 % c. 45 % (p = 0,051) (n. s. selon analyse multivariée sur cohorte entière)	Défavorable LMA-CN : <i>RUNX1</i> + sans effet significatif sur SSR et SG; prédicatif de SSE inférieure	Gaidzik <i>et al.</i> , 2011

					multivariée)			
	449 âge médian : 67,7 ans (18,3 – 90,1)	LMA <i>de novo</i> CN : 262 Cytogén. int. : 187	147/449 (32,7) 35,8 % (> 60 ans) c. 26,3 % (p = 0,050)	n. d.	N = 280 SSE médiane : 285 jours c. 450 jours (p = 0,003) > 60 ans : n. s. cohorte entière et CN; cytogén. int. 280 jours c. 387 jours (p = 0,022) (n. s. selon analyse multivariée)	N = 280 SG médiane : 378 jours c. n. a. (p = 0,003) > 60 ans : cytogén. int. 300 jours c. 595 jours (p = 0,022) RR = 1,59 [IC à 95 % : 1,05 – 2,41] p = 0,029	Défavorable	Schnittger <i>et al.</i> , 2011
	73	LMA-CN	10/73 (13,7) Âge médian : 73 ans (54 –78)	30 % c. 73 % (p = 0,01)	SSR 3 ans : 0 % c. 30,4 % (p = 0,002)	SG 3 ans : 0 % c. 34,4 % (p = 0,001) (RRI = 2,51 [IC à 95 % : 1,1 – 5,8] p = 0,03)	Défavorable, associé à l'âge <i>RUNX1+</i> associé à un âge plus avancé (p = 0,001 muté c. t. s.)	Greif <i>et al.</i> , 2012
KIT	110	LMA-CBF <i>de novo</i> 61 : inv(16) 49 : t(8;21)	Inv(16) : 18/61 (29,5) t(8;21) : 11/49 (22)	Inv(16) : 92 % t(8;21) : 88 %	ICR 5 ans <u>inv(16)</u> : 56 % (IC à 95 % : 31 – 82) c. 29 % (IC à 95 % : 14 – 43) (p = 0,05) (n. s. selon analyse multivariée) <u>t(8;21)</u> : 70 % (IC à 95 % : 38 – 100) c. 36 % (IC à 95 % : 20 – 53) (p = 0,017) (RRI = 5,2 [IC à 95 % : 1,7 – 15,7] p = 0,004)	<u>inv(16)</u> : 48 % c. 68 % (n. s.) (RRI = 3,9 [IC à 95 % 1,4 – 10,7] p = 0,009) <u>t(8;21)</u> : 42 % c. 48 % (n. s.) (n. s. selon analyse multivariée)	Défavorable (exon 17) si caryotype favorable CBF	Paschka <i>et al.</i> , 2006
	1 940	LMA <i>de novo</i> : 1 614 LMA-s : 201 LMA-t : 125 t(8;21) : 76 LMA-CN : 908	Mutation D816 : 33/1940 (1,7) t(8;21) : 8/76 (10,5)	n. d.	<u>SSE médiane</u> <u>t(8;21)</u> : 244 jours c. 744 jours (p < 0,003) LMA-CN (cat. int.) : n. s.	<u>SG médiane</u> <u>t(8;21)</u> : 304 jours c. 1 836 jours (p < 0,001) LMA-CN (cat. int.) : n. s.	Défavorable si caryotype favorable CBF, t(8;21)	Schnittger <i>et al.</i> , 2006
TP53	1 000	447 : CN 116 : caryotype complexe [†] 33 : t(15;17) 40 : t(8;21) 30 : inv(16) 331 : autres anomalies	115/1 000 (11,5) 85/116 (73,3)	n. d.	N = 841 SSE 3 ans : 0 % c. 33,8 % SSE médiane : 3,1 mois (n = 80) c. 13,3 mois (n = 761) (RRI = 2,51 [IC à 95 % : 1,90 –	N = 841 SG 3 ans : 0 % c. 49,6 % SG médiane : 4,6 mois (n = 80) c. 35,6 mois (n = 761) (RRI = 3,01	Très défavorable <i>TP53+</i> aggrave pronostique d'un caryotype complexe	Grossmann <i>et al.</i> , 2012

					3,30] p < 0,001)	[IC à 95 % : 2,23 – 4,05] p < 0,001)		
234	LMA avec caryotype complexe 133 : <i>de novo</i> 31 : LMA-s 30 : LMA-t 40 : inconnu	141/234 (60)	28 % c. 50 % (p = 0,01) (RC = 0,55 [IC à 95 % : 0,30 – 1,00] p = 0,05)	N = 155 SSE 3 ans : 1 % c. 13 % (p = 0,0007) SSR 3 ans : 7 % c. 30 % (p = 0,01)	N = 155 SG 3 ans : 3 % c. 28 % (p < 0,0001) (RRI = 2,43 [IC à 95 % : 1,56 – 3,77] p = 0,0001)	Défavorable	Rücker <i>et al.</i> , 2012	

Abréviations : cat. : catégorie de risque; CBF : *core-binding factor*; CN : caryotype normal; *FLT3*-ITD : duplication interne en tandem du gène *FLT3*; IC : intervalle de confiance; ICR : incidence cumulative de rechute; int. : intermédiaire; inv(16) : inversion affectant le chromosome 16; LMA : leucémie myéloïde aiguë; LMA-CBF : leucémie myéloïde aiguë de type CBF; LMA-CN : leucémie myéloïde aiguë avec un caryotype normal; LMA-s : leucémie myéloïde aiguë secondaire; LMA-t : leucémie myéloïde aiguë consécutive au traitement; n. a. : non atteint; N : nombre (population); n. d. : donnée non disponible; n. s. : non significatif; p : valeur de p (signification statistique); RC : rapport de cotes (odds ratio); RÉM-C : rémission complète; RR : risque relatif ; RRI : rapport de risque instantané (Hazard ratio); SG : survie globale; SSE : survie sans événement; SSR : survie sans rechute; t(8;21) : translocations affectant les chromosomes 8 et 21; t(15;17) translocations affectant les chromosomes 15 et 17: t. s. : type sauvage (sans mutation)

* Comparativement aux trois groupes suivants : *NPM1*-/*FLT3*-ITD⁻; *NPM1*+/*FLT3*-ITD⁺; *NPM1*-/*FLT3*-ITD⁺

† Un caryotype complexe est défini comme étant constitué d'au moins 5 anomalies chromosomiques [Grimwade *et al.*, 2010] ou, selon Döhner et ses collaborateurs [2010], d'au moins 3 anomalies chromosomiques en l'absence de t(8;21), inv(16) ou t(16;16) et t(15;17).

L'effet pronostique d'une mutation peut varier selon la présence ou l'absence de mutations dans d'autres gènes. Ainsi, l'analyse par panel de gènes permet de prendre en compte les interactions complexes entre les gènes. Par exemple, les cas de LMA-CN dont le profil mutationnel est *NPM1*+ ou *CEBPA*+ et *FLT3* non muté ont un pronostic similaire à celui des cas de LMA à caryotype favorable (inv(16) ou t(8;21)) [Renneville *et al.*, 2009; Schlenk *et al.*, 2008; Döhner *et al.*, 2005], soit un taux de guérison de 60 % à 70 % [Estey, 2013]. Par contre, ces mêmes cas de *FLT3*-ITD ont seulement 30 % à 40 % de chances de guérison, et ce, même à la suite d'une greffe de cellules souches [Estey, 2013].

Le tableau 7 présente quelques études illustrant la pertinence d'avoir recours à une analyse par panel de gènes pour établir la stratification pronostique des LMA. Une étude portant sur 1 000 patients atteints de LMA, dont 447 présentaient un caryotype normal, avait pour objet d'évaluer la valeur de l'analyse mutationnelle pour réaliser la stratification pronostique en remplacement de la cytogénétique [Grossmann *et al.*, 2012]. Le système de SNG Roche 454 a été utilisé pour analyser les gènes *CEBPA*, *RUNX1* et *TET2* et des techniques plus classiques ont été choisies pour analyser les autres gènes. Les auteurs concluent que ce modèle est meilleur que ceux du Medical Research Council (MRC)⁶³, de l'ELN⁶⁴ et de Patel et ses collaborateurs [2012], qui reposent à la fois sur la cytogénétique et les marqueurs moléculaires, parce qu'il permet une meilleure différenciation pronostique. En effet, 5 sous-groupes pronostiques dont les différences significatives de la survie globale à 3 ans variaient de 82,9 % à 0 % ont pu être déterminés, uniquement à l'aide de marqueurs moléculaires.

⁶³ MRC : Medical Research Council [Grimwade *et al.*, 2010]. Le modèle de stratification du MRC est fondé uniquement sur la cytogénétique : les catégories de risque « favorable », « intermédiaire » et « défavorable » peuvent être déterminés.

⁶⁴ ELN : European LeukemiaNet [Döhner *et al.*, 2010].

Un panel de 18 gènes a été évalué dans une étude de cohorte de 502 patients dont la majorité présentait un caryotype normal [Patel *et al.*, 2012]; 9 de ces gènes sont inclus dans le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML. Les gènes *NPM1* et *CEBPA* ont été analysés par SNG et les 16 autres, par séquençage Sanger. Les auteurs ont émis l'hypothèse selon laquelle une analyse mutationnelle intégrée permettrait, entre autres, de déterminer des sous-groupes de patients atteints de LMA pour lesquels une plus forte dose de chimiothérapie d'induction constituerait une meilleure option de traitement. Cette analyse mutationnelle plus étendue a permis de préciser le pronostic (préalablement déterminé par l'analyse cytogénétique) d'une grande proportion des patients classés « à risque intermédiaire ». Des 63 % de patients classés « à risque intermédiaire » (survie à 3 ans de 36 %), 35 % sont demeurés dans ce groupe (survie à 3 ans de 42 %), 26 % sont passé dans le groupe de patients classés « à risque favorable » (survie à 3 ans de 64 %) et 39 %, dans le groupe de patients classés « à risque défavorable » (survie à 3 ans de 12 %).

Une étude de cohorte récente constituée de 139 patients atteints de LMA, dont 117 cas *de novo*, avait pour objectif d'analyser la fréquence et l'effet pronostique d'anomalies additionnelles détectées dans un groupe de patients classés « à risque favorable » [Krauth *et al.*, 2014]. On a observé dans ce groupe une fréquence élevée d'anomalies moléculaires autres que la translocation affectant les chromosomes 8 et 21, désignée par t(8;21), et un taux de rechute de 30 %. La présence de mutation dans le gène *ASXL1* s'est avérée être un facteur pronostique défavorable quant à la SSE de même que la présence d'une mutation en position D816 dans le gène *KIT* relativement à la SSE et à la SG. Les auteurs concluent que les mutations impliquées dans l'activation de la voie de signalisation RAS (mutations des gènes *KIT* et *ASXL1*) devraient être recherchées chez tous les patients qui présentent la t(8;21) lors du diagnostic de la LMA afin de préciser la catégorie de risque qui doit leur être attribuée.

Tableau 7 Pertinence d'une analyse par panel de gènes pour établir la stratification pronostique des LMA

ÉTUDE	DIAGNOSTIC N	CARYOTYPE N	MÉTHODE	FRÉQUENCE DE DÉTECTION D'UNE MUTATION N (%)	STRATIFICATION PRONOSTIQUE
Grossmann <i>et al.</i> , 2012	LMA 1 000	Caryotype normal 447 (44,7 %)	SNG (<i>CEBPA</i> , <i>RUNX1</i> , <i>TET2</i>) qPCR (<i>FLT3</i> -ITD, <i>MLL</i> -PTD, <i>NPM1</i>) Sanger (<i>ASXL1</i> exon 12) dHPLC ou Sanger (<i>TP53</i> exon 4-11) MCA ou Sanger (<i>IDH1</i> , <i>IDH2</i>)	<i>NPM1</i> : 228/447 (51,0) <i>FLT3</i> -ITD : 95/447 (21,3) <i>CEBPA</i> : 52/447 (11,6) <i>CEBPA</i> + : 17/52 (32,7) <i>CEBPA</i> ++ : 35/52 (67,3) <i>ASXL1</i> : 55/447 (12,3) <i>RUNX1</i> : 78/447 (17,4) <i>TP53</i> : 5/447 (1,1) <i>IDH2</i> : 65/473 (13,7) <i>TET2</i> : 72/250 (28,8) <i>MLL</i> -PTD : 35/447 (7,8)	Stratification pronostique en 5 sous- groupes avec différences significatives de survie globale (p < 0,001) : 1. Très favorable : <i>PML-RARA</i> ou <i>CEBPA</i> ++ (SG 3 ans : 82,9 %) 2. Favorable : <i>RUNX1-RUNX1T1</i> , <i>CBFB- MYH11</i> ou <i>NPM1</i> sans <i>FLT3</i> -ITD (SG 3 ans : 62,6 %) 3. Intermédiaire : aucune mutation associée aux groupes 1, 2, 4 ou 5 (SG 3 ans : 44,2 %) 4. Défavorable : <i>MLL</i> -PTD et/ou <i>RUNX1</i> et/ou <i>ASXL1</i> (SG 3 ans : 21,9 %) 5. Très défavorable : <i>TP53</i> (SG 3 ans : 0 %)
Patel <i>et al.</i> , 2012	Divers types de leucémies aiguës, y	Caryotype normal 205	Panel de 18 gènes SNG (<i>NPM1</i> et <i>CEBPA</i>)	<i>FLT3</i> -ITD, <i>NPM1</i> , <i>CEBPA</i> , <i>TET2</i> , <i>IDH2</i> , <i>RUNX1</i> , <i>ASXL1</i> , <i>TP53</i>	Précision du pronostic par l'analyse mutationnelle par panel de 18 gènes <u>Classification cytogénétique</u> :

	compris LMA 502 [†]		Sanger (16 gènes)	* <i>FLT3</i> -TKD, <i>DNMT3A</i> , <i>NRAS</i> , <i>WT1</i> , <i>IDH1</i> , <i>PHF6</i> , <i>KRAS</i> , <i>PTEN</i> , <i>HRAS</i> , <i>EZH2</i>	63 % patients cat. int. <u>Analyse mutationnelle</u> : réduction de la proportion de patients de la cat. int. à 35 % (favorable : 26 %, défavorable : 39 %)
Krauth <i>et al.</i> , 2014	LMA 139 (<i>de novo</i> : 117, LMA-t : 22)	Caryotype favorable t(8;21); <i>RUNX1</i> - <i>RUNX1T1</i>	Sanger	81/117 (69,2) présentent des mutations en plus de l'anomalie chromosomique <i>KIT</i> : 20/117 (17,1) <i>ASXL1</i> : 13/117 (11,1) <i>FLT3</i> -ITD : 7/117 (6,0) <i>IDH2</i> (R140) : 4/117 (3,4 %) <i>NPM1</i> : non détectée <i>IDH2</i> (R172) : non détectée	Effet pronostique défavorable de mutations des gènes <i>ASXL1</i> sur SSE et <i>KIT</i> (D816) sur SSE et SG chez patients dont le pronostic est favorable : t(8;21)/ <i>RUNX1</i> - <i>RUNX1T1</i> <u>SSE 2 ans</u> : - si ≥ 1 mutation : 43,1 % c. 70,1 %, p = 0,015 - <i>ASXL1</i> : 20,0 % c. 59,1 %, p = 0,011 <u>SG 2 ans</u> : - si ≥ 1 mutation : n. s. - <i>KIT</i> (D816) : 59,1 % c. 82,0 %, p = 0,030 *exon 8 ou 11 sans effet sur la SG

Abréviations : cat. : catégorie de risque; dHPLC : chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante (sigle de l'anglais *denaturing high performance liquid chromatography*); ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group; int. : intermédiaire; SSE : survie sans événement; LMA-t : leucémie myéloïde aiguë consécutive au traitement; MCA : analyse de courbe de dénaturation thermique (sigle de l'anglais *melting curve analysis*); *MLL*-PTD : duplication partielle en tandem dans le gène *MLL* (*MLL partial tandem duplication*); N : nombre (population); n. s. non significatif; SG : survie globale; qPCR : réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel; SNG : séquençage de nouvelle génération; t(8;21) : translocations affectant les chromosomes 8 et 21; TKD : domaine tyrosine kinase (sigle de l'anglais *tyrosine kinase domain*)

* Gènes absents du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML

† Cette cohorte inclut une cohorte « test » issue de l'essai clinique ECOG E1900 (N = 398) et une cohorte de validation (N = 104).

4.3 Valeur thérapeutique

L'issue clinique du traitement est influencée par la présence de certaines mutations somatiques dans les cas de LMA-CN (à risque intermédiaire) [Patel *et al.*, 2012; Döhner *et al.*, 2010; Schlenk *et al.*, 2008]. L'effet pronostique documenté des mutations dans certains gènes associé à la LMA permet au clinicien d'offrir plus tôt au patient un traitement adapté au niveau de risque qui lui a été attribué tout en maximisant les chances de réussite.

Les patients classés dans la catégorie « à risque favorable » qui présentent une mutation dans le gène *TET2* répondent mal au traitement classique postrémission⁶⁵. De ce fait, une approche thérapeutique différente pourrait s'avérer plus judicieuse pour traiter quelques-uns de ces patients [Metzeler *et al.*, 2011b].

Une mutation dans le gène *IDH2* est associée à une résistance à la chimiothérapie [Boissel *et al.*, 2010]. Ainsi, une greffe de cellules souches permet d'augmenter significativement les chances de survie à 5 ans des patients qui reçoivent ce traitement, comparativement à ceux qui ne reçoivent pas de greffe (SG à 5 ans : 50 % c. 10,6 %, p = 0,020)⁶⁶ [Yamaguchi *et al.*, 2014].

⁶⁵ Dans le cas des patients âgés de moins de 60 ans du groupe de patients classés « à risque favorable », le traitement postrémission consiste à administrer de la cytosine arabinoside à forte dose, à raison de 3 g/m² sur une période de 3 heures, toutes les 12 heures, les jours 1, 3 et 5, à raison de 3 à 4 cycles [NCCN, 2015].

⁶⁶ Ce résultat est associé aux mutations dans le gène *IDH*, sans distinction *IDH1* ou *IDH2*.

Selon Gale et ses collaborateurs [2008], les patients présentant une proportion élevée d'allèles mutés *FLT3-ITD* (plus de 50 %) ou ceux ayant un profil *FLT3-ITD*+ sans mutation dans le gène *NPM1* courent un risque élevé de rechute un an après leur rémission, ce qui en fait de bons sujets pour des approches thérapeutiques expérimentales [Gale *et al.*, 2008]. En l'absence de *FLT3-ITD*, les patients qui présentent une mutation dans le gène *NPM1* ou dans le gène *CEBPA* ont un pronostic favorable, si bien que les chances de guérison de ces patients ne semblent pas augmenter à la suite d'une allogreffe de cellules souches en première rémission complète [Schlenk *et al.*, 2008]. De plus, les auteurs d'une étude portant sur la proportion d'allèles *FLT3-ITD* mentionnent que les cas *NPM1* mutés avec une faible proportion d'allèles *FLT3-ITD* ne doivent pas être considérés comme des cas différents des cas de *FLT3-ITD* de faible proportion lors de la prise de décision concernant la greffe de cellules souches [Linch *et al.*, 2014].

Chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *RUNX1*, le taux de survie sans rechute à 4 ans est significativement plus élevé chez ceux ayant reçu une allogreffe comparativement à ceux ayant reçu le traitement classique (52 % c. 0 %, $p < 0,0001$) [Gaidzik *et al.*, 2011]. Les résultats de Greif et ses collaborateurs [2012] montrent qu'un traitement classique n'est pas un choix judicieux pour traiter les patients atteints de LMA-CN porteurs de mutations dans le gène *RUNX1* et que la détection de celles-ci permet de repérer les patients chez lesquels le recours à une approche thérapeutique différente permettrait d'améliorer le pronostic [Greif *et al.*, 2012].

Les patients atteints de LMA dont le caryotype est favorable ne voient généralement pas leur pronostic s'améliorer à la suite d'une allogreffe de cellules souches en première rémission complète [Paschka et Döhner, 2013]. Par contre, la présence d'une mutation dans le gène *KIT* fait augmenter le risque de rechute [Paschka *et al.*, 2006] et diminuer la durée de survie sans événement [Schnittger *et al.*, 2006]. Le pronostic défavorable associé à la présence d'une mutation dans le gène *KIT* chez ces patients pourrait justifier le recours hâtif à une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques [Schnittger *et al.*, 2006].

Finalement, la présence d'une mutation dans le gène *TP53* est associée à un pronostic très défavorable indiquant, de préférence, le recours à des traitements palliatifs, parce qu'une chimiothérapie intensive est inefficace en pareil cas [Rücker *et al.*, 2012].

4.4 Validité analytique

L'analyse mutationnelle de 9 gènes associés à la LMA (inclus dans le panel de 19 gènes d'Ion AmpliSeq^{MC} AML) sera réalisée par SNG à l'aide du système Ion Torrent^{MC} PGM. Une description sommaire de ces 9 gènes (transmise par le centre demandeur), y compris la fréquence de détection de mutations, les mutations répertoriées à ce jour ainsi que les régions couvertes par le SNG, est présentée dans le tableau 8 ci-dessous.

Tableau 8 Description des gènes du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML (Life Technologies)*

GÈNE	CODE OMIM	FRÉQUENCE DE DÉTECTION DE MUTATIONS (% DES CAS DE LMA)	MUTATIONS RÉPERTORIÉES À CE JOUR	COUVERTURE	RÉGION COUVERTE PAR SNG
<i>TET2</i>	612839	9 % à 23 % (< 10 % si < 60 ans)	Multiplés mutations réparties sur l'ensemble du gène	100 %	Exons 3 à 11 (codant pour la protéine)
<i>IDH2</i>	147650	10 % (dont 60 % à 80 % sont R140)	Mutations R140 et R172 dans l'exon 4	100 %	Exon 4, inclut les mutations recherchées aux acides aminés R140 et R172
<i>ASXL1</i>	612990	10 % 5 % < 60 ans 15 % à 25 % > 60 ans	Exon 12	100 %	Exon 12
<i>FLT3</i>	136351	30 % CN ou intermédiaire	2 principales mais seule <i>FLT3</i> -ITD sera considérée	100 %	Positions 676 et 830-850
<i>NPM1</i>	164040	30 % 45 % à 60 % si CN	Vingtaine d'insertions, en général de 4 nucléotides, toutes dans l'exon 12	100 %	Exon 12, inclut la région susceptible de présenter des insertions
<i>CEBPA</i> biallélique	116897	5 % à 8 % des caryotypes classés intermédiaires	Multiplés mutations possibles induisant : non-sens en N-terminal et faux-sens en C-terminal	100 %	Exon unique couvert en entier
<i>RUNX1</i>	151385	5 % 8 % à 16 % des LMA à CN	Détectées dans tout le gène (exons 3 à 8)	100 %	Exons 3 à 8
<i>KIT</i>	164920	22 % à 45 % des LMA dites à « CBF »	2 principales, dans les exons 8 et 17	100 %	Exons 8, 10, 11 et 17
<i>TP53</i>	191170	10 % des LMA 70 % des LMA à caryotype défavorable	Multiplés mutations réparties sur l'ensemble du gène	96,7 %	Exons 2 à 12 (codant pour la protéine)

Abréviations : CBF : *core binding factor*; CN : caryotype normal; OMIM : *Online Mendelian Inheritance in Man* (base de données du projet Héritage mendélien chez l'homme); SNG : séquençage de nouvelle génération

* Information fournie par le demandeur. Le panel AML AmpliSeq compte 19 gènes. Cependant, seules les mutations dans les gènes indiqués dans le tableau ci-dessus seront analysées. Le système de séquençage Ion Torrent^{MC} PGM sera utilisé pour réaliser la recherche de mutations.

Sensibilité et spécificité de détection des variants

Le SNG permet d'obtenir simultanément le profil mutationnel de plusieurs gènes. Toutefois, dans les cas de cancer, la détection de mutations somatiques impose des défis techniques uniques comparativement à la détection de mutations germinales [Spencer *et al.*, 2014]. La présence concomitante de cellules saines et de cellules

cancéreuses dans l'échantillon clinique obtenu par une biopsie fait en sorte que la fréquence de détection des mutations somatiques est diminuée de façon variable (effet de dilution). Cet effet s'ajoute à l'hétérogénéité génétique présente dans les cellules cancéreuses elles-mêmes [Spencer *et al.*, 2014]. La détection de variants peu fréquents repose sur l'utilisation d'outils bio-informatiques. L'efficacité de ces outils permet de distinguer les variants du bruit de fond issu des erreurs de séquence ou d'alignement. L'étude de Spencer et ses collaborateurs [2014] avait pour objectif d'évaluer la capacité de certains outils à détecter des variants peu représentés à partir des données obtenues par SNG concernant 26 gènes associés au cancer [Spencer *et al.*, 2014]. Les outils d'analyse de variants SAMtools, Genome Analysis Toolkit⁶⁷ (GATK), VarScan2 et SPLINTER ont été évalués à l'aide d'échantillons d'ADN extrait de diverses lignées cellulaires établies. Les échantillons d'ADN ont été mélangés dans différentes proportions (50 %, 20 %, 10 % et 5 %) afin de générer des échantillons contenant des mutations connues et de fréquence allélique attendue (échantillons mixtes).

Le programme SAMtools s'est avéré être le moins performant en ne détectant que 49 % des variants dont la FAV se situe autour de 25 %. Les outils GATK, VarScan2 et SPLINTER ont détecté au moins 89 % des variants dont la FAV est d'environ 10 %. On observe que dans cette étude, près de 10 % des régions avaient une couverture inférieure à 500x, ce qui diminue la sensibilité de tous les logiciels testés. L'analyse de la spécificité a révélé que les outils GATK et SPLINTER produisent en moyenne 6,6 (6 - 8) et 4,6 (1 - 13) faux positifs par échantillon, respectivement. Par ailleurs, SAMtools n'a produit aucun faux positif tandis que VarScan2 en a produit en moyenne 18,5 (13 - 25) par échantillon [Spencer *et al.*, 2014].

Ensuite, 5 indels⁶⁸, validés par séquençage Sanger et détectés dans 2 échantillons, ont été utilisés pour évaluer la sensibilité des 4 outils d'analyse pour ce type de variants. L'outil SAMtools n'a détecté aucun des indels validés. SPLINTER en a détecté un seul, mais dans toutes les proportions alléliques testées. L'outil GATK a détecté les 5 indels à une FAV de 20 % seulement à la suite de l'ajustement des paramètres du logiciel. À une FAV égale ou inférieure à 10 %, l'outil GATK a détecté 3 des 5 indels. Enfin, l'outil VarScan2 a détecté les 5 indels dans chacun des échantillons mixtes [Spencer *et al.*, 2014].

Validation du système Ion Torrent^{MC} PGM

Une étude de validation du système Ion Torrent^{MC} PGM a été menée à l'aide du panel Ion Torrent AmpliSeq^{MC} cancer⁶⁹ et 70 échantillons de tumeurs solides (22 comportant des mutations connues et 48 évalués par d'autres systèmes de séquençage). Au total, 740 régions ciblées ont été analysées à la suite de l'enrichissement par PCR en émulsion de la librairie construite à partir de chaque échantillon [Singh *et al.*, 2013].

⁶⁷ L'outil d'analyse Haplotype Caller, qui sera utilisé par le centre demandeur, fait partie de l'ensemble d'outils du système bio-informatique GATK.

⁶⁸ Indel : insertion ou délétion trouvée dans une séquence d'acides nucléiques.

⁶⁹ Les 46 gènes inclus dans le panel Ion Torrent AmpliSeq^{MC} cancer sont les suivants : *AKT1*, *BRAF*, *FGFR1*, *GNAS*, *IDH1*, *FGFR2*, *KRAS*, *NRAS*, *PIK3CA*, *MET*, *RET*, *EGFR*, *JAK2*, *MPL*, *PDGFRA*, *PTEN*, *TP53*, *FGFR3*, *FLT3*, *KIT*, *ERBB2*, *ABL1*, *HNF1A*, *HRAS*, *ATM*, *RB1*, *CDH1*, *SMAD4*, *STK11*, *ALK*, *SRC*, *SMARCB1*, *VHL*, *MLH1*, *CTNNB1*, *KDR*, *FBXW7*, *APC*, *CSF1R*, *NPM1*, *SMO*, *ERBB4*, *CDKN2A*, *NOTCH1*, *JAK3* et *PTPN11*. Les gènes *TP53*, *FLT3*, *KIT* et *NPM1* (soulignés dans la liste) sont également inclus dans le panel Ion Ampliseq^{MC} AML utilisé par le centre demandeur.

Parmi les 22 échantillons dont le profil mutationnel était connu, le système Ion Torrent^{MC} PGM a détecté les 29 substitutions de nucléotides attendues, ainsi que 4 des 6 indels. Parmi les 48 autres échantillons, 66 variants ont été détectés en parallèle par les autres systèmes de séquençage.

Le séquençage d'échantillons d'ADN (dilutions en série) issus de deux lignées de cellules cancéreuses (H2122 et DLD1) comportant des mutations connues a été réalisé par deux personnes. Les résultats ont indiqué une sensibilité comparable relativement à la détection d'une mutation homozygote du gène *KRAS* et d'une mutation hétérozygote du gène *MET* à une FAV de 10 %. La reproductibilité de séquençage inter-essai a été déterminée avec l'ADN de cellules H2122 (dilution à 10 %; 14 essais) et l'ADN d'un échantillon de patient (3 mutations; 25 essais). Les résultats ont indiqué une sensibilité reproductible des mutations des gènes *KRAS* et *MET*. La reproductibilité de séquençage intra-essai a été déterminée à l'aide d'un échantillon d'ADN d'un patient comprenant 7 mutations à partir duquel 10 librairies ont été construites et analysées par séquençage sur la même puce. Les résultats ont indiqué une détection reproductible des mutations à une FAV supérieure ou égale à 10 % et une couverture supérieure ou égale à 250X.

Limites possibles du SNG relativement à certains gènes du panel Ion AmpliSeq^{MC}

AML

La valeur pronostique des mutations dans les gènes *CEBPA*, *NPM1* et *FLT3* (seules ou en combinaison) a été démontrée chez les patients atteints de LMA-CN [Döhner *et al.*, 2010; Schlenk *et al.*, 2008]. Selon Döhner et ses collaborateurs [2010], l'analyse mutationnelle de ces gènes permet d'améliorer la stratification du risque chez ces patients et fait partie intégrante du modèle de classification des groupes de risque de l'ELN [Döhner *et al.*, 2010].

CEBPA

L'analyse de l'unique exon du gène *CEBPA* représente un défi technique en raison de son contenu élevé en guanine cytosine (GC), soit 75 %, et de la méthode par PCR à laquelle le système Ion Torrent^{MC} PGM fait appel. Outre le contenu en GC, la présence d'une région avec répétition d'un trinucléotide, la complexité des mutations et l'occurrence élevée de mutations des répétitions mononucléotidiques rendent l'analyse de ce gène plus complexe [Behdad *et al.*, 2015]. L'inclusion du gène *CEBPA* dans les panels de SNG a été limitée par la faible couverture des amplicons ainsi que par les défis techniques associés à l'identification et à « l'appel » des variants (en anglais *variant calling*) [Behdad *et al.*, 2015].

L'étude de Behdad et ses collaborateurs [2015] avait pour objectif de mettre au point un test de séquençage Sanger robuste pour détecter les mutations dans le gène *CEBPA* de 2 393 patients chez lesquels un cancer myéloïde était suspecté. Les résultats de séquençage ont révélé que 6,7 % (160/2 393) de ces patients présentaient une mutation dans le gène *CEBPA*, dont 54 % étaient monoalléliques et 46 % étaient bialléliques.

Ce test a permis de détecter toutes les mutations dans le gène *CEBPA* en distinguant les monoalléliques des bialléliques, et ce, jusqu'à une FAV de 10 %. Les auteurs concluent qu'un test par séquençage Sanger robuste continue de jouer un rôle

important dans l'analyse mutationnelle de *CEBPA* en clinique, et ce, en dépit du développement d'approches de séquençage multigènes de type SNG.

Les données obtenues du fabricant (Life Technologies) concernant le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML indiquent une couverture de 100 % (à l'aide de 9 amplicons) du seul exon et des points de jonction du gène *CEBPA* comprenant 1 117 pb. Toutefois, le centre demandeur ne fait aucune mention de la façon dont les particularités de ce gène ont été abordées lors du SNG.

FLT3

L'analyse du gène *FLT3*, en particulier la détection de duplications, peut également être complexe. En effet, il est possible de détecter jusqu'à 5 mutations (duplications) [Gale *et al.*, 2008] pouvant varier entre 3 et 400 pb et plus chez un même patient [Spencer *et al.*, 2013; Gale *et al.*, 2008]. Bien que la technologie SNG permette théoriquement de détecter tous les types de mutations, les logiciels d'analyse de variants les plus courants ont été évalués de manière rigoureuse, mais uniquement sur le plan de leur précision à détecter les insertions et les délétions simples [Spencer *et al.*, 2013]. La plupart des logiciels d'analyse révèlent uniquement les indels détectés initialement lors de la cartographie génétique et de l'alignement des séquences et sont conçus pour détecter les courtes insertions de 1 à 15 pb [Spencer *et al.*, 2013]. L'étude de Spencer et ses collaborateurs [2013] avait pour objectif d'évaluer si le SNG réalisé à l'aide du système Illumina^{MD} à la suite d'un enrichissement par hybridation et capture convient à la détection des mutations *FLT3*-ITD. Divers logiciels d'analyse bio-informatique ont été testés [Spencer *et al.*, 2013]. Seul le logiciel Pindel a permis de détecter toutes les insertions dans 20 échantillons positifs (*FLT3*-ITD+; sensibilité de 100 %; IC à 95 % : 83 % à 100 %), et aucun faux positif dans les 29 échantillons négatifs (*FLT3*-ITD-; spécificité de 100 %; IC à 95 % : 88 % à 100 %), détectées par PCR. Les auteurs concluent que les duplications dans le gène *FLT3* peuvent être détectées de façon fiable à l'aide d'une méthode par hybridation et que Pindel est le meilleur logiciel pour les détecter.

Une étude récente de Cheng et ses collaborateurs [2014], qui avait pour objectif d'évaluer la sensibilité et la spécificité d'un système d'analyse SNG (Illumina^{MD} MiSeq^{MD}) avec enrichissement par PCR en émulsion (RainDance DeepSeq^{MD}) relativement à la détection de mutations préalablement détectées par d'autres méthodes (y compris celle de Sanger), a toutefois nuancé les résultats de Spencer et ses collaborateurs [2013]. Les résultats ont révélé que les *FLT3*-ITD détectées par le logiciel Pindel avec les données issues de RainDance devraient être confirmées par une méthode indépendante avant d'être rapportées, et ce, en raison de la sous-estimation des fréquences de variants [Cheng *et al.*, 2014].

Une étude ayant comparé les systèmes de séquençage MiSeq^{MD} et Ion Torrent^{MC} PGM a porté sur l'analyse de 54 gènes (TruSeq^{MD} Amplicon Cancer Panel) associés au cancer, y compris 10 gènes associés à la LMA (dont 4 gènes inclus dans panel du demandeur, soit *FLT3*, *NPM1*, *IDH2*, *KIT*) [Luthra *et al.*, 2014]. Le logiciel Pindel a été utilisé pour détecter les duplications dans le gène *FLT3* (*FLT3*-ITD). Concernant les variants simples dans les 44 échantillons analysés, un degré élevé de concordance des 2 systèmes a été observé. Un total de 110 variants (variations et insertions d'un seul nucléotide) ont été détectés par MiSeq^{MD}, parmi lesquels 102 ont été confirmés

par Ion Torrent^{MC} PGM. Concernant la détection de *FLT3*-ITD, aucun de ces 2 systèmes n'y est arrivé.

L'analyse du gène *FLT3* incluse dans le panel Ion AmpliSeq^{MD} AML ne couvre pas le site d'insertion *FLT3*-ITD, un facteur pronostique déterminant. La recherche de longues insertions dans le gène *FLT3* (*FLT3*-ITD) sera faite par PCR simple et sera complémentaire au SNG.

4.5 Données fournies par le demandeur

Contrôle interne

Les échantillons prélevés sur des patients seront analysés en parallèle à l'aide d'un échantillon témoin (échantillon contenant des variants connus) à des fins de contrôle interne. Les deux séquences du contrôle interne (présence de variants et de leur FAV) seront comparées. Si des différences significatives sont observées entre les deux séquences, les échantillons des patients seront analysés à nouveau.

Contrôle externe

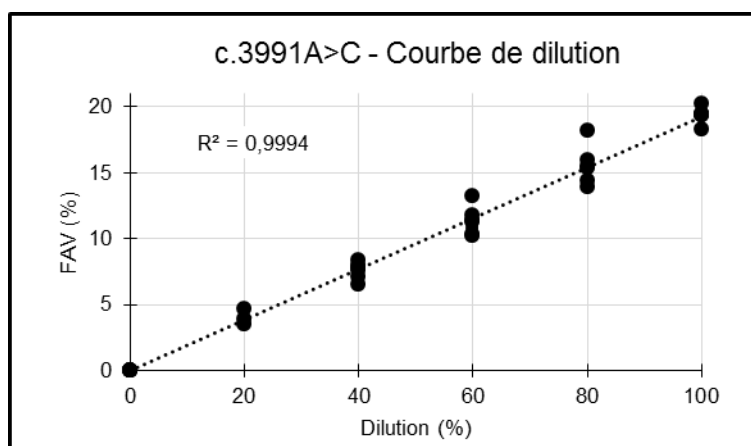
Des échantillons seront envoyés à d'autres laboratoires membres du consortium international AML où ils seront analysés et les résultats de séquençage seront comparés.

Validation du système Ion Torrent^{MC} PGM

Le centre demandeur a procédé à des études de validation interne et externe montrant la sensibilité et la spécificité de la technique de SNG à l'aide du système Ion Torrent^{MC} PGM.

La sensibilité de ce système sur une librairie construite à l'aide du panel de gènes Ion AmpliSeq^{MC} AML a été évaluée. Un ADN génomique contenant la mutation c.3991A>C dans le gène *TET2* à une fréquence d'environ 20 % a été utilisé aux fins de cette expérience. Cinq dilutions ont été préparées (non dilué (100 %); 1,25 fois (80 %); 1,67 fois (60 %); 2,5 fois (40 %); 5 fois (20 %) et 6,25 fois (10 %)) et analysées par Ion Torrent^{MC} PGM. Les résultats de cette expérience sont présentés dans la figure 1. Pour une couverture de 500X, la plus faible FAV détectée de façon constante par le système est d'environ 5 %, établissant ainsi la limite de détection de cette couverture à près de 5 %.

