

NOVEMBRE 2014

Plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers : faits marquants et synthèse d'activité 2013

COLLECTION

Bilans d'activité & d'évaluation

IMPLÉMENTATION DES TESTS
RAS DANS LE CANCER
COLORECTAL

ÉVALUATION DE LA QUALITÉ
DES ANALYSES

LE PROGRAMME AcSé

TABLEAU DE BORD
DE L'ACTIVITÉ 2013

Agence sanitaire et scientifique de référence dédiée au cancer, l'Institut national du cancer stimule, soutient et met en œuvre une politique coordonnée de lutte contre la maladie. Créé par la loi de santé publique du 9 août 2004, l'INCa regroupe environ 150 collaborateurs en quatre entités opérationnelles : Recherche et innovation, Santé publique et soins, Recommandations et qualité de l'expertise, Communication et information.

ONT PARTICIPÉ À L'ÉLABORATION DE CE RAPPORT :

- Étienne LONCHAMP, département biologie, transfert et innovations, direction de la recherche et de l'innovation, INCa
- Frédérique NOWAK, responsable du département biologie, transfert et innovations, direction de la recherche et de l'innovation, INCa

Depuis 2003, la lutte contre le cancer en France est structurée autour de plans nationaux visant à mobiliser tous les acteurs autour de la prévention, du dépistage, des soins, de la recherche et de l'accompagnement du patient et de ses proches. Le Plan cancer 2003-2007 a dressé une première stratégie globale de lutte contre le cancer ; le second (2009-2013) a introduit la notion de prise en charge personnalisée.



Le 3^e Plan cancer 2014-2019 a pour ambitions de donner à chacun, partout en France, les mêmes chances de guérir et de mettre plus rapidement encore les innovations au service des malades. Il comprend 17 objectifs regroupés autour de quatre grandes priorités de santé :

- Guérir plus de personnes malades
- Préserver la continuité et la qualité de vie
- Investir dans la prévention et la recherche
- Optimiser le pilotage et les organisations

Le Plan cancer s'inscrit dans la mise en œuvre d'une stratégie nationale de santé et de l'Agenda stratégique pour la recherche, le transfert et l'innovation « France-Europe 2020 ».

Ce guide répond à l'**objectif 6** : Conforter l'avance de la France dans la médecine personnalisée

Action 6.2 : Conforter l'accès aux tests moléculaires

objectif 5 : Accélérer l'émergence de l'innovation au bénéfice des patients

Action 5.6 : Adapter les essais cliniques aux évolutions conceptuelles induites par l'arrivée des thérapies ciblées

Pour en savoir plus et télécharger le Plan cancer : e-cancer.fr

Ce document doit être cité comme suit : ©Plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers : faits marquants et synthèse d'activité 2013. Collection Bilans d'activité et d'évaluation, ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, novembre 2014.

Il peut être reproduit ou diffusé librement pour un usage personnel et non destiné à des fins commerciales ou pour des courtes citations. Pour tout autre usage, il convient de demander l'autorisation auprès de l'INCa.

TABLE DES MATIÈRES

FAITS MARQUANTS.....	5
IMPLÉMENTATION DES TESTS RAS DANS LE CANCER COLORECTAL.....	8
1. INTRODUCTION.....	8
2. DYNAMIQUE DE MISE EN PLACE DES NOUVEAUX TESTS.....	8
3. TAUX DE MUTATIONS.....	9
ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES ANALYSES.....	10
1. CAMPAGNES DE CONTRÔLE QUALITÉ DANS LE CANCER DU POU MON ET LE CANCER COLORECTAL.....	10
1.1. PROTOCOLE.....	10
1.2. RÉSULTATS.....	11
2. CAMPAGNE DE CONTRÔLE QUALITÉ DANS LE MÉLANOME.....	13
2.1. PROTOCOLE.....	13
2.2. RÉSULTATS.....	14
LE PROGRAMME ACSÉ POUR UN ACCÈS SÉCURISÉ À DES THÉRAPIES CIBLÉES INNOVANTES.....	15
1. INTRODUCTION.....	15
1.1. LE PROGRAMME ACSÉ.....	15
1.2. LE CRIBLAGE MOLÉCULAIRE DES TUMEURS.....	16
2. SUIVI ET BILAN D'ÉTAPE DU PROGRAMME DE CRIBLAGE MOLÉCULAIRE.....	17
TABLEAU DE BORD DE L'ACTIVITÉ DES PLATEFORMES.....	20
1. MÉTHODE.....	20
2. LISTE DES TESTS DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRES RÉALISÉS PAR LES PLATEFORMES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DES CANCERS.....	21
3. CANCER DU SEIN.....	23
4. CANCER DE L'ESTOMAC.....	25
5. CANCER COLORECTAL.....	26
6. TUMEURS GASTRO-INTESTINALES (GIST).....	29
7. MÉLANOME.....	31
8. CANCER DU POU MON.....	33
9. SARCOMES.....	35
10. NEUROBLASTOMES.....	37
11. GLIOMES.....	38
12. GLOBLASTOMES.....	40
13. LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) – DÉTECTION ET QUANTIFICATION DE BCR-ABL.....	41
14. LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE HORS BCR-ABL.....	42
15. LEUCÉMIES AIGUËS LYMPHOBLASTIQUES (LAL) ET LEUCÉMIES AIGUËS MYÉLOBLASTIQUES (LAM).....	44
15.1. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES AU DIAGNOSTIC.....	44
15.2. RECHERCHE DE MUTATIONS.....	45
15.3. SUIVI DE LA MALADIE RÉSIDUELLE.....	46
16. LEUCÉMIES AIGUËS LYMPHOBLASTIQUES (LAL).....	48
17. LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC).....	49
18. SYNDROMES MYÉLOPROLIFÉRATIFS (SMP) HORS LMC.....	51
18.1. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES.....	51
18.2. MUTATIONS.....	52
19. MYÉLOME MULTIPLÉ ET SYNDROMES LYMPHOPROLIFÉRATIFS.....	54
20. SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES (SMD).....	55
21. LYMPHOMES.....	56
21.1. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES.....	56
21.2. CLONALITÉ.....	57
22. HÉMOPATHIES : CHIMÉRISME POST-GREFFE.....	59
23. PHARMACOGÉNÉTIQUE CONSTITUTIONNELLE.....	60
ANNEXE 1. LES PLATEFORMES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DES CANCERS.....	62

LEXIQUE

AMM	Autorisation de mise sur le marché d'un médicament
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé
CH	Centre hospitalier
CHRU	Centre hospitalier régional universitaire
CHU	Centre hospitalier universitaire
CISH	chromogenic in situ hybridization/hybridation in situ chromogénique
CLCC	Centre de lutte contre le cancer
CNAMTS	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés
EEQ	Évaluation externe de la qualité
EMA	European Medicament Agency/Agence Européenne du Médicament
FISH	Fluorescent in situ hybridization/hybridation in situ par fluorescence
GIST	Gastro-intestinal stromal tumor/tumeur stromale gastro-intestinale
HIS	Hybridation in situ
IHC	Immunohistochimie
ITK	Inhibiteur de tyrosine kinase
LAL	Leucémie aiguë lymphoblastique
LAM	Leucémie aiguë myéloblastique
LLC	Leucémie lymphoïde chronique
LMC	Leucémie myéloïde chronique
LNH	Lymphome non hodgkinien
NABM	Nomenclature des actes de biologie médicale
OMS	Organisation mondiale de la santé
SMD	Syndrome myélodysplasique
SMP	Syndrome myéloprolifératif
TMI	Tumeur myofibroblastique inflammatoire

FAITS MARQUANTS

- ✓ 28 plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers sont soutenues par l'INCa et la DGOS depuis 2006 et réparties sur tout le territoire. Elles regroupent plusieurs laboratoires, pouvant appartenir à des établissements différents, permettant d'offrir aux patients l'ensemble des techniques de génétique moléculaire indispensables pour toutes les pathologies concernées.
- ✓ 89 000 tests déterminants pour l'accès à une thérapie ciblée ont été réalisés en 2013 pour 65 000 patients.
- ✓ 4 campagnes d'évaluation externe de la qualité ont été réalisées en 2013 dans les 28 plateformes pour :
 - la détection et la quantification de *BCR-ABL* dans les leucémies ;
 - la recherche de mutations d'*EGFR* dans le cancer du poumon ;
 - la recherche de mutations de *KRAS* dans le cancer colorectal ;
 - la recherche de mutations de *BRAF* dans le mélanome.
- ✓ Les plateformes ont analysé les tumeurs de 2 304 patients en vue d'une potentielle inclusion dans l'essai clinique AcSé entre juillet 2013 et juin 2014. Ces tests ont permis d'identifier 129 patients porteurs d'une altération génétique aboutissant à l'inclusion de 57 patients dans l'essai AcSé Crizotinib.

INTRODUCTION

En 2013, les plateformes de génétique moléculaire des cancers ont réalisé 89 000 tests à visée théranostique pour un total de 65 000 patients (Tableau 1). Le nombre de tests réalisé a augmenté de 14 % par rapport à 2012 (78 000 tests) tandis que le nombre de patients en ayant bénéficié est resté relativement stable (63 000 patients en 2012). Cette différence s'explique par des évolutions de modalités de réalisation des tests sans qu'il n'y ait de modification des critères de prescriptions :

- Dans le cancer du poumon, la recherche de translocation du gène *ALK* s'est généralisée en 2014. Ainsi, presque tous les patients pour qui un test *EGFR* a été réalisé ont également bénéficié d'un test *ALK* en 2013 ;
- Dans le cancer colorectal, les modifications d'AMM du cetuximab et du panitumumab ont conduit à la mise en place des recherches de mutations de *NRAS* en parallèle des analyses de *KRAS* en cours d'année.
- Par ailleurs, 2013 a été marquée par l'implication des plateformes dans AcSé crizotinib, premier essai clinique du programme AcSé coordonné par l'INCa.

Tableau 1. Nombre de recherches de marqueurs prédictifs de la réponse à une thérapie ciblée en 2013		
Pathologie	Biomarqueur	Nombre de tests
Cancer du sein	Amplification d' <i>HER2</i>	8 924
Cancer de l'estomac	Amplification d' <i>HER2</i>	709
Cancer colorectal	Mutations de <i>KRAS</i>	19 347
	Mutations de <i>NRAS</i>	3 330
GIST	Mutations de <i>KIT</i>	1 105
	Mutations de <i>PDGFRA</i>	1 005
Cancer du poumon	Mutations d' <i>EGFR</i>	23 336
	Translocation d' <i>ALK</i>	18 861
Mélanome	Mutation de <i>BRAF V600</i>	5 026
Leucémies	Détection de <i>BCR-ABL</i>	6 750
	Mutations d' <i>ABL</i>	861
TOTAL		89 254

Figure 1. Situation des 28 plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers



IMPLÉMENTATION DES TESTS *RAS* DANS LE CANCER COLORECTAL

1. INTRODUCTION

Des mutations du gène *KRAS* sont fréquemment retrouvées dans les cancers colorectaux et conduisent généralement à une activation constitutive de la voie de signalisation de l'EGFR. La majorité des mutations sont observées dans les exons 2 et 3 de ce gène¹. La protéine RAS étant située en aval du récepteur EGFR, ces mutations sont associées à une inefficacité des traitements par inhibiteurs de tyrosine kinase anti-EGFR². Dans ce contexte, l'Agence Européenne du médicament (EMA) a autorisé en 2009 l'usage du cetuximab et du panitumumab uniquement pour les patients dont la tumeur exprime une forme non mutée de l'exon 2 de *KRAS*. Depuis cette date, la recherche des mutations de l'exon 2 de *KRAS* a été généralisée pour tous les patients avec un cancer colorectal métastatique pouvant potentiellement bénéficier d'un traitement par un anti-EGFR.

Récemment, une étude rétrospective des patients inclus dans les essais cliniques d'anti-EGFR a montré que des mutations des exons 2, 3 et 4 des gènes *KRAS* et *NRAS* sont également associées à une inefficacité des traitements anti-EGFR³. En conséquence, les autorisations de mise sur le marché du panitumumab et du cetuximab ont été modifiées en juillet 2013 et janvier 2014 pour restreindre les indications de prescription de ces molécules aux patients dont la tumeur exprime une forme non mutée des gènes *RAS*. En pratique, la recherche de mutations sur les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 de *KRAS* et *NRAS* est désormais obligatoire.

Suite à la modification d'AMM du panitumumab en juillet 2013, les plateformes de génétique moléculaire des cancers ont progressivement mis en place la recherche de nouveaux marqueurs entre juillet et décembre 2013. La nécessité de déployer rapidement ces nouvelles analyses pour plus de 19 000 patients par an a constitué une difficulté majeure pour les laboratoires. Afin d'accompagner les plateformes dans ce processus, mais aussi pour répondre aux questions soulevées quant à la pertinence des mutations à rechercher sur ces deux gènes, l'INCa a réalisé une collecte exhaustive d'information sur tous les tests *RAS* réalisés dans les plateformes entre juillet et décembre 2013.

2. DYNAMIQUE DE MISE EN PLACE DES NOUVEAUX TESTS

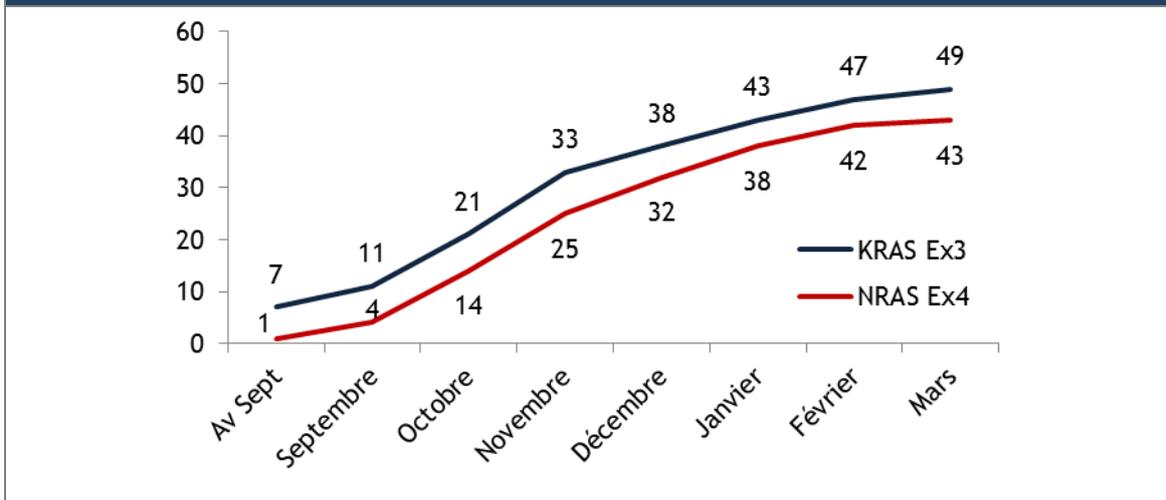
La recherche de mutations aux exons supplémentaires s'est mise en place progressivement à partir du mois de septembre 2013. Les premiers tests implémentés dans les laboratoires concernaient généralement les recherches de mutations sur l'exon 3 de *KRAS* et *NRAS*. Ainsi, alors que seuls 7 laboratoires réalisaient ces analyses au moment de la modification d'AMM du panitumumab en juillet 2013, 38 laboratoires sur 49 étaient passés à la mise en œuvre de ces tests en routine à la fin de l'année (Figure 2). Ces derniers tests sont réalisés par toutes les plateformes depuis le mois de mars 2014. Les tests implémentés le plus tardivement ont été les recherches de mutations sur l'exon 4 de *NRAS*, en raison de leur caractère exceptionnel. Toutefois, 43 laboratoires sur 49 étaient en mesure de réaliser ces tests en mars 2014.