Figure 1 Sensibilité du système Ion Torrent^{MC} PGM



La spécificité du système Ion Torrent^{MC} PGM a été estimée à des FAV variant de 5 % à 10 %. Ainsi, 3 mutants dans le gène *TET2* à des FAV inférieures à 10 %, détectées par SNG, soit 005.D (FAV 5 %), 245.A (FAV 7 %) et Z.0519 (FAV 9,4 %), ont été séquencées par séquençage Sanger. Toutes les mutations ont été confirmées par la méthode de Sanger, ce qui indique une spécificité de 100 % dans cette expérience.

Lors du SNG à l'aide du système Ion Torrent^{MC} PGM, chaque séquence est lue des centaines de fois (selon la couverture de chaque allèle). Une couverture minimale de 500X est requise avant de rapporter un résultat. De plus, le séquençage d'échantillons d'ADN datant de plus de 10 ans a été réalisé avec succès.

Validation à l'aide d'échantillons cliniques

a) Comparaison des résultats obtenus selon les différentes méthodes

La sensibilité analytique et la spécificité analytique du SNG dans un contexte clinique ont été obtenues en utilisant le SNG pour confirmer la présence de mutations préalablement détectées par d'autres méthodes, dont le séquençage Sanger, la sonde TaqMan ou l'analyse de la longueur des fragments d'ADN. Un total de 20 échantillons provenant de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont ont été analysés par séquençage en utilisant le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML (Tableau 9). Parmi les échantillons analysés, soit 14 échantillons comportant un total de 17 mutations préalablement détectées par différentes méthodes, 2 échantillons sont des échantillons témoins négatifs constitués de sang de cordon et 4 autres ont un profil mutationnel inconnu. Toutes les mutations préalablement détectées ont été confirmées par SNG, ce qui indique une sensibilité de 100 %. Une comparaison interéchantillons des variants détectés par SNG a révélé la présence constante d'une mutation (Pro198Ser) dans le gène *CEBPA*. Précisons que cette mutation se trouve dans une section du gène très riche en GC et, par conséquent, difficile à détecter par séquençage. Cette mutation a donc été considérée comme étant un faux positif et a été éliminée. En tenant compte de ce faux positif, une spécificité de 96,4 % a été calculée et attribuée à l'analyse effectuée. Des échantillons datant de plus de 10 ans ont été analysés par SNG et les résultats concordaient avec ceux obtenus initialement par d'autres méthodes.

Tableau 9 Validation des différentes méthodes de détection comparées au SNG réalisé à l'aide du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML (Life Technologies) sur des échantillons cliniques

N°	ÉCHANTILLON	GÈNE (MUTATION) *	TECHNIQUE ORIGINALE DE DÉTECTION DE MUTATIONS	SNG PANEL ION AMPLISEQ ^{MC} AML	
				MUTATION	COUVERTURE MOYENNE
1	Seq-931	<i>NPM</i>	Analyse de fragment	D	3 154
2	14-00314	<i>JAK2</i> (V617F)	TaqMan	D	3 089
3	Seq-609	<i>IDH2</i> (R172K)	TaqMan	D	646,6
4	Seq-566	<i>CEBPA</i> (del272C et insGAA 934-939)	Sanger	D	998,5
5	10393	Inconnu Par SNG : <i>TP53</i> (V134M)	Sanger	D	4 607
6	Seq-444	<i>IDH1</i> (R132C)	TaqMan	D	181,3 [†]
7	Seq-698	<i>IDH2</i> (R140Q)	TaqMan	D	1 068
8	Seq-803	<i>IDH1</i> (R132C)	TaqMan	D	3 302
9	Seq-766	<i>NPM1</i> insertion	Analyse de fragment	D	2 976
10	Seq-112	<i>c-KIT</i> (D816V)	TaqMan	D	677
11	Seq-813	<i>DNMT3A</i> (R882H)	Sanger	D	2 838
12	Seq-794	<i>IDH2</i> (R140Q)	TaqMan	D	2 298
		<i>NPM1</i> insertion	Analyse de fragment	D	
		<i>IDH2</i> (R140Q)	TaqMan	D	
13	Seq-752	<i>IDH1</i> (R132H)	TaqMan	D	1 872
14	8545B	<i>NPM1</i> insertion	Analyse de fragment	D	2 805
		<i>TET2</i> (Y592)	Sanger	D	
15	8676A	Inconnu	s. o.	Aucune	3 476
16	8238A	Inconnu	s. o.	Aucune	3 661
17	DC-5315	Inconnu	s. o.	Aucune	4 137
18	8614A	Inconnu	s. o.	Aucune	3 086
19	FC-533	Échantillon témoin négatif	s. o.	Aucune	2 680
20	FC-600	Échantillon témoin négatif	s. o.	Aucune	2 360

Abréviations : D : détectée; SNG : séquençage de nouvelle génération; s. o. : sans objet

* La validation n'a pas été limitée aux gènes ciblés, mais inclut aussi d'autres gènes compris dans le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML.

† Précisons que la couverture de cette mutation est inférieure à 500x et que dans une réelle recherche de mutations chez un patient, cet échantillon aurait été analysé à nouveau par séquençage afin de confirmer la présence de la mutation.

b) Comparaison des résultats de deux panels

Les résultats obtenus par SNG en utilisant le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML ont été comparés à ceux obtenus par le panel AML ClearSeq (Agilent). La différence majeure entre ces deux panels concerne la technique utilisée pour construire la librairie. Le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML permet de construire une librairie par PCR alors que le panel AML ClearSeq utilise une technologie de capture de fragments d'ADN à l'aide de sondes. Un total de 11 échantillons ont été analysés par séquençage en utilisant les deux panels (Tableau 10). Parmi les échantillons analysés, 6 échantillons contenaient un total de 6 mutations préalablement détectées, 1 échantillon était un échantillon témoin négatif constitué de sang de cordon et le profil mutationnel des 4 derniers échantillons n'était pas connu. La présence de toutes les mutations préalablement détectées par le panel Ion AmpliSeq^{MC} AML a été confirmée par le panel AML ClearSeq, ce qui indique une sensibilité et une concordance de 100 %.

Tableau 10 Validation du SNG par comparaison des panels Ion AmpliSeq^{MC} AML (Life Technologies) et AML Clearseq (Agilent)

N°	ÉCHANTILLON	GÈNE (MUTATION)	PANEL ION AMPLISEQ ^{MC} AML (LIFE TECHNOLOGIES)		PANEL AML CLEARSEQ (AGILENT)	
			MUTATION	COUVERTURE MOYENNE	MUTATION	COUVERTURE MOYENNE
1	Seq-931	<i>NPM</i>	D	3 154	D	1 301
2	14-00314	<i>JAK2</i> (V617F)	D	3 089	D	944,2
3	Seq-609	<i>IDH2</i> (R172K)	D	646,6	D	812,9
4	Seq-566	<i>CEBPA</i> (del272C et insGAA 934-939)	D	998,5	D	854,9
5	10393	Inconnu Par SNG : <i>TP53</i> (V134M)	D	4 607	D	1 763
6	Seq-444	<i>IDH1</i> (R132C)	D	181,3	D	638,3
7	8676A	Inconnu	Aucune	3 476	Aucune	1 192
8	8238A	Inconnu	Aucune	3 661	Aucune	910,6
9	DC-5315	Inconnu	Aucune	4 137	Aucune	1 038
10	8614A	Inconnue	Aucune	3 086	Aucune	972,5
11	FC-533	Échantillon témoin négatif	Aucune	2 680	Aucune	1 155

Abréviations : D : détectée; SNG : séquençage de nouvelle génération

c) Comparaison des résultats obtenus par différents laboratoires

Le laboratoire de diagnostic moléculaire de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont fait partie, avec plusieurs laboratoires externes et le fabricant Life Technologies, du consortium international AML qui contribue à la conception et à l'évaluation du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML. Cette participation a permis de faire la comparaison de ces différents laboratoires à l'aide d'échantillons analysés par séquençage. Ainsi, 4 échantillons fournis par le consortium ont analysés à l'aveugle par SNG à l'aide du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML pour assurer le contrôle de la qualité externe. Les résultats ont été comparés à ceux des laboratoires externes. Toutes les mutations préalablement détectées par séquençage Sanger et confirmées par les laboratoires

externes ont été détectées lors de l'analyse du demandeur, ce qui indique une sensibilité de 100 % de cette technique (Tableau 11).

Tableau 11 Validation de l'analyse par SNG de 4 échantillons fournis par le consortium international AML

N°	ÉCHANTILLON (IDENTIFIANT)	MUTATION DÉTECTÉE PAR SÉQUENÇAGE SANGER	PANEL ION AMPLISEQ ^{MC} AML (LIFE TECHNOLOGIES)	
			MUTATION	COUVERTURE MOYENNE
1	Cons-1 (JK)	<i>CEBPA</i> (V314G)	D	1641
		<i>TET2</i> (V1461fs)	D	
		<i>TET2</i> (S1760fs)	D	
		<i>GATA2</i> (L321F)	D	
2	Cons-2 (MW)	<i>FLT3</i> (D835E)	D	2898
		<i>CEBPA</i> (V296E)	D	
		<i>DNMT3A</i> (R882H)	D	
		<i>GATA2</i> (H258fs)	D	
		<i>NPM1</i> (4 pb, ins)	D	
3	Cons-3 (SF)	<i>CEBPA</i> (I62fs)	D	2723
		<i>CEBPA</i> (E329_Q330ins35)	D	
		<i>CEBPA</i> (909 C>G)	D	
4	Cons-4 (LW)	<i>KIT</i> (D816V)	D	3460
		<i>KIT</i> (417-419delinsTCC)	D	

Abréviations : D : détectée; delins : délétions-insertions (en français, indel pour insertion-délétion); fs : *frameshift* (en français, changement de cadre de lecture); ins : insertion; pb : paire de base

Validation du traitement informatique

Afin de s'assurer de la qualité des résultats, deux logiciels d'analyse des séquences seront utilisés : Ion Reporter (Life Technologies) et le système Galaxy avec les outils FASTQ Groomer, Tophat2, BWA et HaploType Caller (GATK). Ces programmes sont accessibles par Internet et sont constamment mis à jour afin de permettre les meilleures analyses possibles. Toutes les séquences obtenues font l'objet d'une double vérification par ces logiciels. Si une discordance est relevée entre les mutations détectées par les logiciels, deux actions sont prises : une vérification manuelle de la séquence et l'utilisation d'une autre technique (séquençage Sanger, sonde TaqMan, analyse de longueur de fragments d'ADN) en vue d'éliminer l'ambiguïté.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

L'analyse du profil mutationnel de certains gènes associés à la LMA peut orienter le clinicien vers une greffe de cellules souches ou une chimiothérapie intensive, une décision qui peut s'avérer lourde de conséquences pour le patient. Cette décision doit donc être fondée sur les meilleurs indicateurs disponibles.

Procéder à l'analyse du profil mutationnel de certains gènes associés à la LMA aura une incidence directe sur les patients, car ceux-ci pourraient se voir offrir un traitement individualisé en fonction de la catégorie de risque qui leur est attribuée. Il est légitime d'envisager que des souffrances inutiles découlant d'un traitement agressant de chimiothérapie – qui est, dans certains cas, voué à l'échec – pourraient ainsi être évitées aux patients qui présentent des risques de complication. Par ailleurs, la greffe de cellules souches pourrait être offerte en priorité aux patients présentant un risque élevé de rechute ou à ceux dont les chances de guérison par la chimiothérapie seule sont limitées.

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

L'ELN [Döhner *et al.*, 2010] et le NCCN [2015] recommandent de procéder à l'analyse du profil mutationnel des gènes *NPM1*, *FLT3* et *CEBPA* afin d'effectuer la stratification pronostique des LMA, en particulier en présence d'un caryotype normal. Aucune recommandation d'utilisation d'un panel ciblant un plus grand nombre de gènes n'a été faite.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La stratification pronostique des leucémies myéloïdes aiguës (LMA) par séquençage de nouvelle génération (SNG) à l'aide du système Ion Torrent^{MC} PGM de Life Technologies par un panel de 9 gènes permettra, en combinaison avec l'analyse cytogénétique, de préciser le pronostic des patients souffrant de LMA qui présentent un caryotype normal et qui ont été classés initialement dans la catégorie « à risque intermédiaire ». L'analyse du profil mutationnel de ces gènes aura une influence directe sur le choix d'un traitement adapté à la catégorie de risque attribuée au patient. L'utilisation du SNG permettra le recours judicieux à la greffe de cellules souches.

Parmi les 9 gènes visés par l'analyse proposée, 6 gènes figurent déjà dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* et 3 s'y ajouteraient (Tableau 12).

Tableau 12 Résumé de l'état des connaissances scientifiques sur les neuf gènes du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML

GÈNE	CODE DU RÉPERTOIRE 2015-2016	PARTICULARITÉS
<i>NPM1</i>	65150	Effet pronostique démontré
<i>KIT</i>	65180	
<i>RUNX1</i>	65120	
<i>TP53</i>	65122	
<i>CEBPA</i>	65098	Limite technique en SNG relative au contenu élevé en GC
<i>FLT3</i>	65088	Site d'insertion des ITD non couvert par SNG
<i>TET2</i>	s. o.	Effet pronostique controversé ou incertain
<i>IDH2</i>	s. o.	
<i>ASXL1</i>	s. o.	

Abréviations : GC : guanine cytosine; ITD : duplication interne en tandem (en anglais *internal tandem duplication*); SNG : séquençage de nouvelle génération; s. o. : sans objet

L'effet pronostique d'une mutation peut varier selon la présence ou l'absence de mutations dans d'autres gènes. Ainsi, la méthode d'analyse par panel de gènes permettrait de prendre en compte les interactions complexes entre les diverses mutations.

Les données de validité analytique fournies par le centre demandeur montrent que le SNG réalisé à l'aide du système Ion Torrent^{MC} PGM affiche une excellente sensibilité de détection comparativement au séquençage Sanger. De plus, la comparaison des données produites par le SNG de divers échantillons cliniques avec d'autres techniques de séquençage ou de génotypage, par d'autres panels de gènes LMA et par d'autres laboratoires montre une excellente concordance.

Toutefois, l'utilisation du panel Ion AmpliSeq^{MC} AML soulève certaines incertitudes concernant l'efficacité des outils d'analyse des variants et l'analyse du profil mutationnel des gènes *CEBPA* et *FLT3*. En particulier, en ce qui concerne la détection de duplications internes en tandem dans le gène *FLT3* (*FLT3*-ITD), le panel ne couvre pas le site d'insertion.

L'analyse du profil mutationnel des gènes *NPM1*, *FLT3* et *CEBPA* est recommandée par l'ELN et le NCCN chez les patients atteints de LMA ayant un caryotype normal (risque intermédiaire).

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Stratification pronostique des leucémies myéloïdes aiguës par séquençage de nouvelle génération (panel de gènes)

La recommandation de l'INESSS

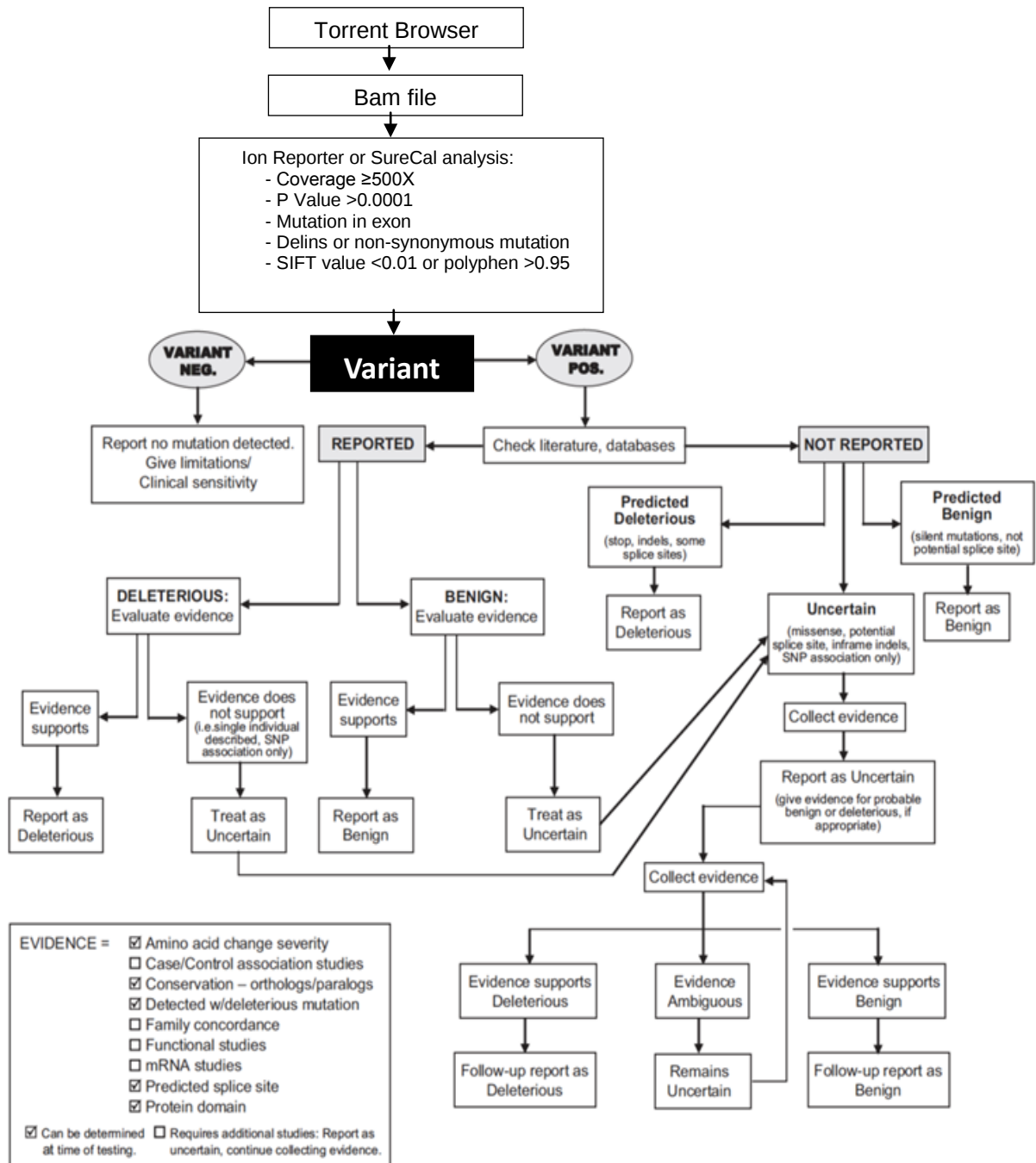
- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Le comité recommande au centre demandeur de masquer les résultats des gènes *TET2*, *IDH2* et *ASXL1* dans le rapport jusqu'à ce que des données probantes additionnelles sur leur valeur pronostique soient disponibles.
- ✓ Le comité recommande au centre demandeur de réaliser une veille concernant les gènes *TET2*, *IDH2* et *ASXL1* afin de démontrer leur utilité clinique.