¹ Amado et al, J Clin Oncol (2008) ; 26(10):1626-34

² Karapetis et al, N Engl J Med (2008) ; 359(17):1757-65

³ Douillard et al, N Engl J Med (2013) ; 369(11):1023-34

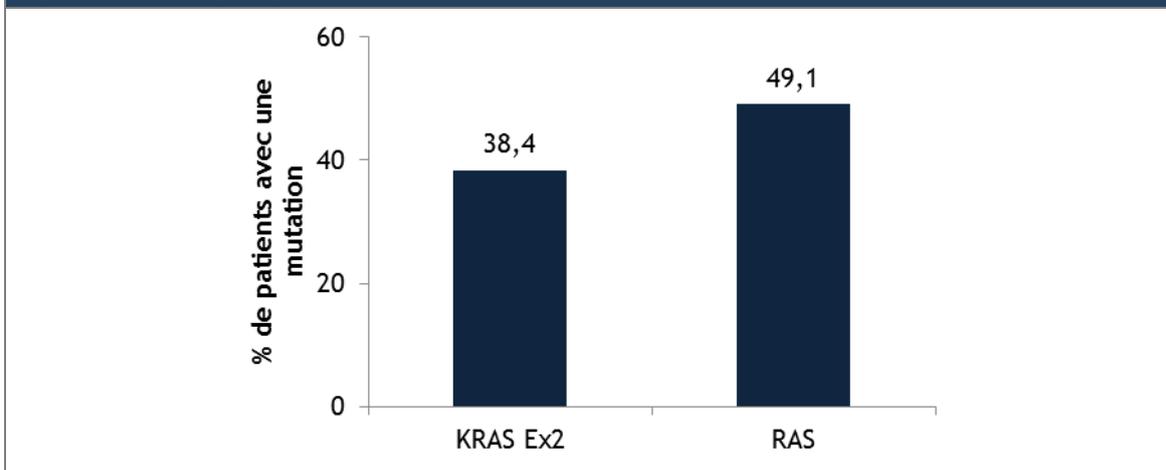
Figure 2. Nombre de laboratoires réalisant les tests RAS en routine clinique



3. TAUX DE MUTATIONS

Le pourcentage de patients avec une mutation de l'exon 2 de KRAS en France est de 38,4 % (Figure 3). Au sein des plateformes ayant mis en place l'ensemble des tests complémentaires sur les gènes RAS, le pourcentage de patients avec une mutation atteint 49,1 %. À l'échelle nationale environ 2 000 patients supplémentaires pour lesquels un traitement par ITK anti-EGFR sera inefficace pourront être identifiés chaque année grâce à l'analyse de leur tumeur.

Figure 3. Pourcentage de patients avec une mutation RAS



ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES ANALYSES

En apportant une information décisive pour le choix du traitement des patients, les tests déterminant l'accès à une thérapie ciblée ont un impact thérapeutique majeur. Il est donc indispensable de s'assurer de leur qualité afin d'éviter au maximum les faux positifs ou faux négatifs qui pourraient générer une perte de chance pour les patients ou les exposer à des effets secondaires inutiles. À cet effet, l'INCa développe un programme d'assurance qualité basé sur deux axes principaux :

- la publication de documents définissant les bonnes pratiques ;
- la publication de guides pour la validation de méthode en génétique somatique dans le cadre de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale ;
- l'organisation de campagnes de contrôle qualité pour les tests ayant un impact thérapeutique majeur pour les patients.

Ces actions ont vocation à accompagner les plateformes de génétique moléculaire vers l'accréditation selon la norme ISO 15189 qui sera obligatoire à terme, de par la loi portant réforme de la biologie médicale du 30 mai 2013 (n° 2013-442).

Un programme d'évaluation externe de la qualité (EEQ) a été mis en place à partir de 2012. Celui-ci concerne tous les laboratoires des 28 plateformes pour la phase analytique de l'examen et a permis, en 2012, la réalisation d'un contrôle qualité pour les tests *EGFR* dans le cancer du poumon, *KRAS* dans le cancer colorectal et *BCR-ABL* dans les LMC. Une campagne d'évaluation externe de la qualité pour le test *BRAF* dans le mélanome est effective depuis 2013. Les structures chargées de coordonner les campagnes d'EEQ ont été sélectionnées après une procédure de mise en concurrence dans le cadre d'un appel d'offres organisé par l'INCa. Il a été demandé à tous les laboratoires des plateformes pratiquant ces tests d'y participer.

1. CAMPAGNES DE CONTRÔLE QUALITÉ DANS LE CANCER DU POUMON ET LE CANCER COLORECTAL

Les campagnes d'évaluation externe de la qualité (EEQ) dans le cancer du poumon et le cancer colorectal ont été réalisées par le consortium Gen&Tiss qui regroupe l'Association Française d'Assurance Qualité en Anatomopathologie, l'Institut Curie et l'unité de recherche en assurance qualité de l'Université Catholique de Louvain. Les campagnes d'EEQ ont été placées sous la supervision d'un comité de pilotage constitué de 16 membres issus des plateformes de génétique moléculaire des cancers. Il doit permettre l'évaluation d'une partie des étapes pré-analytiques (validation histologique) et des phases analytique et postanalytique (qualité des comptes rendus, délai de rendu des résultats).

Les campagnes d'EEQ 2012 se sont focalisées sur les deux tests les plus fréquemment réalisés, à savoir les tests *EGFR* dans le cancer du poumon et les tests *KRAS* dans le cancer colorectal.

1.1. Protocole

1.1.1. Préparation et validation des échantillons

Les campagnes d'EEQ ont été réalisées à partir de blocs d'échantillons tumoraux fixés en formol et inclus en paraffine. Les échantillons ont été fournis par des laboratoires des plateformes, membres du comité de pilotage, et validés par l'AFAQAP afin de garantir le respect des critères de sélection fixés : minimum 30 % de cellules tumorales sans macrodissection et homogénéité des échantillons sur l'ensemble du bloc. Tous les échantillons ont également fait l'objet d'une vérification par un laboratoire référent européen externe au contrôle qualité situé à Nijmegen. En 2013, tous les échantillons ont également été validés par des techniques de NGS ciblé.

Chaque laboratoire participant à l'évaluation a reçu un lot de 10 échantillons comprenant un mélange d'échantillons mutés et non mutés pour chaque campagne. Dans le cancer du poumon, 45 laboratoires appartenant dépendants des plateformes de génétiques moléculaires ont participé aux campagnes EGFR dans le cancer du poumon tandis que dans le cancer colorectal il y a eu 50 participants à la campagne KRAS en 2012 et 49 en 2013. 41 laboratoires ont participé aux deux campagnes d'EEQ chaque année.

1.1.2. Anonymat des laboratoires participants

Afin de préserver l'anonymat des laboratoires, un numéro d'anonymat et une adresse mail anonyme ont été délivrés à chaque participant par voie notariale. Cette procédure a permis à tous les laboratoires des plateformes de participer à l'évaluation, y compris pour les laboratoires impliqués dans l'organisation de l'EEQ (mise à disposition ou validation biologique des échantillons).

1.1.3. Transmission des résultats

Il a été demandé aux laboratoires participants de retourner leurs résultats dans un délai maximal de 4 semaines à compter de la réception des échantillons. La transmission des résultats s'est faite via un site internet dédié mis en place par l'Université de Louvain et a permis de récolter les informations suivantes :

- les comptes rendus d'analyses pour chaque échantillon ;
- Une copie scannée d'une lame HES pour chaque échantillon indiquant notamment la zone analysée pour l'estimation de la cellularité ;
- Un formulaire web a permis de recenser les informations suivantes :
 - Le pourcentage de cellules tumorales dans chaque échantillon ;
 - Les résultats du génotypage ;
 - La quantité d'ADN extraite (donnée facultative) ;
 - Des données complémentaires sur l'organisation des laboratoires participants (taille du laboratoire, organisation des laboratoires, détails sur les techniques utilisées).

1.1.4. Critères de notation des résultats de génotypage

La notation des résultats a été basée sur les recommandations publiées pour les évaluations de la qualité en biologie moléculaire⁴. Un score de 2 points a été attribué pour un bon résultat. Aucun point n'a été attribué en cas d'erreur de génotypage ou si une mutation avec un impact clinique était rendue comme bénigne. De même, aucun point n'a été attribué si un laboratoire isolé a rendu un résultat comme « non interprétable ». Un score de 1 point a été attribué si une erreur a été commise dans la nomenclature utilisée pour rapporter les mutations. La note finale pour chaque laboratoire correspond à la somme pour les 10 échantillons, soit une note/20.

1.2. Résultats

1.2.1. Résultat du génotypage dans le cancer du poumon

En 2012, 89 % des laboratoires, soit 40 laboratoires sur 45 ont obtenu le score maximum de 20/20. Aucun laboratoire n'a commis plus d'une erreur lors de cette campagne. En 2013, seulement 64 % des laboratoires (29/45) ont obtenu la note maximale. 6 laboratoires ont obtenu un score de 19/20 et 7 une note de 18/20. Par ailleurs, lors de cette campagne, 3 laboratoires (7 %) ont commis plus d'une erreur.

Le tableau 2 détaille les résultats obtenus pour chaque mutation évaluée dans les campagnes. Deux différences notables expliquent l'évolution des scores entre ces deux années :

⁴ Van kriecken et al, Ann Oncol (2013) ; 24(8):1958-63

- En 2012, les erreurs de nomenclature sur le rendu des délétions/insertions dans l'exon 19 d'EGFR n'étaient pas pénalisées. Ces erreurs ont concerné 7 laboratoires en 2013. Les conséquences de ces erreurs doivent être relativisées dans la mesure où elles n'ont pas de conséquences sur la prise en charge des patients.
- En 2013, deux échantillons contenant des mutations rares sur l'exon 18 d'EGFR ont été inclus dans l'évaluation. Ces mutations ne sont pas recherchées par tous les laboratoires, ce qui explique que 12 résultats faux négatifs aient été rendus sur ces échantillons.

D'une manière générale, en 2012 4 erreurs avec des conséquences cliniques ont été rapportées sur un total de 450 échantillons testés, soit un taux de 0,8 %. En 2013, les erreurs avec conséquence clinique ont concerné 15 résultats faux négatifs, sur un total de 449 échantillons, soit un taux d'erreur global de 3,3 %. La majorité de ces erreurs ont concerné les échantillons avec mutations dans l'exon 18 d'EGFR (12/18), mutations rares qui ne sont retrouvées que dans 0,4 % des cancers du poumon⁵.

Tableau 2. Résultats de génotypage d'EGFR dans le cancer du poumon						
	Campagne 2012 / 45 participants			Campagne 2013 / 45 participants		
	Nombre échantillon	Erreurs génotype	Erreurs nomencl.	Nombre échantillon	Erreurs génotype	Erreurs nomencl.
Non muté	5	1	0	4	1	0
Mut ex18	0	0	0	2	12	0
Mut ex19	4	1	/	2	0	8
Mut ex21	1	2	1	2	3	0

1.2.2. Résultat du génotypage dans le cancer colorectal

Lors de la campagne 2012, 47 laboratoires sur 50 ont obtenu la note maximale de 20/20, soit 94 % d'entre eux. Trois erreurs ont été observées pour un total de 500 analyses, soit un taux d'erreurs de 0,6 % (Tableau 3). Ces erreurs ont été effectuées par 2 laboratoires et sont réparties comme suit : 2 mutations mal caractérisées et un résultat rendu non contributif. En 2013, 42 laboratoires sur 49 (86 %) ont obtenu la note maximale. Parmi les 7 erreurs rapportées, 3 concernaient des erreurs de nomenclature et une mauvaise description de la mutation. Les mutations évaluées dans ces deux campagnes étaient toutes localisées sur les codons 12 et 13 du gène, qui étaient les seuls concernés par l'AMM des traitements anti-EGFR au moment de la réalisation de l'EEQ.

En 2012, 3 erreurs avec des conséquences cliniques ont été rapportées sur un total de 500 échantillons testés, soit un taux de 0,6 %. En 2013, les erreurs avec conséquence clinique ont concerné 2 résultats faux négatifs et 1 résultat rendu non contributif, sur un total de 490 échantillons, ce qui représente un taux d'erreur global de 0,6 %, équivalent à celui de 2012.

Tableau 3. Résultats de génotypage de KRAS dans le cancer du poumon						
	Campagne 2012 / 45 participants			Campagne 2013 / 45 participants		
	NOMBRE échantillon	Erreurs génotype	Erreurs nomencl.	NOMBRE échantillon	Erreurs génotype	Erreurs nomencl.
Non muté	3	0	0	6	0	0
muté	7	3	0	4	3	4

1.2.3. Comptes rendus d'analyses

Les comptes rendus ont été évalués selon les critères européens établis pour les évaluations externes de

⁵ Beau-Faller et al, Ann Oncol (2014) ; 25(1):126-31

la qualité⁶. Pour chaque critère retenu, un score de 1 point a été attribué si l'item était présent dans le compte rendu et un score nul a été attribué en cas d'absence. Le score final a été rapporté sur 100 points.

Le score global moyen pour les comptes rendus des tests *EGFR* est 71/100 en 2012 et de 74/100 en 2013. Des résultats comparables ont été observés pour les comptes rendus des tests *KRAS* avec un score moyen de 71/100 en 2012 et de 73/100 en 2013.

Lorsqu'on observe en détail les scores pour chaque critère, il apparaît que les données d'identifications sont presque toujours complètes, qu'il s'agisse des données relatives à l'identification du patient, du prescripteur ou de l'échantillon. De même, les résultats du génotypage ainsi que la cellularité des échantillons analysés sont presque toujours indiqués sur les comptes rendus.

L'un des principaux points d'amélioration des comptes rendus constaté lors de la première campagne concerne l'information sur la méthodologie utilisée : moins de la moitié des laboratoires indiquaient la sensibilité analytique de la méthode utilisée (40 % pour *EGFR*/42 % pour *KRAS* en 2012) et la liste des mutations recherchées n'était pas toujours précisée (53 % pour *EGFR*/66 % pour *KRAS* en 2012). Ce dernier point apparaît d'autant plus important que la liste des mutations avec un impact pour la prise en charge des patients évolue régulièrement. En 2013, on a pu observer une nette amélioration de ces deux critères puisque les informations sur la sensibilité de la méthode sont désormais présentes sur 60 % des Comptes rendus et la liste des mutations recherchées est mentionnée dans plus de 90 % des cas.

Le second point de vigilance est l'absence d'interprétation des résultats accompagnant les génotypes. Concernant les tests *EGFR*, l'interprétation du résultat n'est présente que dans 45 % des comptes rendus d'analyses ayant mis en évidence une mutation, et dans seulement 4 % des comptes rendus en cas de résultat négatif. De même, pour les tests *KRAS*, les résultats ne sont interprétés que par 38 % des laboratoires quand une mutation du gène est retrouvée et par 24 % des laboratoires si les résultats sont négatifs. Lors de la campagne 2013, une nette amélioration a été constatée sur les Comptes rendus ayant mis en évidence une mutation (68 % pour *EGFR*/54 % pour *KRAS*) mais l'interprétation des résultats reste rare en cas de résultat non muté (14 % pour *EGFR*/29 % pour *KRAS*).

2. CAMPAGNE DE CONTRÔLE QUALITÉ DANS LE MÉLANOME

En 2013, une première campagne d'évaluation externe de la qualité pour la recherche de mutations *BRAF V600* a été réalisée en avec le soutien de l'INCa. Celle-ci a été effectuée par l'association pour la recherche et l'enseignement en pathologie (AREP). La campagne d'EEQ a été placée sous la supervision d'un comité de pilotage constitué de 9 membres issus des plateformes de génétique moléculaire des cancers. Le contrôle qualité externe a pour objectif de tester l'ensemble du processus d'analyse de recherche de mutation *BRAF* dans le mélanome, depuis la réception de l'échantillon jusqu'à la réception du compte rendu par le correspondant.