ANNEXE A

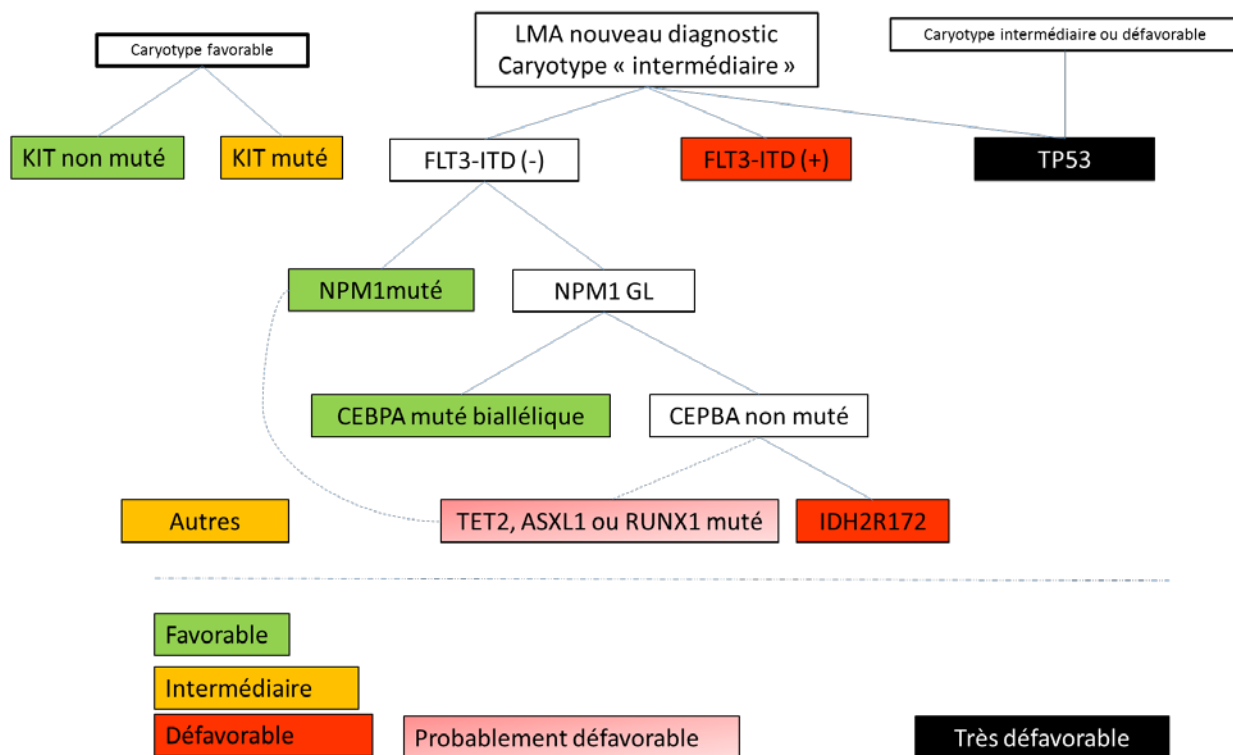
Algorithme d'interprétation des variants et établissement du rapport clinique (adapté de Spencer *et al.*, 2014 et Richards *et al.*, 2008 par le demandeur)



ANNEXE B

Algorithme d'interprétation des LMA *de novo*

LMA *de novo* (sauf la leucémie promyélocytaire⁷⁰)



⁷⁰ La leucémie promyélocytaire est exclue de cet algorithme parce qu'il s'agit d'un type de leucémie de cause connue, dont le pronostic est bon et pour lequel la greffe de cellules souches constitue rarement une option de traitement envisagée (information transmise par le Dr Lambert Busque lors d'une communication téléphonique, le 20 avril 2015).

ANNEXE C

Modèle de stratification pronostique des LMA de l'European LeukemiaNet (ELN) (adapté de Döhner *et al.*, 2010)

CATÉGORIE DE RISQUE	CARACTÉRISTIQUES CYTOGÉNÉTIQUES ET MOLÉCULAIRES
Favorable	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1;q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 NPM1+ sans FLT3-ITD (caryotype normal) CEBPA+ (caryotype normal)
Intermédiaire 1*	NPM1+ et FLT3-ITD (caryotype normal) NPM1- et FLT3-ITD (caryotype normal) NPM1- sans FLT3-ITD (caryotype normal)
Intermédiaire 2	t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL Anomalies cytogénétiques classées dans une catégorie autre que « favorable » ou « défavorable » [†]
Défavorable	inv(3)q21;q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1 t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23); MLL réarrangé -5 ou del(5q); -7; abnl(17p); caryotype complexe [‡]

+ : présence de mutation

- : absence de mutation

* Cette catégorie comprend tous les cas de LMA dont le caryotype est normal, à l'exception des cas compris dans la catégorie « favorable ». La plupart de ces cas sont associés à un pronostic défavorable, mais doivent être rapportés séparément en raison d'une réponse au traitement potentiellement différente.

† Concernant la plupart des anomalies, le nombre de patients étudiés n'était pas suffisant pour tirer des conclusions fermes concernant leur signification pronostique.

‡ Présence de trois anomalies chromosomiques ou plus, en l'absence de l'une des translocations (t) ou des inversions (inv) récurrentes désignées par l'Organisation mondiale de la Santé, soit: t(15;17), t(8;21), inv(16) ou t(16;16), t(9;11), t(v;q23), t(6;9), inv(3) ou t(3;3).

BIBLIOGRAPHIE

- Behdad A, Weigelin HC, Elenitoba-Johnson KS, Betz BL. A clinical grade sequencing-based assay for CEBPA mutation testing: Report of a large series of myeloid neoplasms. *J Mol Diagn* 2015;17(1):76-84.
- Boissel N, Nibourel O, Renneville A, Gardin C, Reman O, Contentin N, et al. Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: A study by the Acute Leukemia French Association group. *J Clin Oncol* 2010;28(23):3717-23.
- Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: Results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002;100(13):4325-36.
- Cheng DT, Cheng J, Mitchell TN, Syed A, Zehir A, Mensah NY, et al. Detection of mutations in myeloid malignancies through paired-sample analysis of microdroplet-PCR deep sequencing data. *J Mol Diagn* 2014;16(5):504-18.
- Damm F, Markus B, Thol F, Morgan M, Göhring G, Schlegelberger B, et al. TET2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: Clinical implications and evolutionary patterns. *Genes Chromosomes Cancer* 2014;53(10):824-32.
- Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner 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.
- Döhner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rücker FG, Corbacioglu A, et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: Interaction with other gene mutations. *Blood* 2005;106(12):3740-6.
- Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2013 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2013;88(4):318-27.
- Gaidzik VI, Paschka P, Späth D, Habdank M, Köhne CH, Germing U, et al. TET2 mutations in acute myeloid leukemia (AML): Results from a comprehensive genetic and clinical analysis of the AML study group. *J Clin Oncol* 2012;30(12):1350-7.
- Gaidzik VI, Bullinger L, Schlenk RF, Zimmermann AS, Rock J, Paschka P, et al. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia: Results from a comprehensive genetic and clinical analysis from the AML study group. *J Clin Oncol* 2011;29(10):1364-72.
- Gale RE, Green C, Allen C, Mead AJ, Burnett AK, Hills RK, Linch DC. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2008;111(5):2776-84.

- Green CL, Evans CM, Zhao L, Hills RK, Burnett AK, Linch DC, Gale RE. The prognostic significance of IDH2 mutations in AML depends on the location of the mutation. *Blood* 2011;118(2):409-12.
- Green CL, Koo KK, Hills RK, Burnett AK, Linch DC, Gale RE. Prognostic significance of CEBPA mutations in a large cohort of younger adult patients with acute myeloid leukemia: Impact of double CEBPA mutations and the interaction with FLT3 and NPM1 mutations. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2739-47.
- Greif PA, Konstandin NP, Metzeler KH, Herold T, Pasalic Z, Ksienzyk B, et al. RUNX1 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia are associated with a poor prognosis and up-regulation of lymphoid genes. *Haematologica* 2012;97(12):1909-15.
- Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: Determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* 2010;116(3):354-65.
- Grossmann V, Schnittger S, Kohlmann A, Eder C, Roller A, Dicker F, et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations. *Blood* 2012;120(15):2963-72.
- Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, Branford S, Radich J, Kaeda J, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: Review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006;108(1):28-37.
- Krauth MT, Eder C, Alpermann T, Bacher U, Nadarajah N, Kern W, et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: Frequency and impact on clinical outcome. *Leukemia* 2014;28(7):1449-58.
- Linch DC, Hills RK, Burnett AK, Khwaja A, Gale RE. Impact of FLT3(ITD) mutant allele level on relapse risk in intermediate-risk acute myeloid leukemia. *Blood* 2014;124(2):273-6.
- Luthra R, Patel KP, Reddy NG, Haghshenas V, Routbort MJ, Harmon MA, et al. Next-generation sequencing-based multigene mutational screening for acute myeloid leukemia using MiSeq: Applicability for diagnostics and disease monitoring. *Haematologica* 2014;99(3):465-73.
- Metzeler KH, Becker H, Maharry K, Radmacher MD, Kohlschmidt J, Mrozek K, et al. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category. *Blood* 2011a;118(26):6920-9.
- Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, Mrozek K, Margeson D, Becker H, et al. TET2 mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: A Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2011b;29(10):1373-81.

- Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2015-2016 – Les annexes. Québec, Qc : MSSS; 2015. Disponible à : <http://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/2014/14-922-03W.pdf>.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Acute myeloid leukemia. Version 1.2015. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2015. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- Nibourel O, Kosmider O, Cheok M, Boissel N, Renneville A, Philippe N, et al. Incidence and prognostic value of TET2 alterations in de novo acute myeloid leukemia achieving complete remission. *Blood* 2010;116(7):1132-5.
- Paschka P et Döhner K. Core-binding factor acute myeloid leukemia: Can we improve on HiDAC consolidation? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:209-19.
- Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, Mrozek K, Chen H, Kittles RA, et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): A Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2006;24(24):3904-11.
- Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012;366(12):1079-89.
- Pratcorona M, Abbas S, Sanders MA, Koenders JE, Kavelaars FG, Erpelinck-Verschueren CA, et al. Acquired mutations in ASXL1 in acute myeloid leukemia: Prevalence and prognostic value. *Haematologica* 2012;97(3):388-92.
- Renneville A, Boissel N, Gachard N, Naguib D, Bastard C, de Botton S, et al. The favorable impact of CEBPA mutations in patients with acute myeloid leukemia is only observed in the absence of associated cytogenetic abnormalities and FLT3 internal duplication. *Blood* 2009;113(21):5090-3.
- Richards CS, Bale S, Bellissimo DB, Das S, Grody WW, Hegde MR, et al. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. *Genet Med* 2008;10(4):294-300.
- Rücker FG, Schlenk RF, Bullinger L, Kayser S, Teleanu V, Kett H, et al. TP53 alterations in acute myeloid leukemia with complex karyotype correlate with specific copy number alterations, monosomal karyotype, and dismal outcome. *Blood* 2012;119(9):2114-21.
- Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2008;358(18):1909-18.
- Schnittger S, Eder C, Jeromin S, Alpermann T, Fasan A, Grossmann V, et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia* 2013;27(1):82-91.

- Schnittger S, Dicker F, Kern W, Wendland N, Sundermann J, Alpermann T, et al. RUNX1 mutations are frequent in de novo AML with noncomplex karyotype and confer an unfavorable prognosis. *Blood* 2011;117(8):2348-57.
- Schnittger S, Kohl TM, Haferlach T, Kern W, Hiddemann W, Spiekermann K, Schoch C. KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. *Blood* 2006;107(5):1791-9.
- Singh RR, Patel KP, Routbort MJ, Reddy NG, Barkoh BA, Handal B, et al. Clinical validation of a next-generation sequencing screen for mutational hotspots in 46 cancer-related genes. *J Mol Diagn* 2013;15(5):607-22.
- Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, Harrington DH, Theil KS, Mohamed A, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood* 2000;96(13):4075-83.
- Spencer DH, Tyagi M, Vallania F, Bredemeyer AJ, Pfeifer JD, Mitra RD, Duncavage EJ. Performance of common analysis methods for detecting low-frequency single nucleotide variants in targeted next-generation sequence data. *J Mol Diagn* 2014;16(1):75-88.
- Spencer DH, Abel HJ, Lockwood CM, Payton JE, Szankasi P, Kelley TW, et al. Detection of FLT3 internal tandem duplication in targeted, short-read-length, next-generation sequencing data. *J Mol Diagn* 2013;15(1):81-93.
- Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, Kowarsch A, Nadarajah N, Eder C, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012;26(5):934-42.
- Yamaguchi S, Iwanaga E, Tokunaga K, Nanri T, Shimomura T, Suzushima H, et al. IDH1 and IDH2 mutations confer an adverse effect in patients with acute myeloid leukemia lacking the NPM1 mutation. *Eur J Haematol* 2014;92(6):471-7.
- Zhou KG, Jiang LJ, Shang Z, Wang J, Huang L, Zhou JF. Potential application of IDH1 and IDH2 mutations as prognostic indicators in non-promyelocytic acute myeloid leukemia: A meta-analysis. *Leuk Lymphoma* 2012;53(12):2423-9.

RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2* PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (RÉFÉRENCE – 2015.03.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** Hôpital général juif
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 2 mai 2016
- 1.3 Date de publication de l'avis :** 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le D^r David S. Rosenblatt 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 de cet avis, les experts sont :

- D^r Jean-Sébastien Aucoin, hématologue et oncologue médical au Centre hospitalier affilié universitaire régional de Trois-Rivières et membre du Comité de l'évolution des pratiques en oncologie (CEPO) de l'INESSS
- D^r Sébastien Chénier, médecin généticien, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke (CHUS)
- D^{re} Rachel Laframboise, médecin généticienne, Centre hospitalier universitaire (CHU) de Québec – Université Laval

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Recherche de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* par séquençage de nouvelle génération

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

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) désigne les différents systèmes qui permettent le séquençage de plusieurs gènes simultanément. Cette technologie est caractérisée par un rendement de lecture très élevé en comparaison de la méthode classique, soit le séquençage de Sanger.

Concernant la présente demande, le système MiSeq^{MC} d'Illumina^{MC} sera utilisé pour détecter des mutations germinales présentes dans le promoteur ainsi que dans les séquences codantes et adjacentes aux sites d'épissage des gènes *BRCA1* (*BReast CAncer gene 1*) et *BRCA2* (*BReast CAncer gene 2*). Les régions codantes des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont couvertes à 100 %. Les mutations couvertes par cette analyse sont les mutations faux-sens et non-sens, les délétions, les insertions de même que les mutations de sites d'épissage. Ce test permet également de détecter les variations du nombre de copies.

Le SNG est réalisé en trois étapes principales, soit la préparation de l'ADN génomique et de la librairie d'ADN fragmenté, le séquençage et l'analyse des variants. En bref, un enrichissement des régions d'intérêt de l'ADN fragmenté est d'abord réalisé par capture d'hybrides à l'aide de la trousse d'enrichissement d'ADN SeqCap Ez^{MC} de NimbleGen (Roche). Les oligonucléotides de la trousse sont choisis et synthétisés selon les spécifications du demandeur. Le système MiSeq^{MC} d'Illumina^{MC} permet ensuite le séquençage des fragments d'ADN au cours de la synthèse cyclique d'un brin complémentaire à la matrice en utilisant des nucléotides fluorescents.

Contrairement au séquençage classique, le SNG réalise des millions de réactions simultanément. Les séquences obtenues sont ensuite assemblées et alignées à une séquence de référence.

L'analyse bioinformatique est effectuée à l'aide des programmes NextGENE^{MC} et Geneticist Assistant^{MC} (SoftGenetics). La signification clinique des variants est déterminée à l'aide des bases de données suivantes : Leiden Open Variation Database (LOVD), Universal Mutation Database (UMD) et Breast Cancer Information Core Database. Les logiciels Polyphen2 et SIFT sont utilisés pour prédire l'effet des substitutions d'acide aminé sur la structure et la fonction des protéines *BRCA1* et *BRCA2*.

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons sanguins sont prélevés dans les centres de prélèvement des services de génétique du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), du Centre universitaire de santé McGill (CUSM), du CHU de Québec, du CHUS, de l'Hôpital Charles Lemoyne ou de l'Hôpital général juif de Montréal. Ces échantillons sont ensuite acheminés par courrier au laboratoire du centre de pathologie moléculaire de l'Hôpital général juif où l'ADN est extrait et le SNG est effectué. Le temps de réponse varie de 3 semaines à 1 mois.

2.4 Société ou concepteur

L'évaluation du profil de mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* est effectuée par SNG à l'aide de la trousse d'enrichissement d'ADN SeqCap Ez^{MC} de NimbleGen (Roche), du système MiSeq^{MC} d'Illumina^{MC} ainsi que des logiciels NextGENE^{MC} et Geneticist Assistant^{MC} (SoftGenetics).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Sans objet

2.6 Valeur pondérée : 502,00

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les personnes ciblées sont celles qui présentent un risque élevé de syndrome héréditaire de cancers du sein et de l'ovaire de même que d'autres types de cancer associés à une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*, dont le cancer du pancréas.

3.2 Description de la maladie visée

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes au Canada. Selon les statistiques de la Société canadienne du cancer (SCC), les Canadiennes présentent un risque de 11,7 % de développer un cancer du sein au cours de leur vie. En 2015, l'incidence du cancer du sein au Québec était estimée à 6 100 cas et le nombre de décès associés à celui-ci était estimé à 1 350.

Le cancer de l'ovaire est plus rare. Les Canadiennes présentent un risque de 1,4 % de développer un cancer de l'ovaire au cours de leur vie. En 2015, l'incidence du cancer de l'ovaire au Québec était estimée à 700 cas et le nombre de décès associés à celui-ci était estimé à 400 [SCC, 2015].

Les cancers du sein et de l'ovaire sont généralement sporadiques. Toutefois, jusqu'à 10 % de ceux-ci sont causés par des mutations germinales dans divers gènes. Les cancers héréditaires suivent généralement un mode de transmission autosomique dominant. La probabilité qu'une personne atteinte transmette la mutation à chacun de ses descendants est donc de 50 %. Des mutations dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* sont détectées dans près de 30 % à 40 % des cas de cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. *BRCA1* et *BRCA2* sont des gènes suppresseurs de tumeurs et contribuent normalement à la réparation de l'ADN et à la régulation de la transcription en réponse aux dommages à l'ADN [Paul et Paul, 2014].

D'autres cancers ont été associés à des mutations dans les gènes *BRCA1* ou *BRCA2*, tels que le cancer du pancréas, le cancer de la prostate, le cancer du côlon et les mélanomes [NCCN, 2016].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de personnes visées

Le demandeur estime que 1 160, 1 218 et 1 278 analyses seraient réalisées au Québec au cours de chacune des trois premières années suivant l'introduction du test dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

3.4 Spécialités médicales concernées

La génétique, l'oncologie et la chirurgie sont concernées.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Les demandes d'analyses des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG sont présentement envoyées hors Québec, soit au Mount Sinai Hospital à Toronto, à Myriad Genetics ou à Invitae aux États-Unis.

3.6 Données médico-administratives

Selon les données fournies par le Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS), le nombre d'analyses des gènes *BRCA1* et *BRCA2* effectuées par SNG hors Québec était de 928 en 2013-2014. Le tableau 1 ci-dessous présente un résumé des coûts associés à ces analyses.

Tableau 1 Analyses des gènes *BRCA1* et *BRCA2* réalisées hors Québec en 2013-2014

ANNÉE	NOMBRE	COÛT UNITAIRE MOYEN	COÛT TOTAL
2013-2014	928	2 359 \$	2 188 948 \$

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'utilisation d'une méthode de séquençage à haut débit permettra de diminuer le temps de réponse et le coût par rapport aux envois hors du réseau. La détection de mutations dans un gène spécifique permet la confirmation d'un diagnostic et les suivis appropriés. Chez les familles où une mutation est détectée, les membres qui ne présentent pas cette mutation ne nécessitent pas de suivis accrus, tandis que le suivi des membres hétérozygotes relatif aux syndromes autosomiques dominants permet la détection précoce des cancers.

Selon le demandeur, l'analyse proposée n'apportera aucune modification à l'algorithme de traitement des personnes atteintes d'un cancer héréditaire du sein ou de l'ovaire ou qui présentent un risque élevé d'en être atteintes.

3.8 Assurance qualité

Le demandeur affirme que les régions codantes des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont couvertes à 100 % et que les mutations couvertes par l'analyse proposée sont les mutations faux-sens et non-sens, les délétions, les insertions de même que les mutations de sites d'épissage. Ce test permet également de détecter les variations du nombre de copies.

Contrôle de qualité interne

Le demandeur a mis en place certaines mesures pour s'assurer de la qualité de l'analyse proposée. Un échantillon témoin négatif (sans ADN) est utilisé pour détecter de possibles contaminations et une librairie d'ADN PhiX (Illumina^{MC}) permet d'évaluer l'efficacité du séquençage. Le seuil minimal acceptable de profondeur de lecture est de 50X et le critère de qualité (Q-score⁷¹) est de 20. La présence de tout variant potentiellement délétère détecté par SNG sera confirmée par une autre méthode, soit le séquençage direct par la méthode de Sanger concernant les substitutions et les petites indels (insertions-délétions) et l'amplification multiplexe de sonde dépendante d'une ligature (en anglais *multiplex ligation-dependent probe amplification* ou MLPA) concernant les variations du nombre de copies. Le

⁷¹ Il s'agit d'une mesure logarithmique de la probabilité d'erreur dans l'appel des bases. Dans le cas présent, lorsque le logiciel Illumina attribue un Q-score de 20 (Q20), cela signifie que 1 appel de base sur 100 pourrait être incorrect. Cela signifie aussi que l'efficacité dans l'appel des bases est de 99 %. Un faible Q-score peut mener à une augmentation des faux-positifs [Illumina, 2014].

laboratoire du demandeur met présentement au point un test MLPA pour l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

Seules les mutations connues et répertoriées seront rapportées. Les variants de signification indéterminée (VSI) seront répertoriés et interprétés en consultation avec des collègues scientifiques canadiens du demandeur. Le laboratoire de ce dernier participe aux travaux du Canadian Open Genetics Repository (COGR) et partage de l'information sur les VSI avec d'autres laboratoires cliniques canadiens afin de comparer leur classification et leur interprétation [Lerner-Ellis *et al.*, 2015].

Contrôle de qualité externe

Le centre demandeur participe à l'European Molecular Genetics Quality Network⁷², qui offre notamment une évaluation externe de la qualité des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

3.9 Remplacement d'un autre test

Actuellement, quatre analyses servant à l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont inscrites dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (tableau 2).

Tableau 2 Analyses des gènes *BRCA1* et *BRCA2* réalisées au Québec en 2014-2015

ANALYSE	VALEUR PONDÉRÉE	NOMBRE	COÛT TOTAL
Cancer du sein, cancer de l'ovaire – <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , mutations canadiennes-françaises (code : 55170)	426	1 100	468 600 \$
Cancer du sein, cancer de l'ovaire – <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , mutations juives ashkénazes par analyse de fragments, test d'amplification des acides nucléiques, ou TAAN (code : 55166)	174	122	21 228 \$
Cancer du sein, cancer de l'ovaire – <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , mutation individuelle (code : 55168)	119	2 256	268 464 \$
Europe de l'Est (code : 55022)	s. o.	s. o.	s. o.
TOTAL	s. o.	3 478	758 292 \$

Abréviation : s.o. : sans objet

Selon le demandeur, les analyses effectuées dans la population juive ashkénaze détectent une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans 60 % à 80 % des cas,

⁷² Site Web de l'European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) : <http://www.emqn.org/emqn/Home>.

tandis que celles effectuées dans la population canadienne-française détectent une mutation dans 30 % à 40 % des cas. Lorsqu'aucune mutation n'est détectée à l'aide de panels ciblés présentement inscrits dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, le séquençage complet des deux gènes est généralement effectué hors Québec à l'aide d'un test par SNG⁷³.

Le demandeur mentionne qu'à plus long terme, l'analyse proposée pourrait remplacer, de façon progressive, l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans la population canadienne-française, parce que la valeur pondérée de celle-ci est similaire à celle de l'analyse proposée (426 c. 502). Toutefois, le demandeur ajoute qu'actuellement, il est nécessaire que la présence de tout variant potentiellement délétère détecté par SNG soit confirmée par séquençage de Sanger, ce qui augmente les coûts associés à l'analyse proposée.

La recherche d'une mutation individuelle précise par séquençage est également utilisée pour évaluer le profil génétique des membres d'une famille lorsque le caractère délétère de cette mutation est reconnu chez un cas index.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

4.1.1 Prévalence de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans la population canadienne-française

Près d'un millier de mutations distinctes ont été détectées dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*⁷⁴. La fréquence estimée de mutations germinales dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans la population générale varie de 1 pour 300 à 1 pour 800; elle est de 1 pour 40 dans la population juive ashkénaze [NCCN, 2016]. La prévalence des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez les familles dont certains membres sont atteints de cancers du sein et de l'ovaire dépend du nombre de cancers, du type de cancer, de l'âge des membres atteints au moment du diagnostic ainsi que des caractéristiques démographiques de la population étudiée [Simard *et al.*, 2007]. Plusieurs études de prévalence et de contribution de mutations fondatrices dans la population canadienne-française ont été réalisées au cours des dernières années; trois de ces études sont décrites dans la présente section.

Tonin et ses collaborateurs [1998] ont évalué la présence de huit mutations dans les gènes *BRCA1* (quatre mutations) et *BRCA2* (quatre mutations) chez 97 familles canadiennes-françaises dont au moins trois membres sont atteints d'un cancer du sein diagnostiqué avant l'âge de 65 ans, un membre est atteint de cancer épithélial de l'ovaire ou un membre de sexe masculin est atteint de cancer du sein. Des mutations ont été détectées chez 41 des 97 familles, dont 24 dans le gène *BRCA1* et 17 dans le gène *BRCA2*. Parmi ces familles, quatre mutations ont été détectées dans les gènes *BRCA1* (C2598A, 2953del3+C, 3768insA et C4446T) et *BRCA2* (2816insA, G6085T, 6503delTT et 8765delAG), dont six mutations chez plus d'une famille. Les

⁷³ Information fournie par le demandeur.

⁷⁴ Information disponible sur le site Web *BRCA Mutation Database* du département de pathologie de l'Université de l'Utah (États-Unis) à *BRCA1* : http://arup.utah.edu/database/BRCA/Home/BRCA1_Landing ; *BRCA2* : http://arup.utah.edu/database/BRCA/Home/BRCA2_Landing (consultés le 18 janvier 2016).

mutations *BRCA1* C4446T (17 familles) et *BRCA2* 8765delAG (11 familles) sont considérées comme des mutations fondatrices dans la population canadienne-française [Tonin *et al.*, 1998].

Simard et ses collaborateurs [2007] ont notamment évalué la prévalence des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* à l'aide d'une approche en deux étapes chez 256 familles canadiennes-françaises qui présentent un risque élevé de cancers du sein et de l'ovaire. L'étape initiale de séquençage de mutations ponctuelles ciblées a permis de détecter sept mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez 54 familles. La seconde étape, qui consistait au séquençage complet des gènes *BRCA1* et *BRCA2* des familles chez lesquelles des mutations spécifiques n'ont pas été détectées, a permis de détecter huit nouvelles mutations, chacune dans une famille différente. Cette approche a donc permis de détecter 15 mutations chez 62 des 256 familles (24 %). Les auteurs ont conclu que leur approche en deux étapes d'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez des familles canadiennes-françaises qui présentent un risque élevé de cancers du sein et de l'ovaire est sensible et peu coûteuse [Simard *et al.*, 2007].

Ghadirian et ses collaborateurs [2009] ont évalué la prévalence de neuf mutations fondatrices dans les gènes *BRCA1* (quatre mutations), *BRCA2* (trois mutations), *PALB2* (une mutation) et *CHEK2* (une mutation) de 564 femmes canadiennes-françaises atteintes d'un cancer du sein invasif diagnostiqué à l'âge de 50 ans ou avant cet âge et dans 6 433 échantillons d'ADN provenant de nouveau-nés canadiens-français de la région de Québec. Des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont été détectées chez 27 des 564 femmes atteintes (4,8 %), soit dans 7 et 20 cas, respectivement. Dans le groupe témoin, au total, huit nouveau-nés présentaient une mutation (0,1 %) dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Les auteurs de cette étude ont conclu qu'une mutation dans le gène *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ou *PALB2* est détectée chez 6 % des femmes canadiennes-françaises atteintes d'un cancer du sein invasif diagnostiqué à l'âge de 50 ans ou avant cet âge. Ils considèrent raisonnable d'offrir un test génétique à toutes les femmes ayant eu un diagnostic de cancer du sein à l'âge de 50 ans ou avant cet âge. Toutefois, la fréquence de ces mutations dans la population générale (0,5 %) est trop faible pour recommander une évaluation populationnelle [Ghadirian *et al.*, 2009].

4.1.2 Évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par séquençage de nouvelle génération

La faisabilité de l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG a été décrite dans cinq études [Ratajska *et al.*, 2015; Wong-Brown *et al.*, 2015; Balabanski *et al.*, 2014; Bosdet *et al.*, 2013; Ozcelik *et al.*, 2012]. Dans ces études, l'un des systèmes de SNG d'Illumina^{MC} (MiSeq^{MC}, HiSeq^{MC} ou Genome Analyzer^{MC}), similaire à celui proposé par le demandeur (MiSeq^{MC}), a été utilisé. Un bref aperçu de ces études est présenté dans le tableau 3.

Balabanski et ses collaborateurs [2014] ont évalué par SNG la fréquence et le type de variants détectés dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez 24 patientes bulgares atteintes d'un cancer du sein et ayant des antécédents familiaux et dans 71 cas témoins. Les auteurs ont rapporté que deux mutations ont été détectées, soit une mutation dans le gène *BRCA1* et une mutation dans le gène *BRCA2* de patientes atteintes de cancer de même qu'un total de vingt polymorphismes et deux VSI dans

les gènes *BRCA1* et *BRCA2* de la population à l'étude. Ils mentionnent qu'à leur connaissance, ils ont été les premiers à utiliser une approche par SNG pour évaluer le type et la fréquence des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* de la population bulgare et que la création d'une base de données sur ces dernières serait essentielle [Balabanski *et al.*, 2014].

Wong-Brown et ses collaborateurs [2015] ont évalué le profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez 774 patientes polonaises et australiennes atteintes d'un cancer du sein triple négatif (ER-, PR-, HER2-)⁷⁵. Le SNG a permis de détecter des mutations chez 74 patientes (9,6 %), dont seulement 36 avaient des antécédents de cancer du sein ou de l'ovaire. Les auteurs de cette étude ont conclu qu'il est important de réaliser les tests génétiques chez les patientes atteintes d'un cancer du sein triple négatif, et ce, peu importe leur âge ou leurs antécédents familiaux [Wong-Brown *et al.*, 2015].

Ratajska et ses collaborateurs [2015] ont évalué par SNG la fréquence de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez 134 patientes polonaises atteintes d'un cancer primaire de l'ovaire. Le SNG a permis de détecter 20 mutations (14,9 %), dont seulement 13 étaient incluses dans le panel diagnostique standard du nord de la Pologne. Les mutations détectées par SNG ont été validées par un séquençage bi-directionnel de Sanger. Les auteurs rapportent également que cinq patientes qui présentaient une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* n'avaient pas d'antécédents familiaux de cancers du sein et de l'ovaire. Ils ont conclu que le SNG devrait être utilisé lorsque les résultats obtenus à l'aide du panel diagnostique standard sont négatifs et que cette méthode est sensible et fiable pour le diagnostic moléculaire des mutations dans les gènes *BRCA1* ou *BRCA2* de patientes sélectionnées [Ratajska *et al.*, 2015].

Ozcelik et ses collaborateurs [2012] ont élaboré et validé une méthode de SNG permettant d'évaluer le profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez 12 patientes canadiennes atteintes d'un syndrome héréditaire de cancer du sein. Le SNG a permis de détecter les 54 variants (y compris quatre mutations) préalablement détectés par séquençage de Sanger (sensibilité > 99,9 %). Aucun faux-positif ni aucun faux-négatif n'a été observé. Une moyenne de 95,4 % (91,6 % à 98,45 %) des lectures produites par le SNG s'alignait correctement avec les séquences de référence de GenBank⁷⁶. Toutes les régions génomiques des gènes *BRCA1* et *BRCA2* étaient néanmoins couvertes (moyenne de couverture génomique de 99,76 %). Les auteurs ont conclu que le SNG est une méthode plus rapide, plus précise et moins coûteuse que les méthodes classiques de séquençage utilisées dans l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* [Ozcelik *et al.*, 2012].

Bosdet et ses collaborateurs [2013] ont évalué le profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez 91 patientes canadiennes atteintes d'un cancer du sein héréditaire à l'aide des méthodes de SNG et de séquençage de Sanger. Les échantillons sanguins

⁷⁵ ER-, PR-, HER2- : récepteur d'œstrogènes négatif, récepteur de progestérone négatif et récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain négatif.

⁷⁶ GenBank est une base de données de séquence génétique du National Institutes of Health (NIH) aux États-Unis. Cette base de données, qui regroupe toutes les séquences d'ADN publiques, est disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (consulté le 1^{er} février 2016).

de 48 de ces patientes ont été sélectionnés rétrospectivement et ont servi à l'optimisation de la méthode. Le génotype de ces 48 échantillons a été déterminé correctement par SNG. Une couverture médiane supérieure à 4 000X a été obtenue dans chacun des échantillons. Des simulations réalisées à partir des données de cette étude ont permis aux auteurs de déterminer qu'à une profondeur de séquençage supérieure à 100X sur chacune des bases, aucun faux-positif ni aucun faux-négatif n'était observé. Cette valeur minimale a donc été requise à toutes les positions des régions ciblées. Ensuite, 43 échantillons sanguins prélevés chez des patientes ont été analysés de façon prospective afin de valider cette méthode par SNG dans un contexte clinique. Le génotype de ces échantillons a été déterminé correctement et aucun faux-négatif ni aucun faux-positif n'a été observé. Les auteurs ont conclu que l'utilisation de cette méthode sensible et automatisée de séquençage à haut débit est appropriée pour réaliser la détection de variants en laboratoire clinique [Bosdet *et al.*, 2013].

Tableau 3 Évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par des méthodes de séquençage de nouvelle génération

ÉTUDE (PAYS)	POPULATION (N)		STRATÉGIE D'AMPLIFICATION	SYSTÈME DE SNG	LOGICIEL D'ANALYSE DES DONNÉES	COUVERTURE PROFONDEUR	SPECIFICITÉ SENSIBILITÉ
	CAS (GÉNOTYPE CONNU*)	TÉMOINS					
Études retenues							
Balabanski [2014] (Bulgarie)	24 patientes CS ayant des antécédents familiaux (24)	71	TruSeq Custom (Amplicom)	MiSeq ^{MC} Sequencer (Illumina ^{MC})	MiSeq Reporter Software ^{MC} (Illumina ^{MC})	s. o.	s. o.
Wong-Brown [2015] (Australie, Pologne†)	774 patientes CS triple négatif (0)	s. o.	Amorces spécifiques, PCR nichée (Fluidigm Corp.)	MiSeq ^{MC} Sequencer (Illumina ^{MC})	NextGENE ^{MC} second- generation sequencing software v.2.3.3. (SoftGenetics)	s. o.	s. o.
Ratajska [2015] (Pologne)	134 patientes CO (0)	s. o.	BRCA MASTR assay v1.2 (Multiplicom)	MiSeq ^{MC} Sequencer (Illumina ^{MC})	Variant Studio Software ^{MC} (Illumina ^{MC}), Geneious Software (Biomatters Ltd)	> 99x	s. o.
Ozcelik [2012] (Canada)	12 patientes CS héréditaire (12)	s. o.	SequalPrep Long PCR System (Invitrogen)	Genome Analyzer II ^{MC} (Illumina ^{MC})	NextGENE ^{MC} Sequence Analysis Software v.2.11 (SoftGenetics)	99,76 % > 30x	95,4 % (91,6 %- 98,45 %) 99,9 %
Bosdet [2013] (Canada)	91 patientes CS héréditaire (91)	s. o.	Reséquençage ciblé (Agilent Technologies)	HiSeq ^{MC} 2000 (Illumina ^{MC})	Integrative Genomics Viewer Software v.1.5.65	> 4 000x	100 % 100 %
CENTRE DEMANDEUR							
Hôpital général juif, (Canada)	40 cas positifs testés par SNG (40)	s. o.	Trousse d'enrichissement d'ADN SeqCap Ez ^{MC} de Nimblegen (Roche)	MiSeq ^{MC} Sequencer (Illumina ^{MC})	NextGENE ^{MC} et Geneticist Assistant (SoftGenetics)	100 % > 50x	100 % 100 %

Abréviations : CO : cancer de l'ovaire; CS : cancer du sein; SNG : séquençage de nouvelle génération; s. o. : sans objet

* Patientes dont les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont préalablement été analysés par séquençage de Sanger.

† Les patientes polonaises sont généralement soumises au test en vue de détecter trois mutations fondatrices dans le gène *BRCA1*. Dans l'étude de Wong-Brown et ses collaborateurs, les patientes ayant obtenu un résultat positif relativement à l'une de ces trois mutations étaient exclues.

4.2 Valeur pronostique

4.2.1 Risque de cancer chez les personnes qui présentent une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2*

La présence d'une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* est associée à un risque élevé de développer un cancer du sein (40 % à 80 % chez les femmes et 1 % à 10 % chez les hommes) ou un cancer de l'ovaire (11 % à 46 %) [Nelson *et al.*, 2014; Chen et Parmigiani, 2007; Fu *et al.*, 2007; Antoniou *et al.*, 2003]. Les personnes qui présentent une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* courent également un risque 4 à 5 fois plus élevé de développer un cancer du pancréas [Mocci *et al.*, 2013].

Mavaddat et ses collaborateurs [2013] ont réalisé une étude de cohorte prospective chez 978 femmes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* et 909 femmes présentant une mutation dans le gène *BRCA2* originaires du Royaume-Uni et de l'Irlande. Chez les femmes présentant une mutation dans le gène *BRCA1*, les risques cumulatifs moyens de développer un cancer à 70 ans étaient de 60 % relativement au cancer du sein, de 59 % relativement au cancer de l'ovaire et de 83 % relativement au cancer du sein controlatéral⁷⁷. Parmi les femmes présentant une mutation dans le gène *BRCA2*, ces risques étaient respectivement de 55 %, 16,5 % et 62 %. Cette étude prospective a montré que les femmes présentant une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* présentent un risque élevé de développer un cancer du sein, un cancer de l'ovaire ou un cancer du sein controlatéral [Mavaddat *et al.*, 2013].