2.1. Protocole

2.1.1. Préparation et validation des échantillons

Les campagnes d'EEQ ont été réalisées à partir de blocs d'échantillons tumoraux fixés en formol et inclus en paraffine. Les échantillons ont été fournis par le centre de ressources biologiques de l'hôpital Ambroise Paré (AP-HP). La validation biologique des blocs a été réalisée par le laboratoire de pathologie de l'hôpital Ambroise Paré et validé par deux laboratoires extérieurs (CHU de Nantes et Chu de Nice). Afin de garantir la mise en aveugle des échantillons la sélection et l'anonymisation des blocs a été effectuée par un laboratoire indépendant. Les blocs ont été coupés en lames de 4 µm d'épaisseur et des lots de 6 échantillons ont été constitués. Chaque laboratoire a ainsi reçu un lot de 6 échantillons contenant au moins 2 échantillons mutés et deux échantillons sans mutation.

⁶ Van Krieken JHJM *et al.* Virchows Arch. 2008 ; 4563:417-431

2.1.2. Anonymat des laboratoires participants

Afin de préserver l'anonymat des laboratoires, toutes les communications entre l'organisateur de l'EEQ et les laboratoires participants ont été effectuées par un intermédiaire indépendant (société Lincoln, spécialisée dans le data-management de données cliniques). Cet intermédiaire avait notamment la responsabilité d'anonymiser tous les échanges et les Comptes rendus d'analyse retournés par les laboratoires.

2.2. Résultats

2.2.1. Résultat du génotypage

Lors de cette première campagne, 46 laboratoires des plateformes de génétique moléculaire des cancers ont participé et le contrôle a porté sur un total de 276 échantillons. Parmi les 46 laboratoires ayant participé à l'EEQ, 40 ont obtenu 100 % de bonnes réponses. 3 laboratoires ont commis une erreur de génotypage tandis que deux laboratoires ont fait plus de deux erreurs.

D'une manière générale, 264 résultats sur 276 étaient corrects, soit un taux de 95,6 % de bonnes réponses. 12 erreurs ont été constatées, réparties comme suit :

- 8 résultats rendus non interprétables, soit 2,9 % des échantillons
- 4 résultats faux négatifs (1,5 %).

2.2.2. Comptes rendus d'analyses

L'évaluation des Comptes rendus d'analyses a montré que les données d'identifications sont presque toujours complètes, qu'il s'agisse des données relatives à l'identification du patient, du pathologiste ou de l'échantillon. De même, les résultats du génotypage ainsi que la cellularité des échantillons analysés sont presque toujours indiqués sur les comptes rendus.

L'un des principaux points négatifs concerne l'information sur la méthodologie utilisée : moins de la moitié des laboratoires décrivent correctement la méthode utilisée et la sensibilité analytique du test. Le second point négatif régulièrement constaté concerne l'absence d'interprétation des résultats accompagnant les génotypes. En effet, seuls 45 % des laboratoires participants renseignent la conclusion des analyses ainsi que leur interprétation clinique sur les Comptes rendus.

L'évaluation des Comptes rendus lors de cette campagne d'EEQ a mis en évidence les mêmes défauts que les campagnes pour les tests *EGFR* et *KRAS*.

LE PROGRAMME AcSé POUR UN ACCÈS SÉCURISÉ À DES THÉRAPIES CIBLÉES INNOVANTES

1. INTRODUCTION

1.1. Le programme AcSé

L'Institut national du cancer (INCa) a la volonté de repérer précocement les innovations thérapeutiques dans le champ du cancer, d'accompagner leur développement et d'accélérer leur mise à disposition pour les patients pouvant en bénéficier. Dans ce cadre, l'INCa, en accord avec l'ANSM, a souhaité soutenir la réalisation d'essais trans-organes en mettant en place le programme AcSé⁷. Le programme doit permettre à des patients en échec de thérapeutiques validées de pouvoir accéder de manière sécurisée à des thérapies innovantes ciblées.

Il concerne des médicaments qui ont eu récemment ou vont obtenir une AMM pour le traitement d'un cancer.

1.1.1. Objectif du programme

Le programme AcSé a trois objectifs principaux, qui sont :

- Proposer aux patients atteints de cancer en échec de thérapeutiques validées, d'accéder à un traitement basé sur une anomalie moléculaire de leur tumeur, dans le cadre sécurisé d'un essai thérapeutique ;
- étudier l'intérêt de ces molécules ciblées innovantes, en termes d'efficacité et de tolérance, chez des patients atteints de cancers de différents types cytologiques ou histologiques, présentant l'anomalie moléculaire ciblée, en l'absence d'AMM dans cette indication, d'essai clinique de développement, d'ATU de cohorte ou de RTU ;
- permettre une égalité d'accès des patients aux traitements innovants sur tout le territoire français, que ces patients soient pris en charge dans le secteur public ou privé.

Ainsi le programme doit permettre un accès sécurisé à un médicament innovant en dehors de ses indications validées pour tous les patients (enfants et adultes), ayant un cancer localement avancé ou métastatique. L'inclusion se fait après l'identification d'une altération moléculaire cible du médicament de l'essai détectée dans le cadre d'un diagnostic moléculaire. Ce diagnostic est réalisé par l'une des 28 plateformes de génétique moléculaire financées par l'INCa et la DGOS.

1.1.2. AcSé crizotinib

Le premier essai de ce programme concerne une thérapie ciblée : le crizotinib (Xalkori[®]). Après avoir été disponible dans le cadre d'une ATU, le crizotinib a obtenu une AMM en procédure centralisée le 23/10/2012 pour l'indication « [...] traitement des patients adultes ayant reçu au moins un traitement antérieur pour un cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) et anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positif et avancé ».

Le crizotinib est un inhibiteur de tyrosine kinase ayant pour cible la kinase *ALK*. Par ailleurs, en plus d'*ALK*, le crizotinib peut cibler les altérations *MET*, *RON*, *ROS1*. Celles-ci peuvent être retrouvées dans différents cancers. Ainsi AcSé crizotinib est un essai de phase II qui a débuté le 1^{er} juillet 2013 et qui doit permettre de traiter des patients présentant une des cibles du médicament. Une vingtaine de cohortes ont d'ores et déjà été identifiées. Il est prévu d'inclure environ 500 patients dans le cadre de cet essai clinique.

⁷ Pour plus d'informations, se référer à la charte d'engagement au développement de protocoles d'accès sécurisé à une thérapie ciblées innovante « AcSé ». Inca, 2013

L'essai est réalisé sous la promotion d'UNICANCER et bénéficie d'un cofinancement par la Fondation ARC pour la recherche sur le cancer et de l'INCa. Le crizotinib est développé par le laboratoire Pfizer qui s'est engagé à fournir et distribuer gratuitement le médicament pendant toute la durée de l'essai clinique.

D'autres essais du même type seront mis en place avec d'autres médicaments innovants dans le cadre de ce programme.

1.2. Le criblage moléculaire des tumeurs

Les essais cliniques AcSé reposant sur l'utilisation de thérapies ciblant des altérations moléculaires précises, il est nécessaire d'identifier au préalable les patients dont la tumeur exprime ces altérations. Fortes de leur expertise et de leur maillage territorial, les plateformes de génétique moléculaire des cancers ont été mobilisées pour répondre à ce besoin. Les plateformes bénéficient d'un financement spécifique de l'INCa pour la réalisation de ces analyses. En pratique, tout clinicien souhaitant inclure un patient dans le programme AcSé adresse une prescription de tests moléculaires à une plateforme selon un circuit similaire à celui utilisé pour les analyses de routine.

Dans le cadre de leur participation au programme AcSé, les plateformes de génétique moléculaire ont mis en place les tests pour la recherche des altérations suivantes :

- translocation d'*ALK* ;
- amplification d'*ALK* ;
- mutations d'*ALK* dans les exons 23 à 25 du gène ;
- amplification de *MET* ;
- mutations de *MET* dans les exons 14 et 16 à 19 du gène ;
- translocation de *ROS1* ;

La liste des tests réalisés pour chaque localisation tumorale a été définie sur la base des données épidémiologiques disponibles dans la littérature et en fonction des 20 cohortes ouvertes dans l'essai AcSé crizotinib (tableau 4).

Tableau 4. Détail des tests moléculaires réalisés pour chaque localisation tumorale						
Type de cancer	Transloc <i>ALK</i>	Amp <i>ALK</i>	Amp <i>MET</i>	Transloc <i>ROS</i>	Mut <i>ALK</i>	Mut <i>MET</i>
Cancer colorectal	x		x			x
CBNPC	AMM	x	x	x		
Cancer du sein	x	x				
Cholangiocarcinome				x		
Cancer de l'ovaire			x			
Cancer du rein	x	x				x
Cancer du foie			x			x*
Cancer de la thyroïde	x				x	x
Glioblastome			x			
Neuroblastome		x			x	
Cancer gastrique			x			
Tumeur myofibroblastique inflammatoire (TMI)	x					
Rhabdomyosarcome		x				
Lymphomes anaplasiques à grandes cellules	x					

* seulement pour les cancers du foie pédiatriques

2. SUIVI ET BILAN D'ÉTAPE DU PROGRAMME DE CRIBLAGE MOLÉCULAIRE

La réalisation d'un grand nombre de tests dans tous types de tumeurs offre une opportunité unique de réaliser une étude observationnelle à grande échelle sur la fréquence des différentes altérations moléculaires considérées dans le programme AcSé. À cet effet, depuis le début du programme, l'INCa collecte de façon systématique les résultats anonymisés des analyses réalisées dans le cadre de ce programme.

Les résultats présentés dans ce document correspondent aux résultats d'analyses enregistrés dans la base de données gérée par l'INCa entre le 1^{er} juillet 2013 et le 1^{er} juillet 2014.

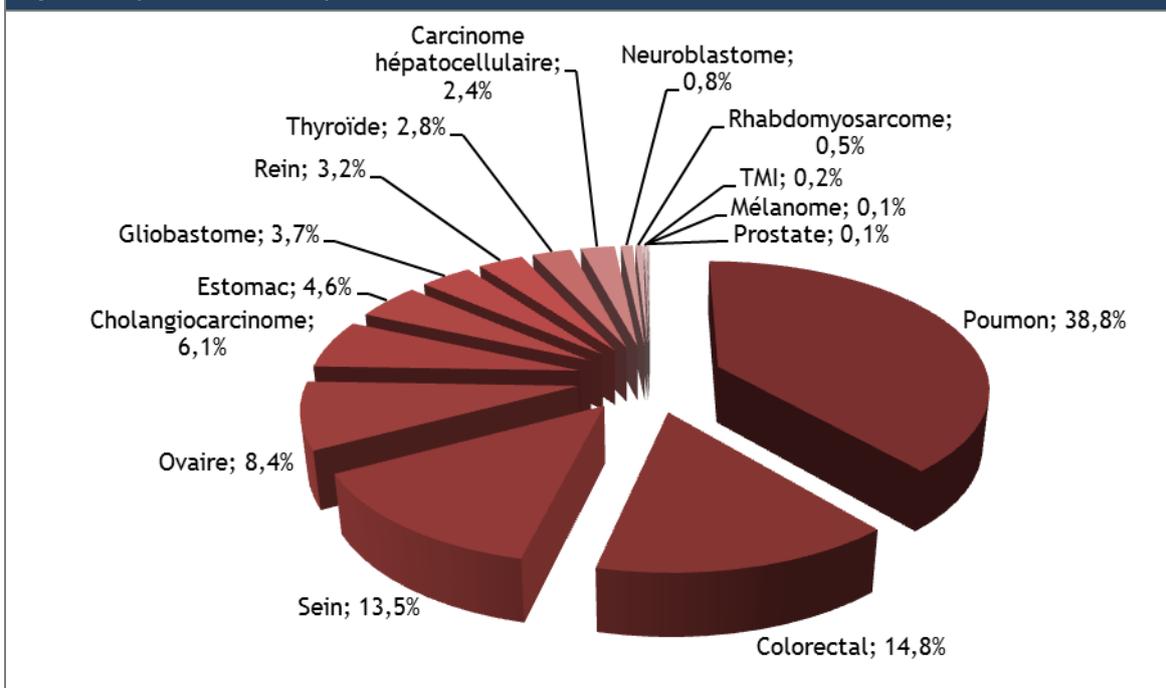
En 1 an, 2 304 patients ont bénéficié d'une analyse de leur tumeur dans le cadre du programme AcSé (Figure 4). À partir de l'ouverture de l'essai clinique AcSé crizotinib, une montée en charge progressive de l'activité a été observée dans les plateformes entre juillet 2013 et janvier 2014, pour atteindre un rythme d'environ 300 patients testés par mois. L'évolution d'activité observée en 2013 s'est faite en parallèle de l'ouverture des centres investigateurs pouvant inclure des patients : ce nombre est passé de 5 centres ouverts en juillet 2013 à 126 sites ouverts en juin 2014.

Figure 4. Évolution du nombre de patients inclus dans la base de données



La majorité des prescriptions de tests concerne des patients avec un cancer du poumon non à petites cellules (38,9% des tests, Figure 5). Les autres tumeurs ayant fait l'objet d'un grand nombre de prescription sont les cancers colorectaux, les cancers du sein et les cancers de l'ovaire. L'activité apparaît également relativement importante dans les cholangiocarcinomes (142 patients testés) et les cancers de l'estomac (107 tests) compte tenu de l'incidence plus faible de ces tumeurs. À l'inverse, la faible activité rapportée pour les cancers du foie peut s'expliquer par les critères d'exclusion de l'essai clinique qui ne permettent pas d'inclure les patients avec une hépatite virale ou une infection par le VIH.

Figure 5. Répartition des tests par localisation tumorale



La répartition régionale des prescriptions montre de fortes disparités entre régions (Figure 6). Le nombre de patients testés varie ainsi entre 6 et 444 patients selon les régions montrant ainsi une implication variable des cliniciens. Il faut toutefois noter que dans certaines régions des programmes d'analyse pangénomiques des tumeurs se déroulent en parallèle. Ceci concerne particulièrement les régions Île-de-France (essais SHIVA et MOSCATO) et Rhône-Alpes (programme PROFILER). Le principe du programme AcSé étant de laisser la priorité aux autres essais cliniques afin de ne pas faire de concurrence à des essais académiques ou industriels, les patients éligibles doivent être orientés prioritairement vers ces essais.

Parmi les 2 304 patients ayant bénéficié d'une analyse de leur tumeur, une altération moléculaire a été retrouvée pour 129 d'entre eux, soit 5,6. Ces 129 patients peuvent potentiellement être inclus dans l'essai clinique AcSé. À titre de comparaison, dans la même période, 57 patients ont effectivement été inclus dans l'essai clinique. L'écart entre le nombre de patients avec une altération et le nombre d'inclusions peut s'expliquer en partie pour les raisons suivantes :

- des patients ne valident pas tous les critères d'inclusion dans l'essai. Cela peut notamment être dû à la présence de métastases cérébrales qui était un critère non-inclusion de l'essai avant amendement en juillet 2014 ;
- des patients dont l'état général s'est fortement dégradé entre la prescription du test et le retour du résultat ;
- Des patients orientés vers d'autres essais cliniques ou d'autres stratégies thérapeutiques.

Ces premières données, un an après le lancement du programme, démontrent l'intérêt porté cette approche et confortent l'objectif de l'INCa de poursuivre et développer ce type d'essais cliniques à l'avenir.