Mocci et ses collaborateurs [2013] ont réalisé une étude rétrospective dont l'objectif était d'évaluer le risque de développer un cancer du pancréas dans une cohorte de 5 799 familles états-uniennes, canadiennes et australiennes qui comptaient au moins un cas de cancer du sein dont le profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* était connu. Les membres atteints d'une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* présentaient un risque élevé de développer un cancer du pancréas, soit des ratios d'incidence standardisé de 4,11 (IC95 % : 2,94-5,76) concernant le gène *BRCA1* et de 5,79 (IC95 % : 4,28-7,84) concernant le gène *BRCA2*. Les auteurs de cette étude ont conclu qu'étant donné la mortalité élevée associée au cancer du pancréas, ce dernier devrait être inclus dans l'évaluation du risque lors du conseil génétique d'un patient ayant des antécédents familiaux de cancer du sein [Mocci *et al.*, 2013].

4.2.2 Mesures de prévention primaire concernant les personnes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2*

Nelson et ses collaborateurs du United States Preventive Services Task Force (USPSTF) [2014] ont réalisé une revue systématique de la littérature scientifique sur les conséquences des interventions chirurgicales préventives effectuées chez les femmes qui présentent un risque élevé de cancer du sein ou de l'ovaire en raison d'antécédents personnels ou familiaux ainsi que chez celles qui présentent une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Ils ont rapporté qu'une mastectomie préventive permet de réduire de 85 % à 100 % le risque de cancer du sein et de 81 %

⁷⁷ Qui qualifie une structure située du côté opposé au point de référence. Définition tirée du site Web de l'Office québécois de la langue française, disponible à : http://gdt.oqlf.gouv.qc.ca/ficheOqlf.aspx?Id_Fiche=8356097 (consulté le 26 mai 2016).

à 100 % la mortalité associée, tandis qu'une salpingo-ovariectomie préventive permet de réduire de 37 % à 100 % le risque de cancer du sein, de 69 % à 100 %, le risque de cancer des ovaires et de 55 % à 100 %, la mortalité (toutes causes confondues) [Nelson *et al.*, 2014].

Valachis et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une méta-analyse dont les objectifs étaient, entre autres, d'évaluer le risque d'une récurrence de cancer du sein chez les patientes dont le profil de mutation *BRCA1* ou *BRCA2* était positif et de déterminer les facteurs qui influencent ce risque. Concernant la récurrence ipsilatérale⁷⁸ de cancer, le profil de mutation *BRCA1* ou *BRCA2* positif a été associé à une augmentation significative du risque uniquement lorsque les études rapportaient un suivi médian supérieur ou égal à 7 ans (rapport de risque instantané (RRI) de 1,51, IC95 % : 1,15-1,98; $p = 0,003$). Concernant la récurrence contralatérale de cancer, le risque était aussi plus élevé chez les patientes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* comparativement aux autres patientes (RRI de 3,56, IC95 % : 2,50-5,08; $p < 0,001$). Parmi les facteurs associés à une diminution significative de ces risques, les auteurs mentionnent la chimiothérapie adjuvante et le recours à l'ovariectomie dans les cas de récurrence ipsilatérale, tandis que dans les cas de récurrence contralatérale, ces facteurs sont notamment l'ovariectomie et l'utilisation de tamoxifène [Valachis *et al.*, 2014].

Heemskerk-Gerritsen et ses collaborateurs [2013] ont réalisé une étude de cohorte prospective chez 570 Hollandaises présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* (suivi médian de 8,5 ans). Parmi ces femmes, 212 ont eu recours à une mastectomie bilatérale préventive à un âge médian de 35 ans et 358 ont opté pour une surveillance. Cette étude a montré que l'incidence de cancer du sein était inférieure chez les femmes ayant eu recours à une mastectomie bilatérale préventive par rapport à celle du groupe ayant eu pour une surveillance (0 contre 28 pour 1 000 personnes-années d'observation, respectivement), tandis que le taux de mortalité associé au cancer du sein était similaire dans ces deux groupes (0,7 contre 1,8 pour 1 000 personnes-années d'observation, respectivement) [Heemskerk-Gerritsen *et al.*, 2013].

Heemskerk-Gerritsen et ses collaborateurs [2015] ont également réalisé une étude de cohorte prospective chez 583 patientes hollandaises atteintes de cancer du sein primaire et présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* (suivi médian de 11,4 ans). Parmi ces patientes, 242 ont eu recours à une mastectomie contralatérale préventive et 341 ont opté pour une surveillance. Cette étude a montré que l'incidence de cancer du sein contralatéral était inférieure chez les femmes ayant eu recours à une mastectomie contralatérale préventive (2 % contre 19 %; $p < 0,001$) et que le recours à cette mesure était associé à une réduction significative de 51 % du risque de décès [Heemskerk-Gerritsen *et al.*, 2015].

Marchetti et ses collaborateurs [2014] ont réalisé une méta-analyse afin de préciser le rôle de la salpingo-ovariectomie préventive dans la réduction du risque du cancer de l'ovaire et de la mortalité chez les femmes présentant une mutation dans le gène

⁷⁸ Qui se situe ou se produit du même côté de l'organisme par rapport à un point de référence. Définition tirée du site Web de l'Office québécois de la langue française, disponible à : http://gdt.oqlf.gouv.qc.ca/ficheOqlf.aspx?Id_Fiche=26529240 (consulté le 26 mai 2016).

BRCA1 ou dans le gène *BRCA2*. Trois études prospectives totalisant 9 192 patientes, dont 4 961 ont eu recours à une salpingo-ovariectomie préventive (âge moyen de 43 ans à 48 ans), ont été incluses dans cette méta-analyse. Le suivi moyen de ces études était de 4 ans. Cette méta-analyse a permis de montrer qu'à la suite d'une salpingo-ovariectomie préventive, le risque de cancer de l'ovaire est réduit de 81 % et le risque de mortalité, toutes causes confondues, de 68 % [Marchetti *et al.*, 2014].

Enfin, Nelson et ses collaborateurs [2014] ont également réalisé une revue de la littérature scientifique sur l'hormonothérapie. Ils ont repéré des études randomisées contrôlées qui ont montré que l'utilisation de tamoxifène et de raloxifène permet de réduire de 30 % à 68 % les risques de cancer du sein invasif chez les femmes, quel que soit leur niveau de risque [Nelson *et al.*, 2014].

4.3 Valeur thérapeutique

Concernant les personnes atteintes d'un cancer du sein ou de l'ovaire, l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG ou par d'autres techniques ne vise pas à choisir ou à modifier un traitement ou à en évaluer l'efficacité. En effet, les options thérapeutiques qui s'offrent aux personnes atteintes d'un syndrome héréditaire de cancer du sein ou de l'ovaire sont les mêmes que celles qui s'offrent dans le cas d'un cancer qui n'est pas héréditaire [Petrucelli *et al.*, 2013].

4.4 Validité analytique

Strom et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude ayant pour objectif d'évaluer la validité analytique de deux méthodes de SNG (MiSeq^{MC} d'Illumina^{MC} et Ion Personal Gene Machine (PGM) System^{MC}) en comparaison de la méthode classique de séquençage de Sanger dans l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* [Strom *et al.*, 2015]. Les principaux résultats obtenus dans cette étude sont présentés dans le tableau 4. En bref, les auteurs ont conçu un logiciel, le Quest Sequencing Analysis Pipeline (QSAP), afin de remplacer le logiciel fourni avec le système MiSeq^{MC} d'Illumina^{MC}, parce que ce dernier ne permettait pas détecter des délétions de plus de neuf paires de bases. Les deux méthodes de SNG (MiSeq-QSAP et PGM-Torrent Suite) ont été validées à l'aide de 27 lignées de cellules souches contenant une mutation connue dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* ainsi qu'à partir de 67 échantillons sanguins témoins présentant 352 variants, soit dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2*. Les deux méthodes ont présenté une sensibilité de 100 % relativement à la détection des 379 variants. Toutefois, la méthode PGM-Torrent Suite a montré des précisions intra-essai (96,2 %) et inter-essai (96,7 %) inférieures en comparaison à celles de la méthode MiSeq-QSAP (100 % et 99,4 %, respectivement). Les variations de la méthode PGM-Torrent Suite étaient associées à l'attribution de variants faux-positifs. Les auteurs de cette étude ont conclu que la méthode de SNG combinant le système MiSeq^{MC} d'Illumina^{MC} et le logiciel QSAP offre une performance acceptable pour une utilisation en laboratoire clinique [Strom *et al.*, 2015].

4.5 Données fournies par le demandeur

Le laboratoire du demandeur a fourni les données d'analyse de 40 personnes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* (21 mutations, dont 17 distinctes) ou dans le gène *BRCA2* (19 mutations, dont 16 distinctes) (annexe A). Ces mutations préalablement détectées par séquençage de Sanger ont toutes été détectées par SNG. Les 2 120 exons négatifs lors du séquençage de Sanger étaient tous également négatifs lors du SNG. La couverture du gène *BRCA1* variait de 109X à 1 519X et celle du gène *BRCA2* variait de 474X à 1 453X.

Tableau 4 Comparaison de deux méthodes de séquençage de nouvelle génération et du séquençage classique par la méthode de Sanger dans l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans l'étude de Strom et ses collaborateurs [2015]

VALIDITÉ ANALYTIQUE	CARACTÉRISTIQUES	MÉTHODES DE SNG	
		MISEQ-QSAP	PGM-TORRENT SUITE
Sensibilité	Détection des 379 variants	100 %	100 %
Précision intra-essai	3 échantillons sanguins en 5 répétitions par chacune des méthodes	100 %	96,2 %
Précision inter-essai	3 répétitions d'analyse	99,4 %	96,7 %
Taux d'échec	Échec à atteindre une profondeur de couverture > 40 x à chacun des exons	2,8 % (8/282)	16,7 % (47/282)
Limite du blanc	Comparaison du nombre de lectures alignées au génome humain (assemblage hg19) avec la moyenne des lectures alignées par échantillon	< 20 %	< 20 %
Limite de détection	Plus faible concentration (ng/μl) à laquelle la profondeur de lecture moyenne des régions exoniques est maintenue à ≥ 40 lectures par base	> 5 ng/μl	> 5 ng/μl
Fiabilité	3 analyses distinctes (27 mutations des 27 lignées cellulaires)	100 %	100 %
Taux d'erreur	3 analyses distinctes (352 variants des 67 témoins)	< 0,1 % (1/1 056)	3,7 % (39/1 056)

Abréviations : PGM : Personal Gene Machine^{MC}; QSAP : Quest Sequencing Analysis Pipeline; SNG : séquençage de nouvelle génération

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs associés à l'introduction de l'analyse proposée pour la recherche de mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. La présente section expose deux scénarios concernant le rapatriement au Québec de la totalité des analyses du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG actuellement effectuées hors Québec. Le premier scénario a été élaboré à partir des statistiques du MSSS sur les envois hors Québec en 2013-2014, alors que le second a été élaboré à partir des coûts actualisés.

Scénario 1 – L'évaluation des coûts directs des envois hors Québec en 2013-2014 est présentée dans le tableau 5 et repose principalement sur les éléments suivants :

- Les principaux comparateurs utilisés sont les analyses envoyées hors Québec au Mount Sinai Hospital à Toronto, à Myriad Genetics et à Invitae, aux États-Unis.
- Le nombre d'analyses effectuées hors Québec était de 928 en 2013-2014.
- Le coût moyen pondéré⁷⁹ de ces analyses était de 2 359 \$ en 2013-2014.
- Le coût moyen pondéré actuel de ces analyses est de 1 069 \$
- Le demandeur prévoit réaliser 1 160, 1 218 et 1 278 analyses au cours de chacune des trois premières années suivant l'introduction de l'analyse dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.
- À partir des statistiques du MSSS de 2013-2014, il est plutôt estimé que 940, 990 et 1 040 analyses seraient effectuées au cours de chacune des trois premières années suivant l'introduction de l'analyse dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.
- La valeur pondérée (VP) proposée par le demandeur concernant l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* est de 502, bien que celle-ci ne tienne pas compte des tests de validation par séquençage de Sanger (VP : 119) ou par MLPA (VP approximative : 91).
- Il est estimé que 10 % des analyses par SNG vont requérir une confirmation par séquençage de Sanger. Les analyses de sensibilité présentées dans le tableau 5 reflètent une variation dans le pourcentage (de 5 % à 15 %) des analyses effectuées par SNG nécessitant une confirmation par séquençage de Sanger. L'analyse par MLPA n'a pas été considérée dans la présente analyse d'impact budgétaire, étant donné la rareté de son utilisation.

⁷⁹ Le coût moyen pondéré est obtenu en pondérant le coût de chaque analyse retenue comme comparateur par sa volumétrie, tel qu'il est présenté dans les données du MSSS.

Tableau 5 Impact budgétaire de l'introduction du test de recherche de mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG dans le Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale – Scénario 1 – Coûts des envois hors Québec en 2013-2014 estimés à partir des statistiques du MSSS

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre prévu d'analyses	940	990	1 040	2 970
Coûts des envois hors Québec	2 217 253 \$	2 335 192 \$	2 453 131 \$	7 005 576 \$
Coûts estimés des analyses réalisées au Québec	483 066 \$	508 761 \$	534 456 \$	1 526 283 \$
Coût différentiel	-1 734 187 \$	-1 826 431 \$	-1 918 675 \$	-5 479 293 \$
Analyses de sensibilité*	En 3 ans, économies les plus élevées			-5 496 966 \$
	En 3 ans, économies les plus faibles			-5 461 623 \$

* Les analyses de sensibilité reflètent une variation dans le pourcentage des analyses effectuées par SNG nécessitant une confirmation par séquençage de Sanger, soit de 5 % à 15 %.

À partir des statistiques sur les envois hors Québec en 2013-2014, les économies qui résulteraient directement liées à l'introduction de l'analyse du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* sont estimées à près de 5,5 M\$ en considérant le rapatriement au Québec de l'ensemble des analyses effectuées hors Québec, et ce, les 3 premières années. Toutefois, depuis 2013-2014, le coût unitaire de cette analyse a grandement diminué en raison de la réduction des coûts de séquençage ainsi que de l'augmentation de l'offre de ce type d'analyse. Par conséquent, le second scénario tient compte de cette diminution significative en remplaçant le coût moyen pondéré de 2 359 \$ en 2013-2014 par un coût moyen pondéré actualisé de 1 069 \$.

Scénario 2 – L'évaluation actualisée des coûts directs des envois hors Québec est présentée dans le tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6 Impact budgétaire de l'introduction du test de recherche de mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG dans le Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale – Scénario 2 – Coûts actualisés des envois hors Québec

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre prévu d'analyses	940	990	1 040	2 970
Coûts des envois hors Québec	1 005 131 \$	1 058 596 \$	1 112 060 \$	3 175 787 \$
Coûts estimés des analyses réalisées au Québec	483 066 \$	508 761 \$	534 456 \$	1 526 283 \$
Coût différentiel	-522 065 \$	-549 835 \$	-577 604 \$	-1 649 504 \$
Analyses de sensibilité*	En 3 ans, économies les plus élevées			-1 667 176 \$
	En 3 ans, économies les plus faibles			-1 631 833 \$

* Les analyses de sensibilité reflètent une variation dans le pourcentage des analyses effectuées par SNG nécessitant une confirmation par séquençage de Sanger, soit de 5 % à 15 %.

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les économies qui résulteraient directement de l'introduction de l'analyse du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* sont plutôt estimées à plus de 1,6 M\$, et ce, pour les trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Les organisations scientifiques et médicales recommandent d'offrir un conseil génétique avant et après un test génétique (voir la section 7), parce qu'il augmente notamment la précision de la perception du risque par le patient et tend généralement à diminuer l'inquiétude, l'anxiété et la dépression associées aux cancers héréditaires [Nelson *et al.*, 2014].

Les enjeux psychosociaux associés aux analyses génétiques de prédisposition au cancer sont reconnus dans la littérature scientifique. Ceux-ci ne devraient pas être différents advenant l'introduction de l'analyse proposée dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, parce que le demandeur propose de rapatrier une analyse déjà effectuée hors Québec. En bref, l'inquiétude et l'anxiété tendent à augmenter chez les personnes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2*, tandis qu'elles diminuent chez les personnes non-porteuses. Les femmes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* ont l'option de recourir à certaines mesures préventives, telles qu'une surveillance accrue, une intervention chirurgicale ou une hormonothérapie. Ces mesures préventives, présentées dans la section 4.2, sont associées à une diminution significative du risque de cancer.

Comme il a été mentionné auparavant, l'introduction de l'analyse proposée n'apporterait pas de modification à l'algorithme de traitement des patients atteints d'un cancer héréditaire du sein ou de l'ovaire. De fait, les ressources mobilisées pour suivre et traiter une personne atteinte d'un syndrome héréditaire de cancer, ainsi que ses proches qui présentent un risque, demeurent les mêmes, que le profil de mutation soit évalué hors Québec ou non.

L'analyse proposée par le demandeur permet de détecter des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* responsables des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Toutefois, ces cancers héréditaires ont également été associés à des mutations dans d'autres gènes, tels que *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1* et *PALB2*. De ce fait, l'absence de mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* pourrait motiver l'investigation de ces gènes, dont la pénétrance est variable selon les cas.

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

Le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) a publié, en mars 2016, la dernière mise à jour de son guide de pratique clinique sur l'évaluation génétique des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Des algorithmes cliniques sont présentés relativement au traitement, aux interventions préventives et à la surveillance des patients et des personnes présentant une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Concernant les femmes présentant une mutation dans le gène *BRCA1* ou le gène

BRCA2, le NCCN recommande notamment qu'elles soient sensibilisées à l'auto-examen mensuel des seins dès l'âge de 18 ans et à solliciter un examen clinique semi-annuel des seins à partir de l'âge de 25 ans. Il recommande également de procéder annuellement à une mammographie de dépistage et à un examen d'imagerie par résonance magnétique (IRM) des seins dès l'âge de 25 ans ou selon un calendrier individualisé qui tient compte de l'âge du plus jeune cas de cancer diagnostiqué dans la famille [NCCN, 2016].

La National Society of Genetic Counselors (NSGC) a publié, en 2013, un guide de pratique clinique sur l'évaluation du risque et le conseil génétique concernant les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Le NSGC recommande que les tests génétiques soient offerts aux personnes dont les antécédents personnels ou familiaux laissent suspecter la présence d'un cancer héréditaire du sein ou de l'ovaire lorsque le test peut être interprété adéquatement, qu'il influence la prise en charge du patient ou d'un membre de sa famille, que les bénéfices potentiels surpassent les risques potentiels, que l'évaluation est volontaire et que l'individu soumis au test, ou son représentant légal, peut donner un consentement éclairé [Berliner *et al.*, 2013]. L'USPSTF recommande d'offrir un conseil génétique aux femmes ayant des antécédents familiaux associés à un risque de mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* et, si cela est indiqué, un test génétique [Moyer, 2014].