Figure 6. Répartition des tests réalisés par région

Nombre de tests pour 100 000 habitants (nombre total de patients testés)

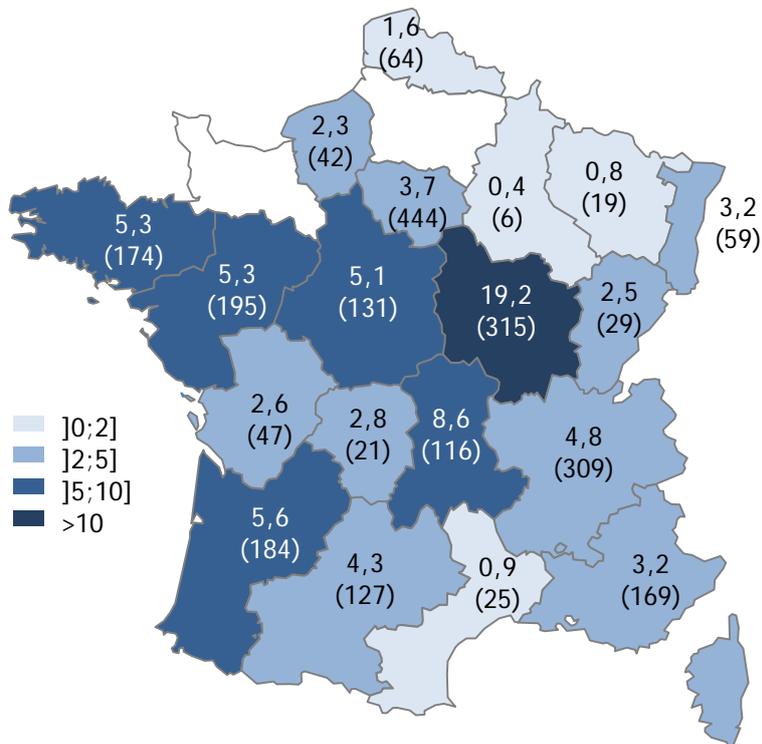


TABLEAU DE BORD DE L'ACTIVITÉ DES PLATEFORMES

1. MÉTHODE

Chaque année, l'INCa établit un formulaire afin de recenser, pour chaque test et chaque localisation tumorale, les données suivantes :

- le nombre total de tests réalisés ;
- le nombre de patients pour qui un test a été effectué ;
- l'origine des prescriptions pour ces patients, en distinguant les prescriptions provenant des établissements des plateformes, des centres hospitaliers hors plateformes, des établissements privés et celles provenant d'autres plateformes ;
- le nombre de patients pour lesquels une altération moléculaire a été identifiée, le nombre de patients ne présentant aucune altération et le nombre de patients pour lesquels le résultat du test n'était pas interprétable.

Ce formulaire est complété et transmis à l'INCa par les 28 plateformes une fois par an.

L'INCa rassemble les données transmises par les plateformes et calcule des indicateurs qui permettent d'assurer un suivi de l'activité au niveau national notamment de :

- l'évolution du nombre annuel d'examens effectués et du nombre de patients concernés ;
- le pourcentage global de patients pour qui une anomalie moléculaire a été mise en évidence. Cet indicateur permet d'estimer le respect des indications de prescriptions. Le suivi de son évolution permet de mettre en évidence d'éventuels élargissements ou restrictions de prescriptions ;
- le pourcentage de patients pour qui un résultat n'a pu être rendu et la répartition de ces données par laboratoire. Ils constituent des indicateurs de la qualité des phases pré-analytiques et analytiques de l'examen ;
- l'origine des prescriptions. L'activité provenant des CH et des établissements privés extérieurs permet de suivre le maillage régional de la plateforme. Le dernier item permet de suivre l'activité de recours que des plateformes effectuent à un niveau extrarégional pour certains marqueurs.

2. LISTE DES TESTS DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRES RÉALISÉS PAR LES PLATEFORMES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DES CANCERS

Tableau 5. Liste des tests réalisés par les plateformes

Marqueurs prédictifs déterminant l'accès à une thérapie ciblée		
Cancer du sein	Amplification de <i>HER2</i>	Prescription du trastuzumab dans le cancer du sein métastatique et en adjuvant dans le cancer du sein précoce Prescription du pertuzumab en association avec trastuzumab et docetaxel dans le cancer du sein métastatique Prescription du lapatinib dans le cancer du sein métastatique
Cancer gastrique	Amplification de <i>HER2</i>	Prescription du trastuzumab dans le cancer gastrique métastatique
Cancer colorectal métastatique	Mutations de <i>KRAS</i>	Prescription du panitumumab et du cetuximab
	Mutations de <i>NRAS</i>	
	Mutations de <i>BRAF</i>	
GIST (Gastro-Intestinal Stromal Tumor)	Mutation de <i>KIT</i>	Prescription d'imatinib
	Mutation de <i>PDGFRA</i>	Prescription d'imatinib
Cancer du poumon	Mutations d' <i>EGFR</i>	Prescription du gefitinib, d'erlotinib ou d'afatinib
	Translocations d' <i>ALK</i>	Prescription de crizotinib
	Mutations de <i>KRAS</i>	
	Mutations de <i>BRAF</i>	
	Mutations de <i>PI3KCA</i>	
	Mutations de <i>HER2</i>	
Mélanome	Mutations de <i>BRAF</i>	Prescription de vemurafenib ou de dabrafenib
	Mutations de <i>KIT*</i>	
Glioblastome	Méthylation de <i>MGMT</i>	Sensibilité au temozolomide
Leucémie myéloïde chronique (LMC) / Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)	Translocation de <i>BCR-ABL</i> au diagnostic	Prescription d'imatinib ou de nilotinib en 1 ^{re} ligne de traitement.
	Détection de <i>BCR-ABL</i> pour le suivi de la maladie résiduelle	Résistance à l'imatinib/prescription de dasatinib, de bosutinib ou de ponatinib en 2 ^e ou 3 ^e ligne.
	Mutation d' <i>ABL</i>	
Marqueurs orientant le processus diagnostique		
Suspicion de syndrome myéloprolifératif	Mutation <i>JAK2 V617F</i>	Diagnostic différentiel
	Quantification <i>JAK2</i>	
Syndrome de Lynch	Instabilité des microsatellites	Suspicion de forme héréditaire de cancer
	Méthylation du promoteur de <i>MLH1</i>	
	Mutation de <i>BRAF</i>	

Suite tableau >>

Marqueurs participant au diagnostic, en complémentarité de paramètres cliniques, morphologiques, biologiques		
Hémopathies	Caryotype	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
Lymphomes non hodgkiniens	Anomalies chromosomiques spécifiques	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
	Quantification cycline D1	
Sarcomes	Amplification de <i>MDM2/CDK4</i>	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
	Translocations diverses	
Gliomes	Codélétion <i>1p/19q</i>	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
	Mutations <i>IDH 1 et 2</i>	
Lymphomes non hodgkiniens	Clonalité B/T	diagnostic lymphome/ lymphoprolifération réactionnelle
Marqueurs pronostiques participant à l'orientation du traitement du patient		
Leucémie lymphoïde chronique (LLC)	Anomalies chromosomiques	Participe à l'orientation du traitement
	Mutation <i>IgVH</i>	
	Mutation TP53	
Myélome multiple	Anomalies chromosomiques	Participe à l'orientation du traitement
Leucémies aiguës myéloblastiques (LAM)	Mutations de <i>FLT3, NPM</i> et <i>CEBPA</i>	Participe à l'orientation du traitement
Neuroblastome	amplification de <i>MYCN</i>	Participe à l'orientation du traitement
Marqueurs de suivi		
LAL/LAM	Quantification de transcrits de fusion	Suivi de la maladie
	Quantification d'anomalies chromosomiques	
	Quantification <i>WT1</i>	
LAL	Quantification du réarrangement des gènes du TCR ou des Ig	Suivi de la maladie résiduelle
	Clonalité B/T	
Allogreffe de moelle pour les hémopathies	Chimérisme postgreffe	Suivi de la prise de greffe et du rejet

3. CANCER DU SEIN

Environ 15 % des cancers du sein s'accompagnent d'une surexpression de *HER2* qui est associée à un pronostic plus défavorable.

Le trastuzumab est un anticorps qui cible le récepteur *HER2*. Cette molécule, développée pour le traitement du cancer du sein métastatique, est aussi efficace dans la prévention des rechutes de ce type de cancer. Seules les patientes qui surexpriment *HER2* ou présentent une augmentation du nombre de copies du gène (score 3 + en immunohistochimie (IHC) ou FISH/CISH positifs) sont susceptibles de bénéficier d'un traitement par trastuzumab. L'amplification de *HER2* est mise en évidence par immunohistochimie en première intention. En cas de tumeur présentant un score 2 + en IHC, une recherche complémentaire de l'amplification du gène par FISH (fluorescence *in situ* hybridization) ou CISH (Chromogenic *in situ* hybridization) est nécessaire pour savoir si la patiente est éligible à un traitement par trastuzumab^{8,9}. Les modalités de réalisation de ces examens peuvent être amenées à évoluer à l'avenir. Ainsi, en 2013, plusieurs experts se sont exprimés pour généraliser le réexamen du statut *HER2* et du statut des récepteurs hormonaux dans les métastases au moment où elles sont identifiées, ou quand le statut de la tumeur primitive est inconnu ou négatif¹⁰.

Depuis février 2010, le lapatinib, un médicament oral de la famille des anti-EGFR qui inhibe la tyrosine kinase activée par *HER2*, dispose également d'une autorisation de mise sur le marché pour le traitement en première ligne de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique et surexprimant *HER2*. Depuis le recueil de ces données d'activité, le pertuzumab a également obtenu une AMM (juin 2013) tandis que le T-DM1 (anticorps anti-*HER2* couplé à un agent cytotoxique) a reçu un avis favorable de l'Agence Européenne du Médicament en septembre 2013.

❖ Activité au niveau national

En 2013, 8 924 patientes ont bénéficié d'une recherche d'amplification de *HER2* par, soit un niveau comparable à 2012. Le test HIS (*in situ* hybridization) *HER2* pour le cancer du sein a été inscrit à la nomenclature des actes médicaux en 2009 et est donc réalisable par l'ensemble des pathologistes, quel que soit leur lieu d'exercice. Ainsi, environ 2 500 tests ont été réalisés dans les cabinets d'anatomie et cytologie pathologique libéraux selon les données de la CNAMTS. Les données présentées ici ne montrent toutefois que l'activité pour les tests de confirmation par FISH et les tests par IHC n'ayant pas nécessité de confirmation ne sont pas comptabilisés. On dénombre chaque année environ 49 000 nouveaux cas de cancers du sein en France. La part des IHC avec un score 2 + étant estimée entre 10 % et 20 % des examens, il semble que l'on ait une couverture complète du territoire pour ce test.

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Amplification <i>HER2</i>	8 924	19,0 %	2,3 %

⁸ Rüschoff et al. *Virchows Arch* (2010) ; 457(3):299-307

⁹ Penault-Llorca et al. *Ann Pathol* (2010) ; 30(5):357-73

¹⁰ Penault-Llorca et al. *Breat* (2013) ; 22(2):200-2

Figure 7. Évolution de l'activité

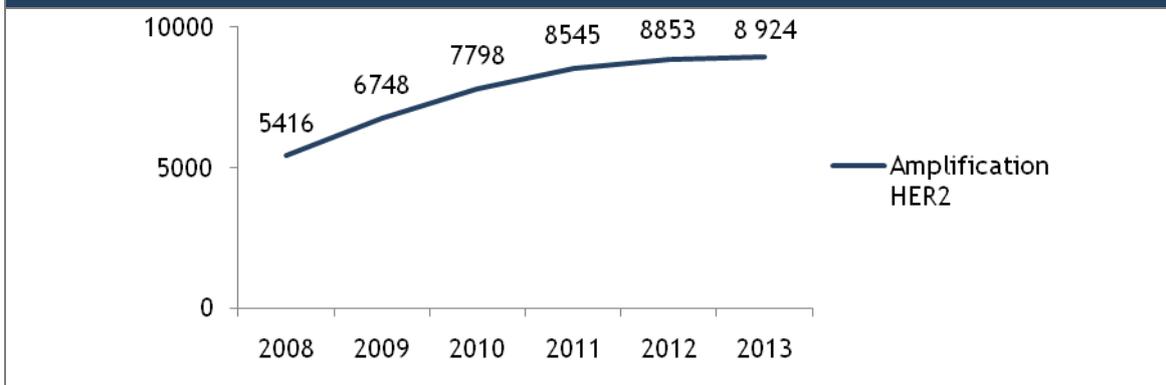
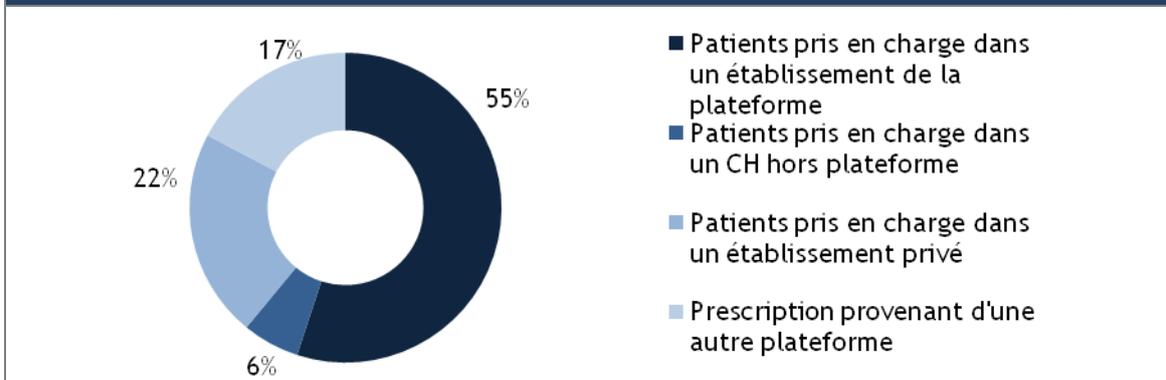


Figure 8. Origine des prescriptions pour le test HER2



4. CANCER DE L'ESTOMAC

Le trastuzumab a reçu en décembre 2009 une extension de son AMM pour le traitement des patients atteints de cancer gastrique métastatique et dont la tumeur surexprime *HER2*. L'amplification de *HER2* est mise en évidence par immunohistochimie en première intention. En cas de tumeur présentant un score 2 + en IHC, une recherche complémentaire de l'amplification du gène par FISH (fluorescence *in situ* hybridization) ou CISH (Chromogenic *in situ* hybridization) est recommandée pour savoir si le patient est éligible à un traitement par trastuzumab¹¹.

❖ Activité au niveau national

L'activité pour la recherche d'amplification de *HER2* dans le cancer de l'estomac augmente régulièrement depuis 2009. Ainsi 709 patients ont bénéficié de ce test en 2013. En France, le nombre de cancers de l'estomac passant au stade métastatique est évalué à 4 400 par an pour une incidence de 6 500 cas. Compte tenu du taux de résultats d'IHC avec un score 2 + (de l'ordre de 10 % à 20 %), il apparaît que ce test est désormais accessible pour la plupart des patients pouvant en bénéficier.

Tableau 7. Activité 2013 dans le cancer de l'estomac

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Amplification <i>HER2</i>	709	28,7 %	1,9 %

Figure 9. Évolution de l'activité

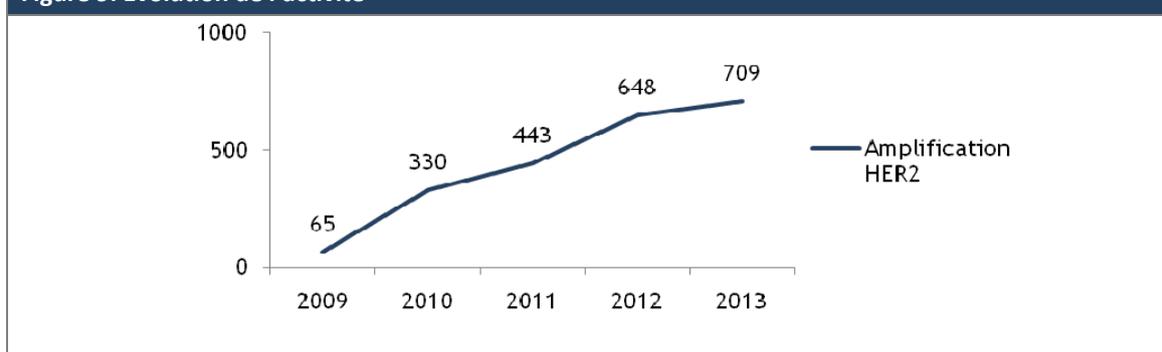
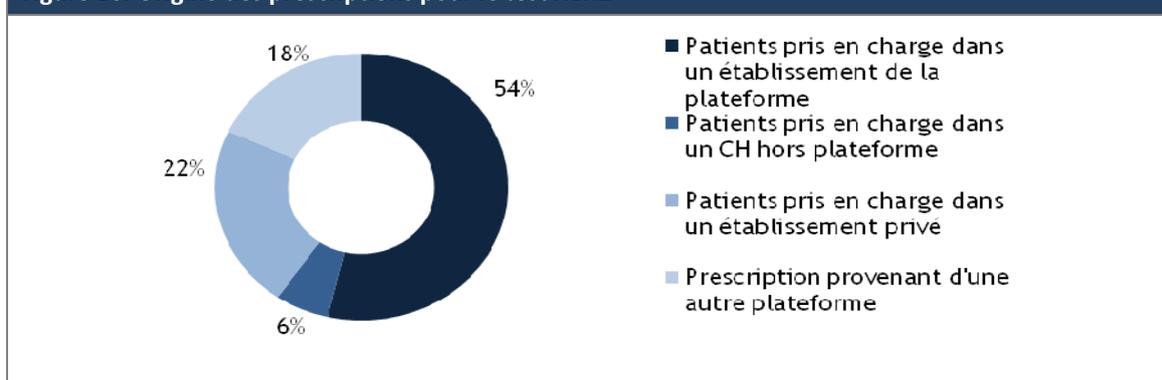


Figure 10. Origine des prescriptions pour le test *HER2*



¹¹ Rüschoff et al, Mod Pathol (2012) ; 25(5) :637-50

5. CANCER COLORECTAL

Alors que le développement des anticorps monoclonaux antirécepteurs à l'EGF (EGFR) a constitué une avancée importante dans la prise en charge des patients atteints de cancer colorectal métastatique, plusieurs études ont montré que seuls les patients dont la tumeur ne présentait pas de mutation du gène *KRAS* étaient susceptibles de bénéficier de ce traitement. Dans ce contexte, l'Agence européenne du médicament (EMA) a autorisé l'utilisation du cetuximab et du panitumumab uniquement pour les patients dont la tumeur porte la forme non mutée du gène *KRAS*. En 2013, les AMM du panitumumab et du cetuximab ont été modifiées suite aux résultats d'études cliniques¹² montrant que les patients porteurs d'une mutation sur l'exon 4 de *KRAS* ou sur les exons 2, 3 et 4 de *NRAS* présentent également une résistance au traitement. La recherche des mutations de ces gènes doit donc être élargie à ces nouveaux cas.

Par ailleurs, Le syndrome de Lynch (aussi appelé syndrome HNPCC pour Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) se caractérise par l'altération constitutionnelle d'un des gènes MMR (mismatch repair) et prédispose à un risque accru de cancer colorectal et de cancers touchant d'autres organes : l'endomètre, l'intestin grêle et l'urothélium principalement. Les tumeurs développées dans ce cadre étant quasiment toujours de type MSI (MicroSatellite Instability), la recherche de ce phénotype tumoral est une étape importante dans l'identification des patients candidats à une étude constitutionnelle des gènes permettant l'identification des familles à haut risque de cancer. En pratique, il est recommandé de réaliser ce précriblage somatique pour tous les patients atteints d'un cancer du spectre large avant 60 ans et de proposer aux patients ayant un statut MSI une consultation d'oncogénétique pour une recherche de mutation constitutionnelle¹³.

Certains cancers sporadiques présentent également une instabilité des microsatellites : celle-ci n'est pas due à une mutation d'un gène MMR, contrairement à ce qui est observé dans les formes constitutionnelles, mais à une méthylation du promoteur du gène *MLH1*. Cette forme moléculaire de cancer colorectal est fréquemment associée à une mutation du gène *BRAF*. Il est donc possible de réaliser de façon complémentaire au test MSI, une recherche de méthylation du gène *MLH1* et une recherche de mutation de *BRAF* : les patients MSI avec absence de mutation *BRAF* et de méthylation du gène *MLH1* sont les plus susceptibles de présenter une mutation constitutive des gènes *MMR*.

❖ Activité au niveau national

En 2013, la recherche de mutations de l'exon 2 de *KRAS* a été effectuée pour 19 347 patients. Le nombre de tests réalisé s'est stabilisé depuis 2009. Compte tenu de l'incidence des cancers colorectaux en France (42 000 nouveaux cas en 2012) et de la proportion de patients au stade métastatique pour ce type de tumeurs (entre 40 et 60 %), il apparaît que la plus grande part des patients susceptibles de bénéficier d'un traitement au cetuximab ou au panitumumab a effectivement bénéficié d'une recherche de mutations de *KRAS* en 2013. Par ailleurs, le panel de mutations à rechercher en vue d'une prescription d'un traitement par anti-EGFR a été élargi en cours d'année suite aux modifications d'AMM. En conséquence, la recherche de mutations de *NRAS* et l'élargissement aux exons 3 et 4 de *KRAS* ont été mis en place progressivement par les laboratoires et 3 330 patients ont bénéficié de ces tests en 2013. Ces tests vont désormais devoir être réalisés pour tous les patients ayant bénéficié d'un test *KRAS*.

En 2013, 16 275 patients atteints d'un cancer colorectal ont également bénéficié d'une recherche de mutation de *BRAF*. L'évolution de l'activité montre une augmentation rapide du nombre de tests *BRAF* réalisés suite à la mise en place du programme Biomarqueurs Émergents début 2011. En 2013, 84 % des patients ayant bénéficié d'un test *KRAS* ont également eu accès au test *BRAF*, montrant que ce test est désormais réalisé en routine.

¹² Douillard et al. NEJM, 2013 ; 369(11) :1023-34

¹³ Olschwang et al. Bull Cancer 2004 ; 91(4) :303-15

Par ailleurs, 10 138 patients ont bénéficié d'un test MSI en 2013 contre 9 528 en 2012, soit une hausse de 6 % (Fig. 18). Le nombre de tests réalisés augmente de façon régulière depuis 2008. Dans le même temps, le recours au test MLH1 suit la même tendance, avec 453 tests réalisés en 2013. La proportion de patients présentant une méthylation de ce gène est de 60,1 %. Le cancer de ces patients n'est donc pas d'origine héréditaire. Le pourcentage de patients présentant une hyperméthylation de ce gène augmente régulièrement depuis plusieurs années et peut notamment s'expliquer par un élargissement des prescriptions à des patients plus âgés davantage susceptibles de présenter cette altération.

Tableau 8. Activité 2013 dans le cancer colorectal

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Mutations <i>KRAS</i>	19 347	39,2 %	5,7 %
Mutations <i>NRAS</i>	3 330	7,4 %	3,5 %
Mutations <i>BRAF</i>	16 275	10,1 %	5,3 %
Test MSI	10 138	14,0 %	5,5 %
Méthylation de <i>MLH1</i>	453	60,1 %	6,4 %

Figure 11. Évolution de l'activité

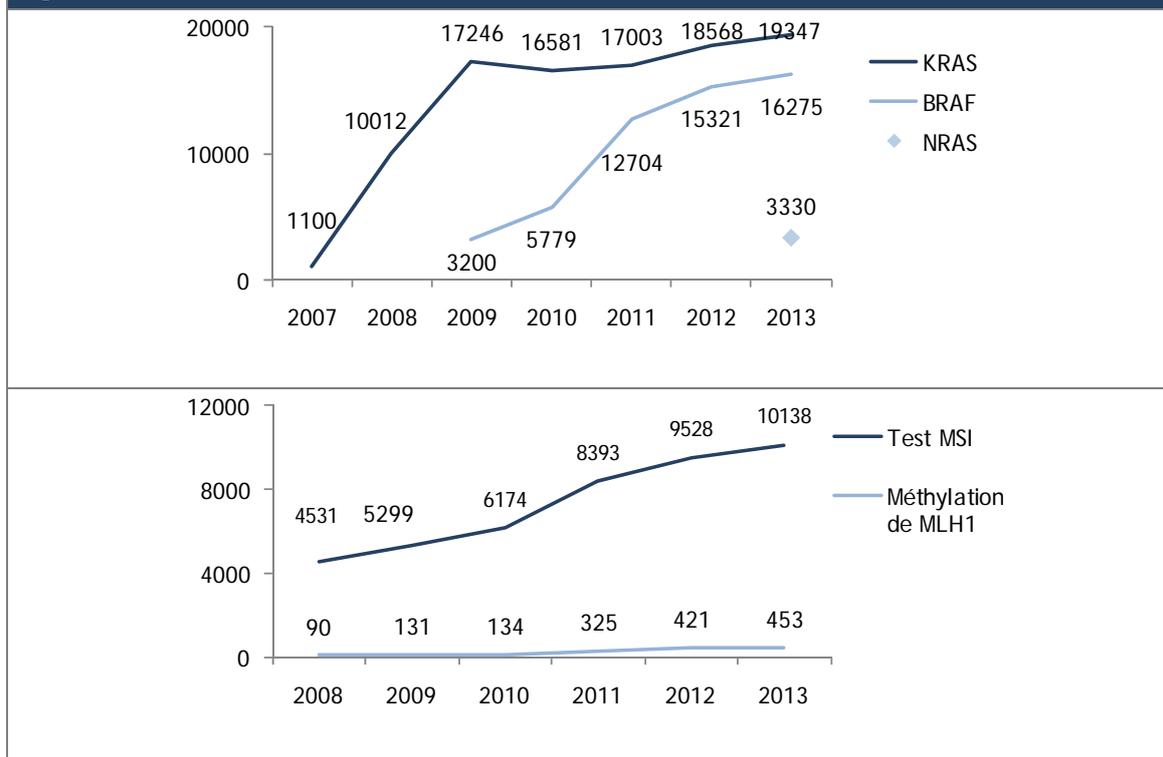
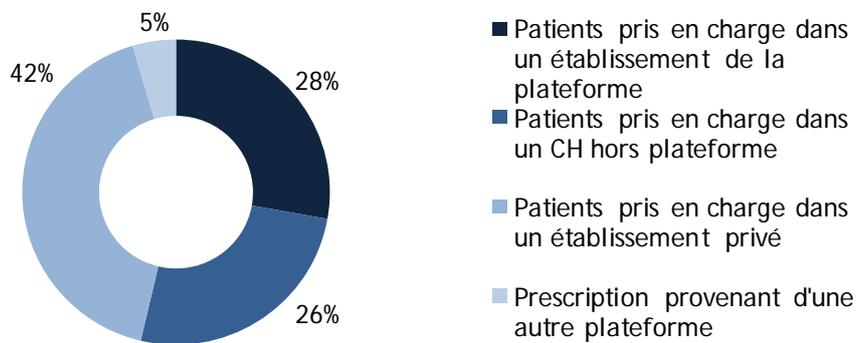


Figure 12. Origine des prescriptions pour le test RAS



6. TUMEURS GASTRO-INTESTINALES (GIST)

Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST pour Gastro-Intestinal Stromal Tumor) sont des tumeurs conjonctives du tube digestif. Elles se développent principalement à partir de l'estomac (60 à 70 %) et de l'intestin grêle (20 à 30 %) et sont le plus souvent associées à une mutation du gène *KIT* ou du gène *PDGFRA*. On dénombre environ 650 nouveaux cas de GIST par an en France¹⁴.

Les mutations ou courtes délétions du gène *KIT*, observées dans 50 à 90 % des GIST, sont responsables d'une activation spontanée de *KIT*. Ces mutations sont le plus souvent situées dans l'exon 11, plus rarement dans l'exon 9 et exceptionnellement dans les exons 13, 17, 14 et 15. La mutation de *PDGFRA*, plus rare, est généralement observée dans les tumeurs portant un gène *KIT* normal. La mutation simultanée des deux gènes n'a jamais été trouvée.

Le diagnostic de GIST est d'abord effectué par l'histologie et la détection de l'expression de *KIT* par IHC. Une recherche de mutation de *KIT* et de *PDGFRA* peut être nécessaire à la confirmation diagnostique dans les cas difficiles.

L'imatinib, qui est un inhibiteur de *KIT*, a révolutionné le pronostic des GIST localement avancés inopérables et/ou métastatiques : 30 % de patients en vie à un an avant l'introduction de l'imatinib et environ 90 % après. La réponse antitumorale à l'imatinib semble être corrélée à la nature et à la présence de ces mutations. Cette réponse est meilleure en cas de mutation de l'exon 11 et moins bonne en cas de mutation de l'exon 9 ou d'absence de mutation. À l'inverse, la mutation D842V de l'exon 18 de *PDGFRA* est considérée comme conférant une résistance primaire à l'imatinib. Enfin, la présence de mutations de l'exon 9 de *KIT* est une indication à doubler la dose de l'imatinib. La recherche de ces altérations permet donc aujourd'hui d'optimiser la prise en charge des patients atteints de GIST.

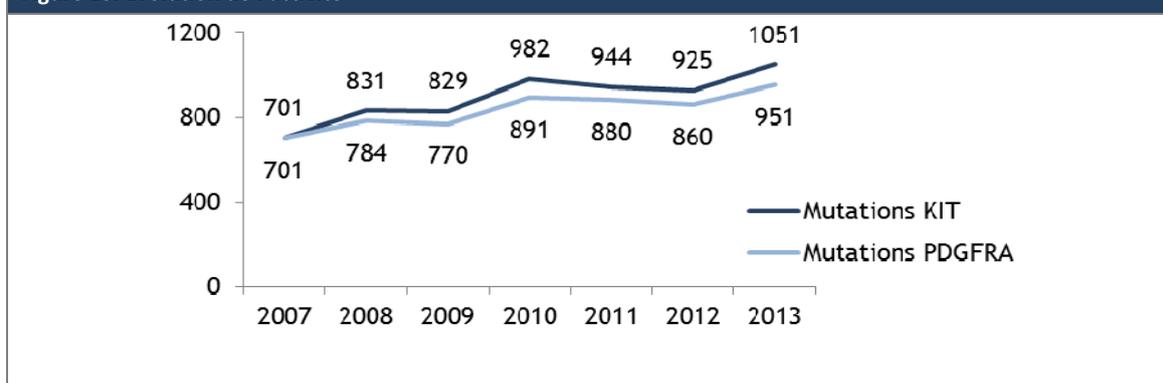
❖ Activité au niveau national

La recherche de mutations de *KIT* a été effectuée pour 1 105 patients en 2013 et la recherche de mutations de *PDGFRA* pour 1 005 patients.