L'American Congress of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) et la Society of Gynecologic Oncologists (SGO) recommandent une évaluation génétique chez les femmes qui présentent un risque de prédisposition génétique de cancer du sein ou de l'ovaire supérieur à 20 % à 25 %. L'ACOG et la SGO mentionnent aussi qu'une évaluation génétique pourrait être utile chez les femmes dont le risque de prédisposition estimé est de 5 % à 10 % [ACOG, 2009; Lancaster *et al.*, 2007]. De plus, la SGO souligne l'importance d'obtenir le consentement éclairé du patient et que ce dernier ait d'abord accès à une information pré-test et à un conseil sur les risques, les bénéfices et les limites du test, de même que les suites possibles selon le résultat de ce test [Lancaster *et al.*, 2007].

L'American Society of Clinical Oncology (ASCO) recommande un test génétique dans les situations suivantes : 1) les antécédents personnels ou familiaux indiquent une susceptibilité à un cancer héréditaire, 2) le test peut être interprété adéquatement et 3) les résultats servent au diagnostic ou à la prise en charge d'un patient ou d'un membre de la famille qui présente un risque de cancer héréditaire. L'ASCO recommande également que ces tests soient seulement réalisés lorsqu'un conseil génétique pré-test et post-test est offert [Robson *et al.*, 2015; 2010].

L'European Society for Medical Oncology (ESMO) recommande pour sa part que tous les patients auxquels un test génétique *BRCA1* et *BRCA2* est prescrit donnent d'abord un consentement éclairé et reçoivent un conseil génétique. Les personnes présentant une mutation dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont encouragées à aviser les membres de leur famille afin que ces derniers obtiennent également un conseil génétique [Balmaña *et al.*, 2011].

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Plusieurs patients atteints d'un syndrome héréditaire de cancer du sein ou de l'ovaire présentent une mutation autosomale dominante dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2*. L'analyse proposée sert à évaluer le profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par une méthode de SNG en vue de dépister les personnes qui présentent un risque élevé de développer un syndrome héréditaire de cancer du sein ou de l'ovaire, et ce, en vue de leur offrir un traitement préventif.

La recherche documentaire a permis de repérer cinq études ayant pour objectif d'évaluer la valeur diagnostique du SNG dans l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* en utilisant un système offert par Illumina^{MC}. Selon ces études, le SNG est sensible et fiable et, son utilisation est pertinente dans un laboratoire clinique.

La détection d'une mutation dans le gène *BRCA1* ou dans le gène *BRCA2* permet d'offrir aux personnes qui présentent un risque élevé de développer un cancer diverses interventions préventives, telles qu'une surveillance accrue, une intervention chirurgicale ou une hormonothérapie. Ces mesures se sont révélées efficaces pour réduire le risque de cancer ainsi que la mortalité et la morbidité qui lui sont associées, mais elles comportent toutefois des effets secondaires qui peuvent influencer sur la qualité de vie.

Les économies résultant de l'introduction de l'analyse du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2* par SNG dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* sont estimées à plus de 1,6 M\$ en considérant les coûts actualisés pour le rapatriement au Québec de l'ensemble des analyses effectuées hors Québec, et ce, pour les trois premières années.

L'association entre la présence de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* et l'incidence accrue de cancers du sein, de l'ovaire et du pancréas est bien établie dans la littérature scientifique. De fait, de nombreux organismes ont publié des guides de pratique clinique ou élaboré des recommandations sur l'évaluation génétique, la surveillance, les interventions préventives et la prise en charge des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Tous s'entendent pour recommander qu'un conseil génétique soit offert, avant et après l'évaluation du profil de mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Recherche de mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* par séquençage de nouvelle génération

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Des enjeux majeurs de qualité des services et de délai de réponse sont associés à cette analyse.
- ✓ La mise en place de cette analyse nécessitera une période de transition pendant laquelle il sera important que le test demeure disponible hors Québec.
- ✓ Le(s) laboratoire(s) désigné(s) devra(ient) avoir la possibilité d'envoyer les analyses hors Québec si les volumes l'exigent.

ANNEXE A

Liste des mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* analysées lors de la validation de l'analyse par SNG par le laboratoire du demandeur

Tableau 7 Liste des mutations analysées lors de la validation de l'analyse par SNG et par séquençage de Sanger

NUMÉRO DE L'ÉCHANTILLON	DÉSIGNATION	MUTATION <i>BRCA</i> (NOMENCLATURE HGVS)	RÉSULTAT DU SNG
1	MU5	<i>BRCA2</i> :c.5946delT	positif
2	MU6	<i>BRCA2</i> :c.5946delT	positif
3	MU7	<i>BRCA1</i> :c.1016dupA	positif
4	MU9	<i>BRCA2</i> :c.9501+1G>A	positif
5	MU20	<i>BRCA2</i> :c.5645C>A	positif
6	MU23	<i>BRCA2</i> :c.5350_5351delAA	positif
7	MU30	<i>BRCA1</i> :c.213-2A>C	positif
8	MU34	<i>BRCA1</i> :c.5106delA	positif
9	MU41	<i>BRCA1</i> :c.5266dupC	positif
10	MU43	<i>BRCA2</i> :c.3170_3174del5	positif
11	MU45	<i>BRCA1</i> :c.843_846delCTCA	positif
12	MU47	<i>BRCA2</i> :c.3170_3174del5	positif
13	MU50	<i>BRCA1</i> :c.2418dupA (p.Ala807fs)	positif
14	MU52	<i>BRCA2</i> :c.7617+1G>A	positif
15	MU54	<i>BRCA2</i> :c.3814_3815insA (p.Met1272fs)	positif
16	MU58	<i>BRCA1</i> :c.3587dupA (p.His1197fs)	positif
17	MU62	<i>BRCA2</i> :c.3545-3546delTT (p.Phe1182X)	positif
18	MU64	<i>BRCA2</i> :c.3814_3815insA (p.Met1272fs)	positif
19	MU68	<i>BRCA2</i> :c.2330dupA	positif
20	MU71	<i>BRCA1</i> :c.68_69delAG	positif
21	MU75	<i>BRCA2</i> :c.5656C>T	positif
22	MU76	<i>BRCA1</i> :c.5319dupC	positif
23	MU78	<i>BRCA2</i> :c.5857G>T	positif
24	MU82	<i>BRCA1</i> :c.131G>T	positif
25	MU84	<i>BRCA2</i> :c.67+1G>A	positif
26	MU89	<i>BRCA1</i> :c.4986+6T>C	positif
27	MU90	<i>BRCA2</i> :c.8537_8538delAG	positif

(suite)

Tableau 7 Liste des mutations analysées lors de la validation de l'analyse par SNG et par séquençage de Sanger (*suite*)

NUMÉRO DE L'ÉCHANTILLON	DÉSIGNATION	MUTATION <i>BRCA</i> (NOMENCLATURE HGVS)	RÉSULTAT DU SNG
28	MU93	<i>BRCA1</i> :c.5106delA	positif
29	MU95	<i>BRCA1</i> :c.181T>G	positif
30	MU96	<i>BRCA1</i> :c.2834_2836delinsC	positif
31	MU99	<i>BRCA1</i> :c.4327C>T	positif
32	MU101	<i>BRCA1</i> :c.5266dupC	positif
33	MU106	<i>BRCA1</i> :c.3756_3759delGTCT	positif
34	MU107	<i>BRCA1</i> :c.4327C>T	positif
35	15,0379	<i>BRCA2</i> :c.1327G>T, p.(E443 [*])	positif
36	15,2706	<i>BRCA1</i> :c.5266dupC	positif
37	MU3	<i>BRCA2</i> :c.6275_6276delTT	positif
38	MU11	<i>BRCA1</i> :c.962G>A	positif
39	MU60	<i>BRCA1</i> :c.5946delT	positif
40	MU48	<i>BRCA2</i> :c.1811_1812delAAinsG (p.Lys604fs)	positif

Abréviation : HGVS : Human Genome Variation Society

BIBLIOGRAPHIE

- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). ACOG Practice Bulletin No. 103: Hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Obstet Gynecol* 2009;113(4):957-66.
- Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 2003;72(5):1117-30.
- Balabanski L, Antov G, Dimova I, Ivanov S, Nacheva M, Gavrilov I, et al. Next-generation sequencing of and in breast cancer patients and control subjects. *Mol Clin Oncol* 2014;2(3):435-9.
- Balmaña J, Diez O, Rubio IT, Cardoso F. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2011;22(Suppl 6):vi31-vi34.
- Berliner JL, Fay AM, Cummings SA, Burnett B, Tillmanns T. NSGC practice guideline: Risk assessment and genetic counseling for hereditary breast and ovarian cancer. *J Genet Couns* 2013;22(2):155-63.
- Bosdet IE, Docking TR, Butterfield YS, Mungall AJ, Zeng T, Coope RJ, et al. A clinically validated diagnostic second-generation sequencing assay for detection of hereditary BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Mol Diagn* 2013;15(6):796-809.
- Chen S et Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol* 2007;25(11):1329-33.
- Fu R, Harris EL, Helfand M, Nelson HD. Estimating risk of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations: A meta-analytic approach. *Stat Med* 2007;26(8):1775-87.
- Ghadirian P, Robidoux A, Zhang P, Royer R, Akbari M, Zhang S, et al. The contribution of founder mutations to early-onset breast cancer in French-Canadian women. *Clin Genet* 2009;76(5):421-6.
- Heemskerk-Gerritsen BA, Rookus MA, Aalfs CM, Ausems MG, Collée JM, Jansen L, et al. Improved overall survival after contralateral risk-reducing mastectomy in BRCA1/2 mutation carriers with a history of unilateral breast cancer: A prospective analysis. *Int J Cancer* 2015;136(3):668-77.
- Heemskerk-Gerritsen BA, Menke-Pluijmers MB, Jager A, Tilanus-Linthorst MM, Koppert LB, Obdeijn IM, et al. Substantial breast cancer risk reduction and potential survival benefit after bilateral mastectomy when compared with surveillance in healthy BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: A prospective analysis. *Ann Oncol* 2013;24(8):2029-35.
- Illumina. Understanding Illumina quality scores. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2014. Disponible à : <http://www.illumina.com/content/dam/illumina->

marketing/documents/products/technotes/technote_understanding_quality_scores.pdf (consulté le 25 novembre 2015).

- Lancaster JM, Powell CB, Kauff ND, Cass I, Chen LM, Lu KH, et al. Society of Gynecologic Oncologists Education Committee statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol* 2007;107(2):159-62.
- Lerner-Ellis J, Wang M, White S, Lebo MS. Canadian Open Genetics Repository (COGR): A unified clinical genomics database as a community resource for standardising and sharing genetic interpretations. *J Med Genet* 2015;52(7):438-45.
- Marchetti C, De Felice F, Palaia I, Perniola G, Musella A, Musio D, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy: A meta-analysis on impact on ovarian cancer risk and all cause mortality in BRCA 1 and BRCA 2 mutation carriers. *BMC Womens Health* 2014;14:150.
- Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: Results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(11):812-22.
- Mocci E, Milne RL, Mendez-Villamil EY, Hopper JL, John EM, Andrulis IL, et al. Risk of pancreatic cancer in breast cancer families from the breast cancer family registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(5):803-11.
- Moyer VA. Risk assessment, genetic counseling, and genetic testing for BRCA-related cancer in women: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2014;160(4):271-81.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Genetic/familial high-risk assessment: Breast and ovarian. Version 2.2016. Clinical practice guidelines in oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016. Disponible à : <http://www.nccn.org/>.
- Nelson HD, Pappas M, Zakher B, Mitchell JP, Okinaka-Hu L, Fu R. Risk assessment, genetic counseling, and genetic testing for BRCA-related cancer in women: A systematic review to update the U.S. Preventive Services Task Force recommendation. *Ann Intern Med* 2014;160(4):255-66.
- Ozcelik H, Shi X, Chang MC, Tram E, Vlasschaert M, Di Nicola N, et al. Long-range PCR and next-generation sequencing of BRCA1 and BRCA2 in breast cancer. *J Mol Diagn* 2012;14(5):467-75.
- Paul A et Paul S. The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2014;19:605-18.
- Petrucelli N, Daly MB, Feldman GL. BRCA1 and BRCA2 hereditary breast and ovarian cancer. Dans : Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., éd. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle, WA : University of Washington; 2013. Disponible à : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1247/>.
- Ratajska M, Krygier M, Stukan M, Kuzniacka A, Koczkowska M, Dudziak M, et al. Mutational analysis of BRCA1/2 in a group of 134 consecutive ovarian cancer patients. Novel and recurrent BRCA1/2 alterations detected by next generation sequencing. *J Appl Genet* 2015;56(2):193-8.

- Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American Society of Clinical Oncology policy statement update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2015;33(31):3660-7.
- Robson ME, Storm CD, Weitzel J, Wollins DS, Offit K. American Society of Clinical Oncology policy statement update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2010;28(5):893-901.
- Simard J, Dumont M, Moisan AM, Gaborieau V, Malouin H, Durocher F, et al. Evaluation of BRCA1 and BRCA2 mutation prevalence, risk prediction models and a multistep testing approach in French-Canadian families with high risk of breast and ovarian cancer. *J Med Genet* 2007;44(2):107-21.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2015. Sujet particulier : prévisions concernant le fardeau futur du cancer au Canada. Toronto, ON : SCC; 2015. Disponible à : <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2015-FR.pdf?la=fr-CA>.
- Strom CM, Rivera S, Elzinga C, Angeloni T, Rosenthal SH, Goos-Root D, et al. Development and validation of a next-generation sequencing assay for BRCA1 and BRCA2 variants for the clinical laboratory. *PLoS One* 2015;10(8):e0136419.
- Tonin PN, Mes-Masson AM, Futreal PA, Morgan K, Mahon M, Foulkes WD, et al. Founder BRCA1 and BRCA2 mutations in French Canadian breast and ovarian cancer families. *Am J Hum Genet* 1998;63(5):1341-51.
- Valachis A, Nearchou AD, Lind P. Surgical management of breast cancer in BRCA-mutation carriers: A systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2014;144(3):443-55.
- Wong-Brown MW, Meldrum CJ, Carpenter JE, Clarke CL, Narod SA, Jakubowska A, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in patients with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2015;150(1):71-80.

SÉQUENÇAGE DES EXONS 23 ET 25 DU GÈNE *ALK* DANS LES CAS DE NEUROBLASTOME (RÉFÉRENCE – 2015.03.004)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** CHU Sainte-Justine
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 2 mai 2016
- 1.3 Date de publication de l'avis :** 30 juin 2016

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

La D^{re} Maude St-Jean n'a pas participé aux délibérations et s'est retirée au moment de formuler la recommandation.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Analyse mutationnelle du gène *ALK* (*anaplastic lymphoma kinase*) par séquençage direct de type Sanger.

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

La recherche de mutations dans les exons 23 et 25 du gène *ALK* permettra de préciser ou d'adapter le traitement du neuroblastome en fonction de la mutation détectée.

La recherche de mutation sera réalisée à l'aide de la méthode de séquençage de Sanger [Sanger *et al.*, 1977]. Le principe de cette méthode de séquençage, dite par terminaison de chaîne, consiste à amorcer la polymérisation de l'ADN à l'aide d'une amorce complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer, préalablement amplifié par PCR (amplification en chaîne par polymérase). L'élongation de l'amorce est réalisée par une ADN polymérase en présence des quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) ainsi que d'une faible concentration de didésoxyribonucléotides marqués d'un fluorochrome unique (ddNTP^{*}) : ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP. L'incorporation aléatoire d'un ddNTP^{*} en cours d'élongation provoque l'arrêt de la polymérisation du nouveau brin. Il en résulte un mélange de fragments d'ADN de tailles variables qui se terminent tous par un nucléotide marqué. Les fragments sont ensuite séparés en fonction de leur taille

par électrophorèse capillaire, puis détectés au moyen d'un laser qui excite le fluorochrome du ddNTP terminal. La séquence des fluorochromes, analysée par ordinateur, correspond à celle des bases de l'ADN original.

2.3 Modalités d'administration du test

Le prélèvement d'un échantillon de tissu tumoral sera effectué afin de réaliser le séquençage des exons 23 et 25 du gène *ALK*. Le temps de réponse de cette analyse de même que la périodicité sont de 3 semaines.

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 Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis.

2.6 Valeur pondérée : 259,11

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

L'analyse mutationnelle du gène *ALK* est indiquée chez les patients pédiatriques qui présentent un neuroblastome réfractaire au traitement de chimiothérapie standard. Cette analyse n'est pas réalisée chez les enfants pour lesquels un traitement pharmacologique n'est pas indiqué.

3.2 Description de la maladie visée

Le neuroblastome est une tumeur solide extracranienne pédiatrique. Il s'agit de la forme la plus fréquente de cancer diagnostiqué au cours de la première année de vie [Carpenter et Mossé, 2012; De Brouwer *et al.*, 2010; Ries *et al.*, 1999]. On trouve également ce type de tumeur chez 1 enfant sur 100 000 âgé de moins de 15 ans [De Brouwer *et al.*, 2010]. Il s'agit de loin du cancer le plus fréquent chez les enfants et dont l'incidence est presque 2 fois plus élevée que celle de la leucémie [Ries *et al.*, 1999]. Ce type de tumeur comptait, en 2006, pour 9,1 % de la mortalité par cancer pédiatrique [Smith *et al.*, 2010]. La plupart des tumeurs primaires (65 %) sont détectées dans l'abdomen, dont au moins la moitié se situe dans la partie médullaire des glandes surrénales [Maris *et al.*, 2007].

Des mutations du gène *ALK*, codant pour un récepteur à tyrosine kinase (RTK), ont été rapportées dans 8 % à 11 % des cas de neuroblastome [Bresler *et al.*, 2014; Shukla *et al.*, 2012; Caren *et al.*, 2008; George *et al.*, 2008; Mossé *et al.*, 2008]. On trouve 79 % des mutations du gène *ALK* dans les exons 23 et 25 [Borinstein et Brown, 2015].

Les mutations rapportées le plus fréquemment sont situées dans le domaine tyrosine kinase à trois acides aminés hautement conservés : F1174 (exon 23), F1245, R1275 (exon 25) [Ogawa *et al.*, 2011; De Brouwer *et al.*, 2010]. Les mutations du gène *ALK* seraient la principale cause de la plupart des cas de neuroblastome héréditaire [Carpenter et Mossé, 2012; Mossé *et al.*, 2008], bien que ces cas soient rares comparativement aux cas sporadiques [Carpenter et Mossé, 2012].

L'identification du gène *ALK* comme marqueur oncogénique permet de supposer que le crizotinib, un inhibiteur spécifique des tyrosines kinase MET et ALK, pourrait être utile pour traiter le neuroblastome [Bresler *et al.*, 2011].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le volume provincial attendu est de 13 cas par année.

3.4 Spécialités médicales concernées

Génétique, oncologie, hématologie.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Le diagnostic des neuroblastomes est effectué à l'aide des techniques d'imagerie et d'une biopsie de la tumeur. Actuellement, le neuroblastome est traité au moyen d'une polychimiothérapie standard et par une chirurgie de la tumeur, lorsque cela est possible.

3.6 Données médico-administratives

L'analyse mutationnelle du gène *ALK* n'est pas incluse dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* et aucun envoi hors Québec n'a été repéré dans le fichier 2013-2014. Selon le demandeur, des échantillons ont été envoyés à Cincinnati et à Philadelphie (Children's Hospital of Philadelphia).

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Certaines mutations du gène *ALK* représentent une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du neuroblastome. L'analyse du profil mutationnel de ce gène permettra de déterminer si le crizotinib, un inhibiteur sélectif du récepteur tyrosine kinase ALK, peut être utilisé pour les patients pédiatriques présentant un neuroblastome réfractaire au traitement de chimiothérapie standard. Selon le demandeur, le crizotinib serait efficace en présence de la mutation R1275 (exon 25). Par ailleurs, la présence de la mutation F1174 (exon 23) confère une résistance au crizotinib, ce qui exige d'avoir recours à une autre option thérapeutique. Également selon le demandeur, le séquençage du gène *ALK* sera inclus en première ligne d'investigation pour les neuroblastomes à haut risque lors de la prochaine étude du Cancer Oncology Group.

3.8 Assurance qualité

Chaque analyse sera réalisée en parallèle avec la lignée cellulaire contrôle SKN-SH présentant la mutation p.F1174L et la lignée cellulaire SKN-AS sans mutation du gène *ALK*. Les mesures de sécurité des matériaux et des résultats seront conformes aux normes du Collège canadien de généticiens médicaux (CCMG) et d'Agrément Canada. La participation aux contrôles de qualité externes du College of American Pathologists (CAP) est prévue.

3.9 Remplacement d'un autre test

L'analyse mutationnelle du gène *ALK* est une nouvelle analyse; elle ne remplace donc aucune analyse incluse dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

L'analyse mutationnelle du gène *ALK* par séquençage direct de Sanger n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic, mais plutôt de préciser et d'adapter le traitement selon la mutation détectée. Le diagnostic de neuroblastome sera établi préalablement à la recherche de mutations dans le gène *ALK*.

4.2 Valeur pronostique

Le profil mutationnel du gène *ALK* n'est pas utilisé pour évaluer le pronostic des neuroblastomes.

Les groupes de risque proposés par le Children's Oncology Group (COG) permettent d'établir trois groupes selon le risque de mourir de la maladie (risque faible, intermédiaire ou élevé) à partir du stade de la maladie, de l'âge du patient, de l'histologie de la tumeur, de la présence ou de l'absence d'amplification de l'oncogène *MYCN* et le contenu en ADN de la tumeur (ploïdie), sans toutefois inclure le profil mutationnel du gène *ALK* [Maris et al., 2007].

4.3 Valeur thérapeutique

Le crizotinib (Xalkori^{MD} de Pfizer) est actuellement indiqué en monothérapie pour le traitement du cancer du poumon non à petites cellules, avancé ou métastatique, entre autres chez les personnes dont la tumeur présente un réarrangement du gène *ALK*⁸⁰. Relativement au traitement du neuroblastome, le crizotinib n'est reconnu ni par la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ)⁸⁰, ni par Santé Canada⁸¹, ni par la FDA⁸².

Aucune étude de cohorte prospective ou rétrospective, ni aucune étude de cas, n'a été repérée quant à l'efficacité du crizotinib relativement au profil mutationnel du gène *ALK*. Toutefois, il a été démontré *in vitro* que la prolifération de lignées cellulaires exprimant la protéine *ALK* mutée en position R1275Q était inhibée par le crizotinib et que les lignées cellulaires exprimant la protéine *ALK* mutée en position F1174L étaient relativement résistantes au crizotinib [Bresler et al., 2011].

Par ailleurs, quatre études cliniques portant sur le crizotinib sont en cours (NCT00939770, NCT01606878, NCT02034981, NCT02559778).

L'étude NCT00939770⁸³ est une étude multicentrique de phase 1 et 2 menée par le Children's Oncology Group chez les enfants atteints de tumeurs solides réfractaires (dont le neuroblastome et la tumeur myofibroblastique inflammatoire) ou d'un lymphome anaplasique à grandes cellules. Cette étude a pour objectifs principaux de

⁸⁰ Information tirée de la Liste des médicaments de la RAMQ (mise à jour du 1^{er} octobre 2015), disponible à : https://www.prod.ramq.gouv.qc.ca/DPI/PO/Commun/PDF/Liste_Med/Liste_Med/liste_med_cor1_2015_10_01_fr.pdf (consulté le 11 novembre 2015).

⁸¹ La monographie de Xalkori^{MD} est disponible par la Base de données sur les produits pharmaceutiques de Santé Canada à : <http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/item-iteme.do?pm-mp=00034454> (consulté le 11 novembre 2015).

⁸² La monographie de Xalkori^{MD} est disponible par la base de données des médicaments approuvés par la FDA Drugs@FDA à : http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/202570s013lbl.pdf (consulté le 11 novembre 2015).

⁸³ De l'information additionnelle au sujet de l'étude NCT00939770 (Crizotinib in treating young patients with relapsed or refractory solid tumors or anaplastic large cell lymphoma) est disponible à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00939770> (consulté le 30 novembre 2015).

déterminer la dose maximale tolérée et la dose de phase 2 recommandée, de définir les effets toxiques et de déterminer la pharmacocinétique du crizotinib. Parmi les objectifs secondaires, on cherchera à déterminer l'activité antitumorale du crizotinib ainsi que la relation entre la réponse au traitement et le profil mutationnel⁸⁴ du gène *ALK*. La phase 2, actuellement en cours, a pour objectif de distinguer les sous-groupes de patients atteints d'un neuroblastome chez lesquels un traitement inhibiteur d'*ALK* pourrait s'avérer efficace parmi les patients qui présentent une mutation ou une amplification vérifiée du gène *ALK*. Les résultats de la phase 1 ont été publiés récemment [Mossé *et al.*, 2013]. Parmi les 79 patients inclus dans cette étude, 11 présentaient un neuroblastome dont le gène *ALK* était muté. À la suite du traitement à différentes doses de crizotinib, une réponse complète a été observée chez 1 patient, l'état de 3 patients est demeuré stable et l'évolution de la maladie a été observée chez 7 patients. Parmi les 23 patients atteints d'un neuroblastome et dont le profil mutationnel du gène *ALK* n'était pas connu, des résultats similaires ont été obtenus. Les auteurs concluent qu'il est trop tôt pour déterminer si le crizotinib sera efficace pour traiter 8 % à 10 % des enfants atteints d'un neuroblastome, soit ceux qui présentent des mutations somatiques du gène *ALK*. Par ailleurs, les auteurs affirment que l'efficacité du crizotinib a été clairement démontrée chez une proportion significative d'enfants atteints d'un lymphome anaplasique à grandes cellules ou présentant une tumeur myofibroblastique inflammatoire.

Une étude de phase 1 menée par le Children's Oncology Group (NCT01606878⁸⁵), actuellement en cours de recrutement, a pour objectif d'étudier les effets secondaires du crizotinib et la meilleure dose à administrer en combinaison avec la chimiothérapie standard. Cette étude permettra d'obtenir les données de sécurité et de tolérance requises pour intégrer le crizotinib au traitement de première ligne des enfants atteints d'un lymphome anaplasique à grandes cellules ou d'un neuroblastome à risque élevé.

Une étude multicentrique de phase 2 (NCT02034981⁸⁶), actuellement en cours de recrutement, est constituée de 23 cohortes de patients qui présentent des anomalies moléculaires détectées dans les gènes cibles du crizotinib (*ALK*, *MET* ou *ROS1*). Une de ces cohortes sera constituée d'enfants et d'adultes atteints d'un neuroblastome dont le gène *ALK* est amplifié ou a muté. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité et la sécurité du crizotinib en monothérapie.

En septembre dernier, une étude multicentrique de phase 1 a été entreprise (NCT02559778⁸⁷). L'étude a pour objectif d'évaluer la faisabilité et la toxicité d'un traitement moléculaire ciblé (dont le crizotinib) en combinaison avec le traitement

⁸⁴ Le profil mutationnel du gène *ALK* tel qu'il est décrit sur le site Web ClinicalTrials.gov, inclut la présence de mutation, de duplication, d'amplification et/ou de translocation.

⁸⁵ De l'information additionnelle au sujet de l'étude NCT01606878 (Crizotinib and combination chemotherapy in treating younger patients with relapsed or refractory solid tumors or anaplastic large cell lymphoma) est disponible à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01606878> (consulté le 30 novembre 2015).

⁸⁶ De l'information additionnelle au sujet de l'étude NCT02034981 (Phase 2 Study assessing efficacy and safety of crizotinib in patients harboring an alteration on *ALK*, *MET* or *ROS1* (AcSé)) est disponible à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02034981> (consulté le 30 novembre 2015).

⁸⁷ De l'information additionnelle au sujet de l'étude NCT02559778 (Pediatric precision laboratory advanced neuroblastoma therapy (PEDS-PLAN)) est disponible à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02559778> (consulté le 30 novembre 2015).

standard chez des sujets ayant obtenu un diagnostic récent de neuroblastome à risque élevé.

4.4 Validité analytique

Le tableau 1 présente les résultats de séquençage direct de type Sanger et de séquençage de nouvelle génération (SNG) dans la détection de mutations du gène *ALK* dans les cas de neuroblastome.

Tableau 1 Détection des mutations du gène *ALK* par séquençage Sanger et par (SNG)

ÉTUDE	N	DÉTECTION PAR SÉQUENÇAGE SANGER N (%)	DÉTECTION PAR SNG N (%)
Yan <i>et al.</i> , 2014	53	5/53 (9,4)	5/18 [*] (27,8)
Schleiermacher <i>et al.</i> , 2014	54	9/54 (16,7)	2/4 [†] (50,0)
Bellini <i>et al.</i> , 2015	276	12/27 (44,4)	27/276 (9,8)

Abréviations : N : nombre d'échantillons issus de patients atteints d'un neuroblastome; SNG : séquençage de nouvelle génération

* Parmi les 53 échantillons analysés par séquençage Sanger, 18 l'ont été par SNG.

† Parmi les 5 cas sans mutation du gène *ALK* analysés par séquençage Sanger, un cas n'a pu être analysé par SNG en raison d'un manque d'échantillon.

L'étude de Yan et ses collaborateurs [2014] avait pour objectif de comparer le séquençage Sanger et le SNG (à l'aide du séquenceur Ion Torrent^{MD} Personal Genome Machine^{MD}) dans la détection de mutations du gène *ALK* aux positions p.F1174 et p.R1275 [Yan *et al.*, 2014]. Les exons 23 et 25 du gène *ALK* de 53 échantillons FFEP (fixés dans le formaldéhyde et enrobés de paraffine) ont été séquencés par Sanger. Les mutations de 5 échantillons (3 mutés en position F1174L et 2, en position R1275Q) détectées par séquençage Sanger ont également été détectées par SNG. Selon les auteurs, le SNG ne serait pas la méthode la plus efficace par rapport à son coût pour détecter seulement deux mutations dans des tumeurs rares.

Le rôle potentiel de mutations du gène *ALK* dans l'évolution clonale du neuroblastome a été évalué au moyen d'une analyse par séquençage Sanger de 54 échantillons de neuroblastome appariés (diagnostic et rechute) [Schleiermacher *et al.*, 2014]. Des mutations du gène *ALK* ont été détectées par séquençage Sanger dans 9 échantillons prélevés au moment du diagnostic. Lors de la rechute de ces patients, les 9 échantillons *ALK*⁺ ont à nouveau été détectés et des mutations ont été détectées dans 5 autres échantillons. Des 5 échantillons sans mutation du gène *ALK* au moment du diagnostic, 4 ont été analysés par SNG (séquenceur Ion Torrent PGM). Le SNG a permis de détecter des mutations du gène *ALK* dans 2 de ces 4 cas, tant au moment du diagnostic que lors de la rechute. Ainsi, parmi les 54 échantillons analysés, les mutations du gène *ALK* présentes au moment du diagnostic n'ont pu être détectées par séquençage Sanger dans 2 échantillons (3,7 %).

La présence de mutations sous-clonales dans les exons 23 et 25 du gène *ALK* a été évaluée par SNG (séquenceur HiSeq, Illumina) et par séquençage Sanger dans des échantillons tumoraux issus d'une cohorte de 276 patients qui présentaient un

neuroblastome [Bellini *et al.*, 2015]. Au moment du diagnostic, le SNG a permis de détecter les mutations F1174 et R1275 dans 27 échantillons; le pourcentage d'allèles mutés allait de 0,562 % à 73,001 %. Parmi ceux-ci, la mutation détectée dans 12 échantillons avec une fréquence allélique supérieure à 20 % a été considérée comme un événement clonal et celle détectée dans les 15 autres échantillons a été considérée comme un événement sous-clonal, étant donné une fréquence allélique inférieure à 20 %. Le séquençage Sanger a permis de confirmer les mutations du gène *ALK* présentes à une fréquence allélique supérieure à 20 %, soit dans 12 des 27 échantillons.

4.5 Données fournies par le demandeur

Lors de la mise au point du séquençage des exons 23 et 25 du gène *ALK*, des échantillons de tissu de 13 patients ainsi que des échantillons de contrôle non mutés ont été séquencés. Les lignées cellulaires SKN-SH mutée en position p.F1174L et SKN-AS non mutée ont aussi été séquencées. Aucune mutation n'a été détectée chez ces 13 patients. Le demandeur a mentionné que dans les grandes séries de patients atteints d'un neuroblastome, les mutations du gène *ALK* ont été rapportées dans 8 % des cas, ce qui expliquerait les résultats obtenus.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La détection de mutations du gène *ALK* permettrait d'offrir une option de traitement additionnelle aux patients pédiatriques qui présentent un neuroblastome réfractaire au traitement de chimiothérapie standard.

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

Aucune position ou orientation concernant l'analyse mutationnelle du gène *ALK* n'a été repérée.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

L'analyse du profil mutationnel du gène *ALK* permettra de déterminer si le crizotinib, un inhibiteur sélectif du récepteur tyrosine kinase ALK, peut être utilisé pour traiter les patients pédiatriques qui présentent un neuroblastome réfractaire au traitement de chimiothérapie standard.

Valeur diagnostique

L'analyse mutationnelle du gène *ALK* par séquençage direct de type Sanger n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic, mais plutôt de préciser et d'adapter le traitement selon la mutation détectée.

Valeur pronostique

Le profil mutationnel du gène *ALK* n'est pas utilisé pour évaluer le pronostic des neuroblastomes.

Valeur thérapeutique

Aucune étude de cohorte prospective ou rétrospective, ni aucune étude de cas, n'a été repérée quant à l'efficacité du crizotinib (Xalkori^{MD} de Pfizer) relativement au profil mutationnel du gène *ALK*. Par ailleurs, quatre études cliniques portant sur le crizotinib sont en cours. Les résultats de phase 1 de l'une de ces études ont été publiés en 2013.

Le crizotinib est actuellement indiqué en monothérapie pour le traitement du cancer du poumon non à petites cellules, avancé ou métastatique, mais n'est pas approuvé pour le traitement des neuroblastomes.

Validité analytique

Concernant le rendement du séquençage Sanger comparativement à celui du SNG dans la détection de mutations du gène *ALK*, trois études récentes ont été repérées. Dans l'une de ces études, les mutations détectées par SNG ont aussi été détectées par séquençage Sanger. Par ailleurs, les deux autres études ont montré, d'une part, qu'un faible pourcentage (3,7 %) de mutations présentes au moment du diagnostic n'a pu être détecté par séquençage Sanger et, d'autre part, que les mutations présentes à une fréquence allélique supérieure à 20 % ont pu être confirmées par séquençage Sanger.

Les données de validation fournies par le demandeur portaient sur le séquençage d'échantillons de tissus de 13 patients dans lesquels aucune mutation du gène *ALK* n'a été détectée.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Séquençage des exons 23 et 25 du gène *ALK* dans les cas de neuroblastome

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 données locales de validation sont insuffisantes.
- ✓ L'efficacité et l'innocuité du crizotinib dans le traitement du neuroblastome présentant des mutations somatiques du gène *ALK* ne sont pas clairement établies.

BIBLIOGRAPHIE

- Bellini A, Bernard V, Leroy Q, Rio Frio T, Pierron G, Combaret V, et al. Deep sequencing reveals occurrence of sub-clonal ALK mutations in neuroblastoma at diagnosis. *Clin Cancer Res* 2015;21(21):4913-21.
- Borinstein SC et Brown V. ALK in Neuroblastoma [site Web]. My Cancer Genome; 2015.
Disponible à : <https://www.mycancergenome.org/content/disease/neuroblastoma/alk>
(consulté le 8 décembre 2015).
- Bresler SC, Weiser DA, Huwe PJ, Park JH, Krytska K, Ryles H, et al. ALK mutations confer differential oncogenic activation and sensitivity to ALK inhibition therapy in neuroblastoma. *Cancer Cell* 2014;26(5):682-94.
- Bresler SC, Wood AC, Haglund EA, Courtright J, Belcastro LT, Plegaria JS, et al. Differential inhibitor sensitivity of anaplastic lymphoma kinase variants found in neuroblastoma. *Sci Transl Med* 2011;3(108):108ra14.
- Caren H, Abel F, Kogner P, Martinsson T. High incidence of DNA mutations and gene amplifications of the ALK gene in advanced sporadic neuroblastoma tumours. *Biochem J* 2008;416(2):153-9.
- Carpenter EL et Mossé YP. Targeting ALK in neuroblastoma—Preclinical and clinical advancements. *Nat Rev Clin Oncol* 2012;9(7):391-9.
- De Brouwer S, De Preter K, Kumps C, Zabrocki P, Porcu M, Westerhout EM, et al. Meta-analysis of neuroblastomas reveals a skewed ALK mutation spectrum in tumors with MYCN amplification. *Clin Cancer Res* 2010;16(17):4353-62.
- George RE, Sanda T, Hanna M, Frohling S, Luther W 2nd, Zhang J, et al. Activating mutations in ALK provide a therapeutic target in neuroblastoma. *Nature* 2008;455(7215):975-8.
- Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R, Cohn SL. Neuroblastoma. *Lancet* 2007;369(9579):2106-20.
- Mossé YP, Lim MS, Voss SD, Wilner K, Ruffner K, Laliberte J, et al. Safety and activity of crizotinib for paediatric patients with refractory solid tumours or anaplastic large-cell lymphoma: A Children's Oncology Group phase 1 consortium study. *Lancet Oncol* 2013;14(6):472-80.
- Mossé YP, Laudenslager M, Longo L, Cole KA, Wood A, Attiyeh EF, et al. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008;455(7215):930-5.
- Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y. Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. *Cancer Sci* 2011;102(2):302-8.
- Ries LA, Smith MA, Gurney JG, Linet M, Tamra T, Young JL, Bunin GR. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995. NIH

- Pub. No. 99-4649. Bethesda, MD : National Cancer Institute; 1999. Disponible à : <http://seer.cancer.gov/archive/publications/childhood/childhood-monograph.pdf>.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74(12):5463-7.
- Schleiermacher G, Javanmardi N, Bernard V, Leroy Q, Cappelletti J, Rio Frio T, et al. Emergence of new ALK mutations at relapse of neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2014;32(25):2727-34.
- Shukla N, Ameer N, Yilmaz I, Nafa K, Lau CY, Marchetti A, et al. Oncogene mutation profiling of pediatric solid tumors reveals significant subsets of embryonal rhabdomyosarcoma and neuroblastoma with mutated genes in growth signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2012;18(3):748-57.
- Smith MA, Seibel NL, Altekruse SF, Ries LA, Melbert DL, O'Leary M, et al. Outcomes for children and adolescents with cancer: Challenges for the twenty-first century. *J Clin Oncol* 2010;28(15):2625-34.
- Yan B, Kuick CH, Lim M, Venkataraman K, Tennakoon C, Loh E, et al. Platform comparison for evaluation of ALK protein immunohistochemical expression, genomic copy number and hotspot mutation status in neuroblastomas. *PLoS One* 2014;9(9):e106575.