Tableau 9. Activité 2013 dans les GIST

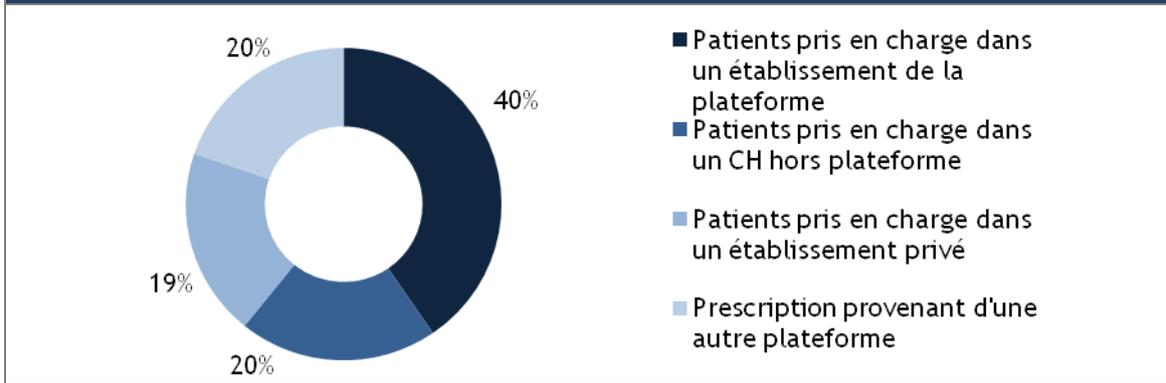
Marqueur	NOMBRE de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Mutations <i>KIT</i>	1 051	57,8 %	5,3 %
Mutations <i>PDGFRA</i>	951	12,1 %	4,9 %

Figure 13. Évolution de l'activité



¹⁴ Monges *et al*, Bulletin du Cancer. (2010) ; 97(3) :10016-22

Figure 14. Origine des prescriptions pour le test *KIT*



7. MÉLANOME

La protéine B-RAF est une protéine kinase de la famille RAF qui régule les protéines MAPK et ERK et joue un rôle dans les processus de division et de différenciation cellulaire. Elle est notamment située en aval des voies de signalisation du récepteur à l'EGF.

L'essai clinique de phase III (BRIM3) a montré que le vemurafenib, un inhibiteur de BRAF, réduit significativement le risque de décès et la progression de la maladie de personnes atteintes d'un mélanome métastatique et dont la tumeur est porteuse d'une mutation *BRAF* V600¹⁵. Le vemurafenib dispose d'une AMM pour les patients dont la tumeur porte une mutation du codon V600 de *BRAF* depuis 2012. Le dabrafenib dispose également d'une AMM pour le traitement des mélanomes avec mutation V600 de *BRAF* depuis le mois d'août 2013.

La protéine KIT, ou CD117, est un récepteur à activité tyrosine kinase dont l'activation stimule la prolifération, la migration et la différenciation cellulaire. Plusieurs études tendent à indiquer qu'une mutation activatrice de *KIT* prédit la réponse clinique à des bloqueurs de l'activité kinase de la protéine KIT. Ainsi, des essais cliniques de phase II et III sont en cours pour évaluer l'intérêt thérapeutique de l'utilisation d'inhibiteurs de KIT (Nilotinib, Imatinib, Sunitinib) pour le traitement de mélanomes métastatiques¹⁶.

❖ Activité au niveau national

En 2013, 5 026 patients ont bénéficié d'un test *BRAF*, soit 8,5 % de plus qu'en 2012. L'incidence du mélanome de la peau est estimée en 2012 à 11 176 nouveaux cas par an. Le nombre de nouveaux patients par an atteints d'un mélanome non résecable ou métastatique est estimé à environ 2 300 patients¹⁷. Le nombre de patients bénéficiant d'un test est supérieur à celui attendu, suggérant que plusieurs examens peuvent être réalisés pour un même patient au cours de sa prise en charge.

En 2013, 2 737 patients ont également bénéficié d'une recherche de mutation de *KIT*. Le nombre de tests *KIT* s'est stabilisé depuis 2012. L'activité pour ce test est plus faible que pour la recherche de mutations de *BRAF* mais il faut noter que plusieurs laboratoires ne réalisent le test *KIT* que pour les patients avec un mélanome acral ou mucosal ou pour les patients ne présentant pas de mutations de *BRAF*.

Marqueur	NOMBRE de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Mutations <i>BRAF</i>	5 026	37,5 %	4,8 %
Mutations <i>KIT</i>	2 734	5,2 %	10,9 %
Mutations <i>NRAS</i>	981	25,6 %	3,6 %

¹⁵ Chapman et al, ASCO Meeting abstracts 2011 :LB4

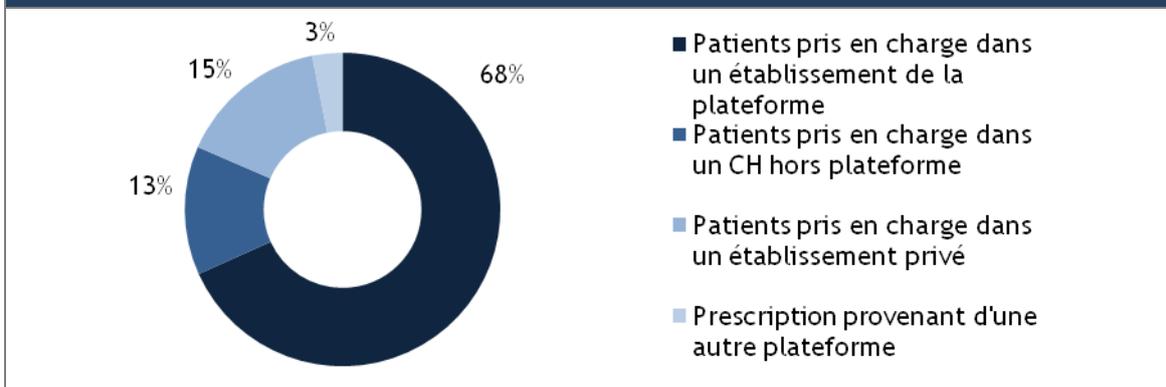
¹⁶ NCT01099514, NCT01782508, NCT01280565

¹⁷ HAS - Avis du 03 octobre 2012 de la commission de transparence du Zelboraf

Figure 15. Évolution de l'activité



Figure 16. Origine des prescriptions pour le test BRAF



8. CANCER DU POUMON

Les cancers du poumon non à petites cellules sont de mauvais pronostic (20 % de survie à 5 ans) et représentent aujourd'hui la première cause de mortalité par cancer chez l'homme.

Les données de la littérature font clairement un lien entre l'existence d'une altération du gène *EGFR* et l'efficacité des traitements ciblés anti-EGFR (gefitinib, erlotinib)¹⁸. En avril 2009, l'EMA a donné une autorisation de mise sur le marché pour le gefitinib réservée aux patients atteints d'une forme avancée ou métastatique et dont la tumeur porte une mutation activatrice de l'*EGFR*. Depuis 2011, l'erlotinib bénéficie également d'une AMM européenne pour le traitement en monothérapie des patients porteurs d'une mutation activatrice de l'*EGFR*. En juillet 2013, l'afatinib a également reçu un avis favorable de l'EMA pour le traitement des patients avec une mutation activatrice d'*EGFR*.

Les mutations sont retrouvées dans les exons 18 à 21, codant pour le domaine kinase du récepteur : les plus fréquentes sont des délétions au sein de l'exon 19 et une mutation ponctuelle au sein de l'exon 21 (L858R). Ces mutations sont plus fréquemment retrouvées chez les patients atteints d'un adénocarcinome, chez les femmes, chez les personnes d'origine asiatique et chez les non-fumeurs. Cependant, la fréquence des mutations n'est jamais suffisamment élevée pour que les facteurs cliniques puissent prédire à eux seuls la présence d'une mutation activatrice de l'*EGFR* et se substituer à la détermination du statut *EGFR*. Aussi, l'INCa recommande de réaliser le test *EGFR* pour tout patient ayant un carcinome du poumon non à petites cellules non épidermoïde et présentant une tumeur localement avancée ou métastatique¹⁹.

Par ailleurs, un remaniement du gène *ALK* est observé dans 3 à 5 % des tumeurs. L'altération la plus fréquente est une inversion du bras court du chromosome 2 aboutissant à la formation du gène de fusion *EML4-ALK*, mais d'autres translocations sont possibles. Le plus souvent, les remaniements d'*ALK* aboutissent à une activation constitutive de la protéine et des voies de signalisation en aval contrôlant la prolifération et la survie cellulaire²⁰. Lors d'un essai clinique de phase I, le crizotinib, un inhibiteur d'*ALK*, a démontré son efficacité pour le traitement en seconde ligne des patients dont la tumeur porte une translocation d'*ALK*. Suite à ces résultats, le crizotinib a obtenu une AMM en 2012 pour le traitement des patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules avec réarrangement d'*ALK* et pour lesquels il n'existe pas d'alternative thérapeutique appropriée.

❖ Activité au niveau national

Une recherche de mutations activatrices d'*EGFR* a été réalisée pour 23 336 patients en 2013, soit un niveau d'activité comparable à 2012. Dans le même temps, une recherche de translocation d'*ALK* a été effectuée pour 18 861 patients, soit une augmentation d'activité de 37 % depuis 2012. Le recours à ce test s'est généralisé en 2013 et 80 % des patients pour lesquels un test *EGFR* a été réalisé ont également pu bénéficier d'une recherche de translocation d'*ALK*. Dans la mesure où plusieurs laboratoires ont recours à une stratégie d'analyse séquentielle et ne recherchent les translocations d'*ALK* que pour les patients non mutés pour *EGFR* et *KRAS*, la couverture pour ce test semble exhaustive.

¹⁸ INCa - mars 2010 « Mutations de l'*EGFR* dans le cancer du poumon : mise en évidence d'une cible moléculaire permettant un accès spécifique aux thérapies ciblées », INCa

¹⁹ Cancer du poumon, Bilan initial, collection Recommandations et référentiels, ouvrage collectif édité par l'Inca, Boulogne Billancourt, juin 2011

²⁰ Mossé et al. Clin Cancer Res (2009) ; 15(18):5609-14

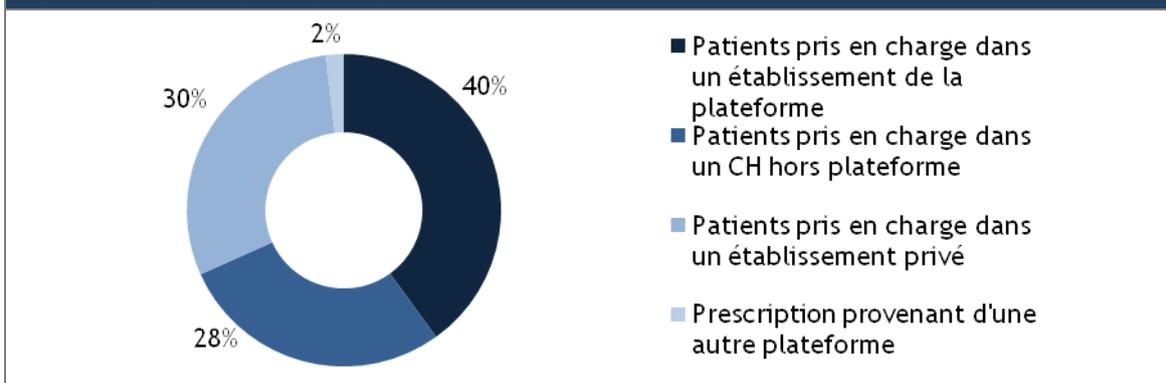
Tableau 11. Activité 2013 dans le cancer du poumon

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Mutations <i>EGFR</i>	23 336	10,0 %	8,0 %
Translocation <i>ALK</i>	18 861	3,5 %	13,4 %
Mutations <i>KRAS</i>	22 958	27,0 %	7,9 %
Mutations <i>BRAF</i>	20 100	2,0 %	8,9 %
Mutations <i>HER2</i>	17 843	0,7 %	10,1 %
Mutations <i>PI3KCA</i>	17 375	2,4 %	10,4 %

Figure 17. Évolution de l'activité



Figure 18. Origine des prescriptions pour le test *EGFR*



9. SARCOMES

Les sarcomes sont des tumeurs rares et variées, avec une cinquantaine de types et de sous-types histologiques dans la dernière version de classification de l'OMS de 2002. Ceci rend leur diagnostic difficile. Celui-ci est posé sur des critères morphologiques et des études complémentaires en immunohistochimie.

Les anomalies génétiques spécifiques des sarcomes sont maintenant bien définies : ce sont principalement des translocations spécifiques et l'amplification de *MDM2/CDK4* dans le cas des liposarcomes. Une anomalie spécifique a été décrite pour plusieurs types de sarcomes parmi lesquels on trouve le sarcome d'Ewing, le synoviosarcome, le rhabdomyosarcome alvéolaire, le sarcome à cellules claires, le liposarcome myxoïde et à cellules rondes, le chondrosarcome myxoïde extrasquelettique, la tumeur desmoplastique à cellules rondes, le sarcome alvéolaire des parties molles et le dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand. La recherche de translocations spécifiques permet ainsi de classer certains sarcomes en complément du diagnostic histologique et des études en immunohistochimie.

❖ Activité au niveau national

Une recherche de translocation a été effectuée pour 2 742 patients en 2013. Le nombre d'examen réalisés augmente régulièrement depuis 2008. À titre de comparaison, en 2013, 2 800 diagnostics de sarcome des tissus mous par le réseau national expert anatomopathologique (RRePS) dédié aux sarcomes des tissus mous et des viscères. Le nombre de recherches de l'amplification de *MDM2/CDK4* continue également d'augmenter avec 2 519 tests réalisés en 2013.

Marqueur	NOMBRE de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Amplification <i>MDM2/CDK4</i>	2 519	32,7 %	9,3 %
Translocations	2 742	41,8 %	9,6 %

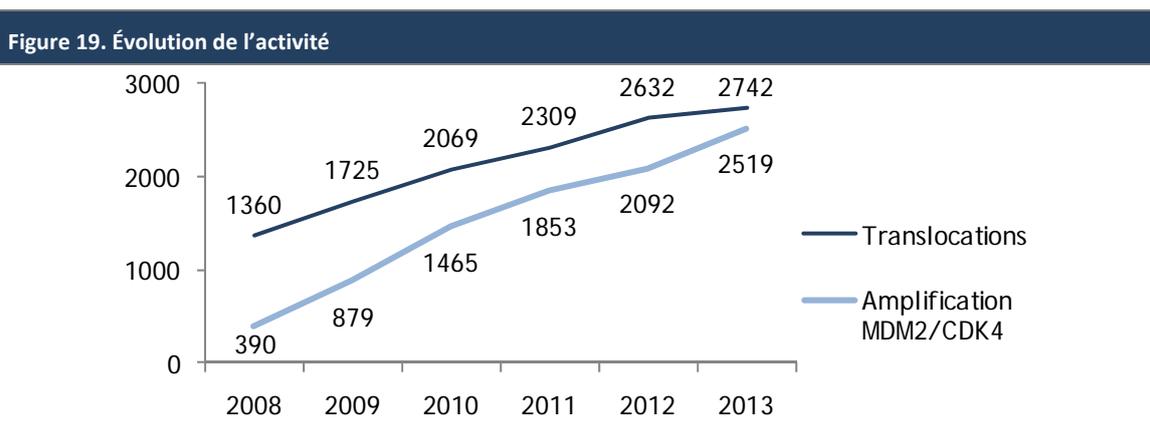
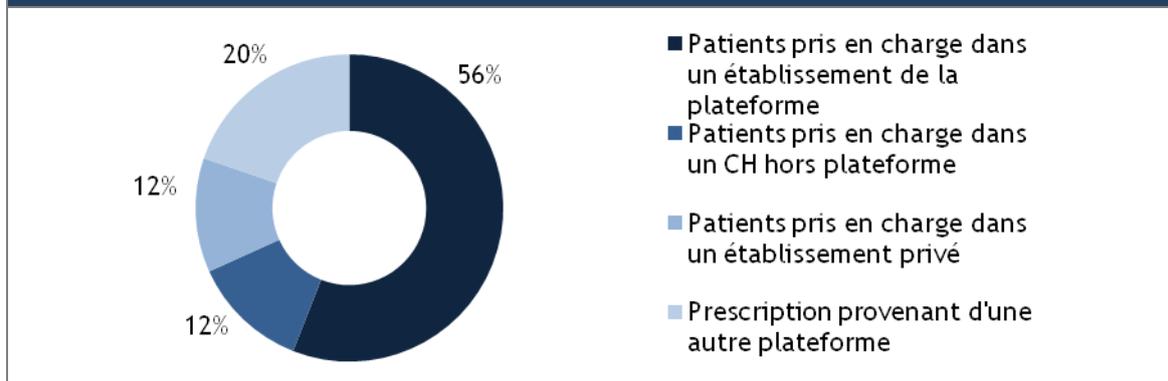


Figure 20. Origine des prescriptions pour le test *MDM2/CDK4*



10. NEUROBLASTOMES

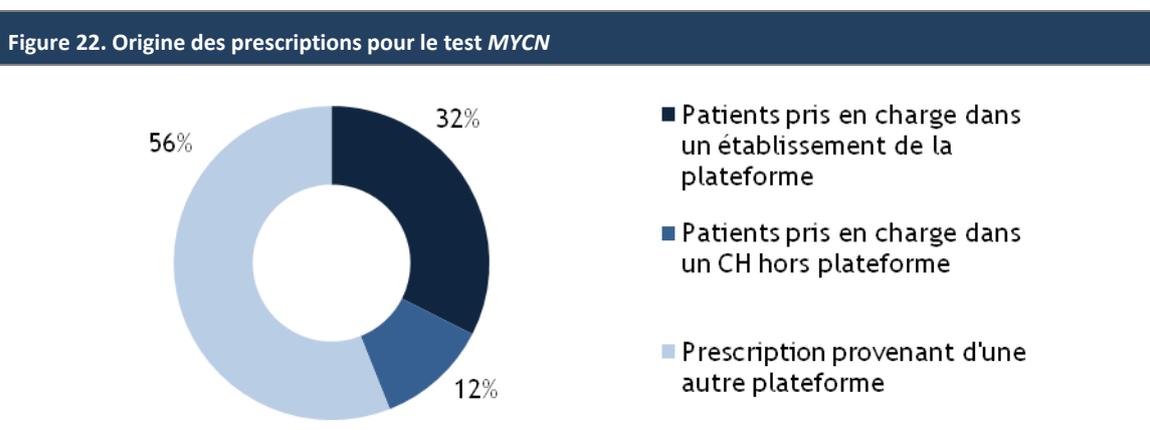
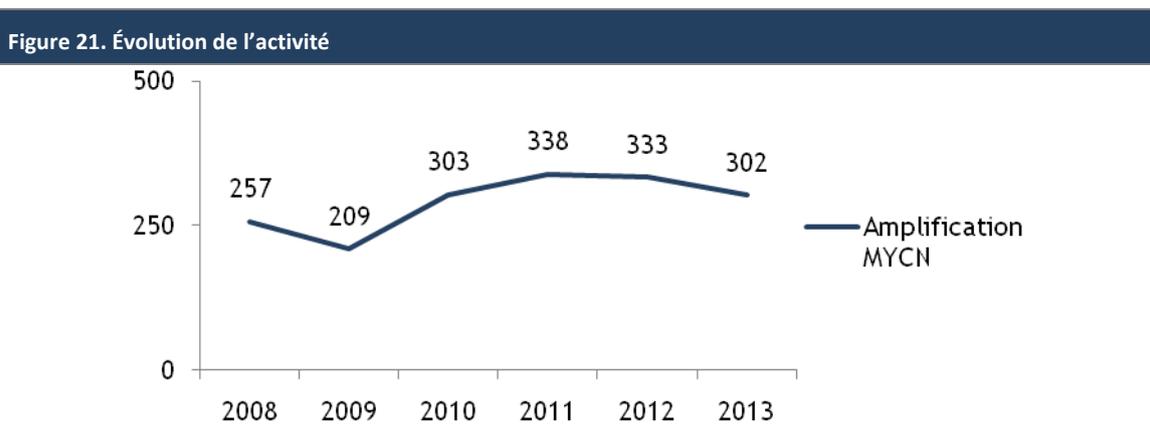
Le neuroblastome est une tumeur maligne des cellules de la crête neurale donnant naissance au système nerveux sympathique qui s'observe chez l'enfant. Il représente environ 10 % des tumeurs solides de l'enfant de moins de 15 ans. Dans 90 % des cas, le neuroblastome est diagnostiqué avant l'âge de 5 ans.

Le pronostic varie en fonction de l'âge de l'enfant, de l'extension au bilan initial et des marqueurs biologiques, dont le statut de *MYCN* et des anomalies chromosomiques spécifiques. En particulier, l'amplification de *MYCN* est un facteur de mauvais pronostic et les patients pour qui une amplification de *MYCN* est avérée font l'objet d'une intensification thérapeutique.

❖ Activité au niveau national

En 2013, la recherche d'amplifications de *MYCN* a été effectuée pour 302 patients. L'activité pour ce test reste stable depuis 2010.

Marqueur	NOMBRE de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Amplification <i>MYCN</i>	302	18,3 %	2,9 %



11. GLIOMES

Les tumeurs cérébrales primitives sont représentées majoritairement par les gliomes. La classification actuellement la plus utilisée est celle de l'OMS, qui classe les gliomes selon leur cellule originelle probable. On peut ainsi distinguer les astrocytomes, les oligodendrogliomes et les épendymomes. Parmi eux, les glioblastomes correspondent au grade IV de la classification établie par l'OMS et présentent une forte malignité. La classification purement morphologique et la gradation des gliomes sont difficiles à établir. L'hétérogénéité de ces tumeurs pose toujours un problème dans la prise en charge et le pronostic des patients.

La codéletion 1p/19q constitue un argument fort en faveur d'un diagnostic histologique d'oligodendrogliome, ainsi qu'un facteur pronostique favorable. Par ailleurs, la mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* est très fortement corrélée à la codéletion 1p/19q et constitue également un facteur pronostique favorable. De plus, les tumeurs ayant une mutation sur l'un de ces deux gènes sont associées à une chimiosensibilité accrue^{21,22}.

❖ Activité au niveau national

La recherche de mutations des gènes *IDH1* et 2 a été effectuée pour 2 063 patients, soit doublement de l'activité en un an. Environ un tiers des tests ont été réalisés des techniques d'IHC qui permettent de détecter la mutation la plus fréquente (R132H). À titre de comparaison, les estimations d'incidence font état d'environ 3 000 à 4 000 nouveaux cas de gliomes par an, dont environ 2/3 sont des glioblastomes. La codéletion 1p/19q a été recherchée pour 950 patients en 2012 (Fig. 45) et est stable depuis 2009.

Tableau 14. Activité 2013 dans les gliomes

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Mutations <i>IDH1</i> et 2	1 261	24,0 %	2,7 %
Codéletion 1p/19q	1 192	32,9 %	3,4 %

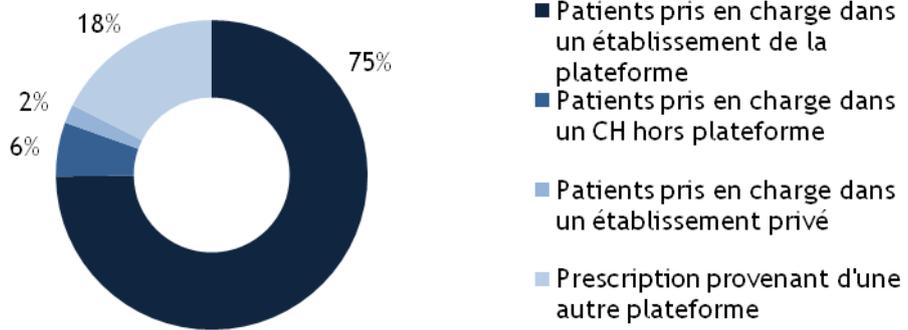
Figure 23. Évolution de l'activité



²¹ Houillier C et al. Neurology. (2010) Oct ; 75(17) :1560-6

²² Erdem-Eraslan et al. J Clin Oncol, (2013) ; 31(3) :328-36

Figure 24. Origine des prescriptions pour le test *IDH1*



12. GLIOBLASTOMES

Le gène *MGMT* code pour la protéine de réparation MGMT dont la fonction est de réparer les erreurs de réplication de l'ADN. La présence de la protéine MGMT dans les cellules normales permet de les protéger vis-à-vis des carcinogènes exogènes.

Le traitement des patients atteints de cette pathologie repose sur la radiothérapie avec un traitement concomitant, puis adjuvant de témozolomide. La méthylation du gène *MGMT* est un facteur de chimiosensibilité au témozolomide (agent alkylant) des glioblastomes²³ (meilleure chimiosensibilité des tumeurs avec méthylation du promoteur du gène *MGMT*) : la médiane de survie globale des patients avec méthylation est de 23,4 mois, avec 13,8 % de survivants à cinq ans contre 12,6 mois et 8,3 % de survie pour les non méthylés²⁴. Depuis, d'autres études ont confirmé ce résultat et la méthylation du promoteur de *MGMT* peut être considérée comme un facteur prédictif important de réponse au traitement standard des glioblastomes nouvellement diagnostiqués. Il n'existe toutefois pas de traitement alternatif pour les patients dont la tumeur n'est pas méthylée.

Tableau 15. Activité 2013 dans les glioblastomes

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Méthylation <i>MGMT</i>	1 751	38,5 %	2,9 %

Figure 25. Évolution de l'activité

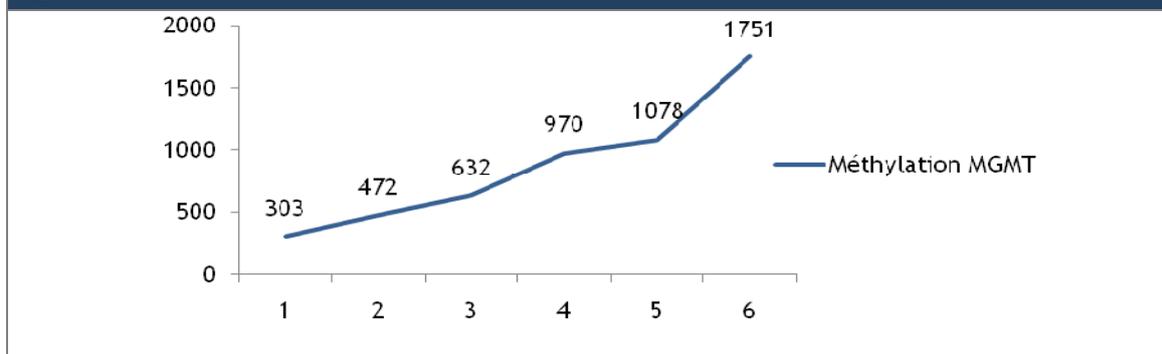
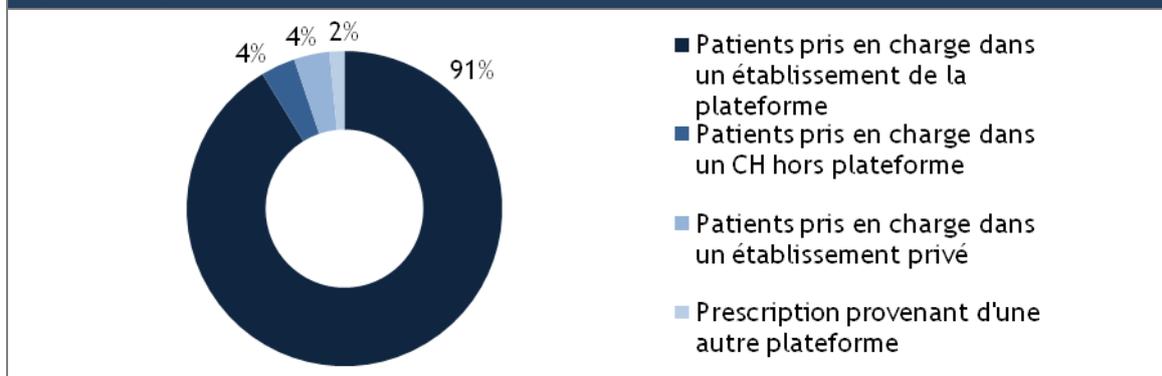


Figure 26. Origine des prescriptions pour le test *MGMT*



²³ Hegi ME et al. *J Clin Oncol* (2008) ; 26: 4189-99.

²⁴ Stupp R et al. *Lancet Oncol* (2009) ; 10 :459-66

13. LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) – DÉTECTION ET QUANTIFICATION DE BCR-ABL

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une maladie de la cellule-souche hématopoïétique responsable d'une prolifération de la lignée myéloïde. Elle est caractérisée, dans 95 % des cas, par la translocation t(9 ;22)(q34;q11) avec apparition d'un gène de fusion *BCR-ABL* sur le chromosome Philadelphie. La translocation de *BCR-ABL* est retrouvée également chez certains patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL).

L'imatinib est un inhibiteur de tyrosine kinase (ITK) ciblant directement la protéine de fusion BCR-ABL qui a révolutionné la prise en charge de la LMC depuis le début des années 2000. Il constitue le traitement standard des patients porteurs d'une translocation *BCR-ABL*. Il a pu être montré que la survie globale sous imatinib était de 88 % après 6 ans²⁵. Depuis décembre 2010, le dasatinib et le nilotinib disposent également d'une AMM pour le traitement en première ligne des patients porteurs d'une translocation *BCR-ABL* et le bosutinib a obtenu une AMM en 2013 pour les patients ayant déjà été traités par une de ces 3 molécules.

Pour la LMC, la mise en évidence du transcrite *BCR-ABL* est nécessaire au diagnostic. Elle permet ensuite d'estimer la réponse au traitement par des ITK en suivant la maladie résiduelle. Pour la LAL, la présence de BCR-ABL est un facteur pronostic et va orienter le traitement vers un protocole à base d'ITK, puis va également permettre le suivi de la maladie résiduelle. Ainsi, l'absence de diminution ou une augmentation du taux de transcrits met en évidence précocement une résistance au traitement, permettant ainsi d'adapter celui-ci le plus rapidement possible. La quantification de BCR-ABL doit donc être effectuée à intervalles réguliers pendant toute la durée du traitement.

Des mutations ponctuelles ont été décrites dans le domaine tyrosine kinase de la protéine ABL, induisant une résistance aux ITK. En cas de résistance primaire ou secondaire au traitement, la détection précoce de ces mutations permet d'adapter le dosage ou de proposer un traitement par un autre inhibiteur de tyrosine kinase. Le type de mutation trouvé peut orienter le choix du traitement de seconde ligne, afin de prescrire une molécule efficace contre la forme mutée de *BCR-ABL* du patient²⁶. À ce titre, le ponatinib a obtenu en 2013 une AMM pour le traitement des patients présentant la mutation T315I du gène *ABL* ou montrant une résistance ou une intolérance au dasatinib et au nilotinib.

Tableau 16. Activité 2013 dans les LMC

Marqueur	Nombre de patients (nb. de tests)	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Détection <i>BCR-ABL</i>	6 750	21,3 %	0,3 %
Quantification de <i>BCR-ABL</i>	14 050	NA	NA
	(32 396)	NA	NA
Mutations <i>ABL</i>	861	20,3 %	2,8 %

²⁵ Hochhaus et al, *Leukemia* (2009) ; 23(6) : 1054-61

²⁶ Preudhomme et al, *NEJM* (2010) ; 363(26) :2511-21

Figure 27. Évolution de l'activité

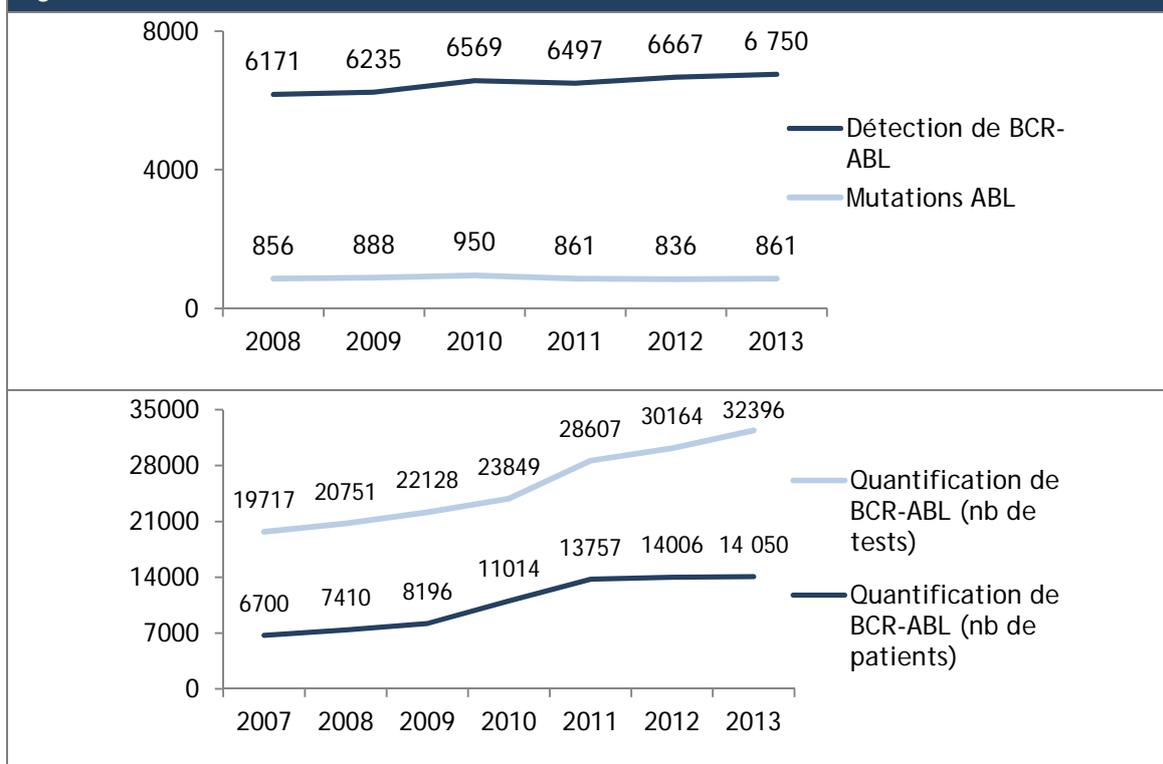
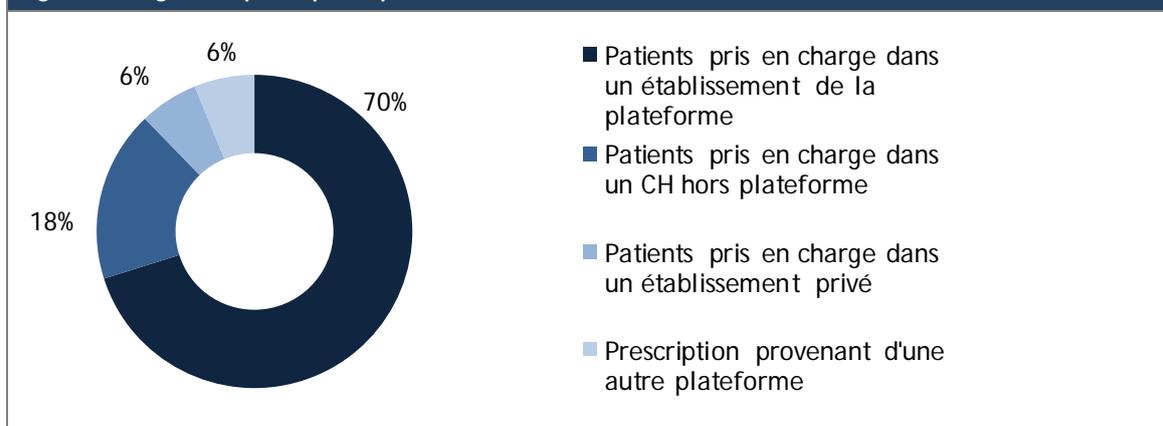


Figure 28. Origine des prescriptions pour la détection de BCR-ABL



14. LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE HORS BCR-ABL

Le diagnostic des hémopathies repose sur des examens morphologiques et immunocytochimiques, mais il doit être complété par des analyses cytogénétiques ou moléculaires pour rechercher des réarrangements chromosomiques.

Les analyses par FISH sont toujours ciblées sur une anomalie précise et nécessitent une orientation diagnostique préalable, mais permettent de détecter des anomalies cryptiques non détectables par un caryotype conventionnel. La recherche d'anomalies chromosomiques par FISH ainsi que le caryotype oncologique sont inscrits à la NABM depuis 2007 et sont ainsi réalisables par tous les laboratoires de biologie médicale.

Tableau 17. Activité 2013 dans les LMC

Marqueur	Nombre de patients
Anomalies chromosomiques par caryotype	1342
anomalies chromosomiques par FISH	373

Figure 29. Évolution de l'activité

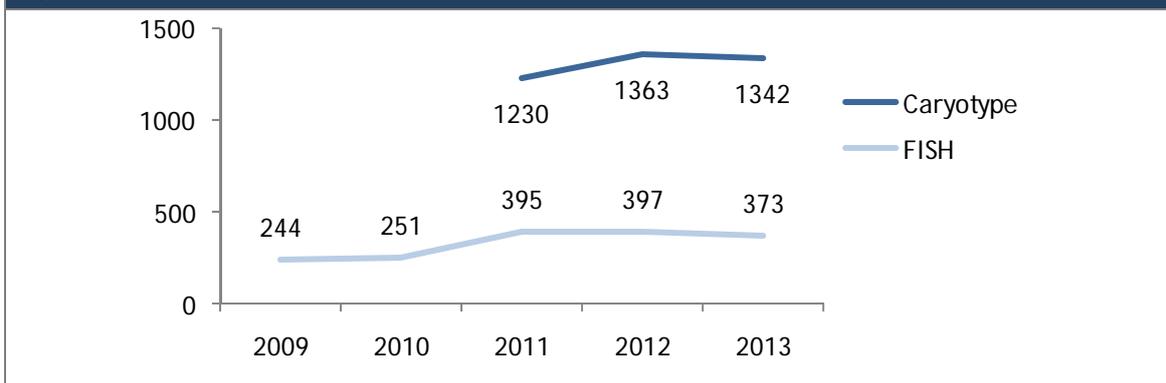
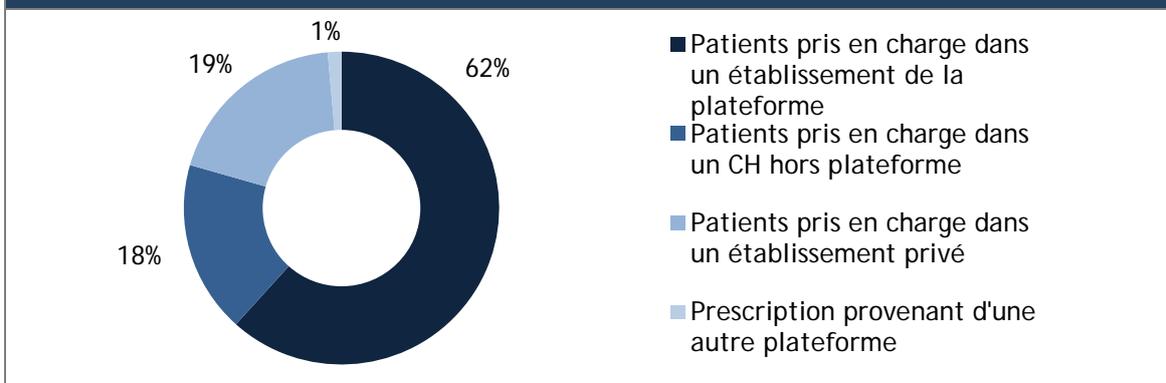


Figure 30. Origine des prescriptions pour les FISH



15. LEUCÉMIES AIGUËS LYMPHOBLASTIQUES (LAL) ET LEUCÉMIES AIGUËS MYÉLOBLASTIQUES (LAM)

15.1. Anomalies chromosomiques au diagnostic

Les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) ou lymphoblastiques sont caractérisées par une prolifération incontrôlée de lymphocytes immatures.

La classification des LAL proposée par l'OMS tient compte du caryotype, en distinguant les entités cytogénétiques suivantes : t(9;22)(q34;q11) avec fusion *BCR-ABL*, t(v;11q23) avec *MLL* remanié, t(1;19)(q23;p13) avec fusion *E2A-PBX* et t(12;21)(p13;q22) avec fusion *ETV6-CBF-alpha (TEL-AML1)*. Les anomalies chromosomiques apportent également des éléments pronostiques : les translocations t(9;22) et t(4;11) ainsi qu'une hypodiploïdie inférieure à 45 chromosomes sont considérées de mauvais pronostic, alors que la t(12;21) et une hyperdiploïdie à plus de 50 chromosomes sont associées à un pronostic favorable.

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) sont des proliférations clonales aiguës ou subaiguës, développées à partir des précurseurs hématopoïétiques (blastes) des lignées myéloïdes, érythroïdes ou mégacaryocytaire, et ce, à tous les stades de maturation de ces précurseurs. La classification OMS a inclus la présence de certaines anomalies dans les critères d'identification de différentes entités des LAM : LAM avec t(8;21)(q22;q22)/*AML1-ETO*, leucémies aiguës promyélocyaires (M3) avec t(15;17)(q22;q12)/*PML-RARA* ou translocations variantes, LAM avec composante monocytaire et éosinophiles anormaux avec inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22)/*CBFB-MYH11* et les LAM à composante monocytaire avec anomalies 11q23 (*MLL*). Les anomalies chromosomiques sont le facteur prédictif le plus fort de la réponse thérapeutique et du risque de rechute, et sont classées en trois catégories : les t(15;17), t(8;21) et inv(16) sont rattachées au groupe de bon pronostic, les caryotypes complexes, les anomalies du 5 (-5/5q-), du 7, du 3q, les t(6;9)(p23;q34) et t(9;22)(q34;q11) sont retrouvées dans le groupe de mauvais pronostic alors que la trisomie 8 et les anomalies 11q23 sont de risque intermédiaire.

Le recours au caryotype standard permet de mettre en évidence des modifications du nombre de chromosomes (hypoploïdies, hyperploïdies, pseudodiploïdies), ainsi que des anomalies de structure. Certaines de ces anomalies constituent un facteur pronostique essentiel conditionnant la prise en charge des patients. La recherche d'anomalies chromosomiques peut aussi être réalisée et/ou complétée par des techniques plus ciblées comme la FISH ou la RT-PCR, mais ces techniques ne permettent pas d'analyser l'ensemble du génome. La recherche d'anomalies chromosomiques par FISH ainsi que le caryotype oncologique sont inscrits à la NABM depuis 2007 et sont donc réalisables par tous les laboratoires de biologie médicale.

Selon les données du rapport sur « l'Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1980 et 2012 Partie 2 – Hémopathies malignes », en 2012 le nombre de nouveaux cas de LAL était estimé à 810 tandis qu'on compte environ 2 800 nouveaux cas de LAM (adultes et enfants confondus).

Tableau 18. Activité 2013 dans les LAL et LAM

Marqueur	Nombre de patients
Anomalies chromosomiques par caryotype	4 613
anomalies chromosomiques par FISH	3 683
Détection de transcrits de fusion par RT-PCR	2 893

Figure 31. Évolution de l'activité

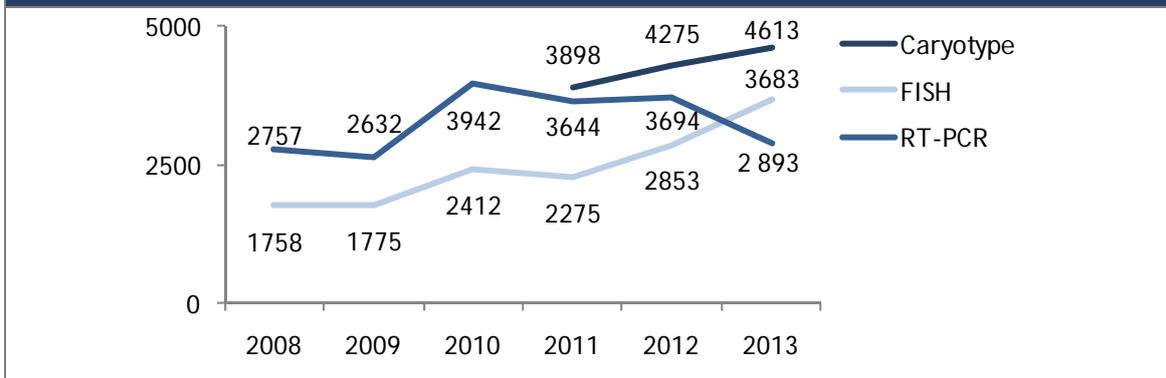
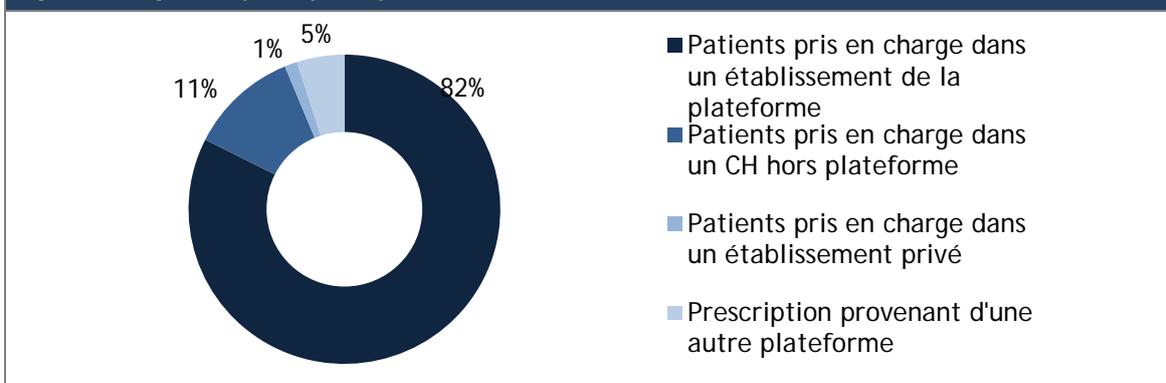


Figure 32. Origine des prescriptions pour les FISH



15.2. Recherche de mutations

Alors que les anomalies cytogénétiques représentent des facteurs pronostiques essentiels pour orienter la prise en charge des patients atteints de LAM, environ 40 % des patients ne présentent pas d'anomalies cytogénétiques au moment du diagnostic.

Des mutations ayant une forte valeur pronostique ont été identifiées dans les LAM, comme la duplication d'une partie du gène *FLT3* ou l'ajout de 4 nucléotides au niveau de l'exon 12 de *NPM*. Les mutations de *NPM* sont associées à un meilleur pronostic tandis que la duplication de *FLT3* est associée à un plus mauvais pronostic. La combinaison de la forme sauvage du gène *FLT3* associée à la forme mutée de *NPM* correspond au meilleur pronostic, alors que la forme mutée de *FLT3* associée à la forme sauvage de *NPM* correspond au pronostic le plus sombre.

D'autres mutations à valeur pronostique ont été mises en évidence comme la mutation de *WT1* ou celle de *CEBPA*. Le gène *CEBPA* est muté dans environ 5 % à 10 % des LAM et sa mutation est de bon pronostic pour les personnes atteintes d'une LAM.

Des mutations des gènes *IDH 1* et *2* sont également retrouvées fréquemment dans les LAM. Ces mutations apparaissent généralement précocement dans le processus d'oncogénèse et conduisent notamment à des modifications épigénétiques. La valeur pronostique de ces marqueurs est encore débattue, mais des essais cliniques de thérapies ciblées contre des formes mutées de ces deux gènes ont débuté en 2013.

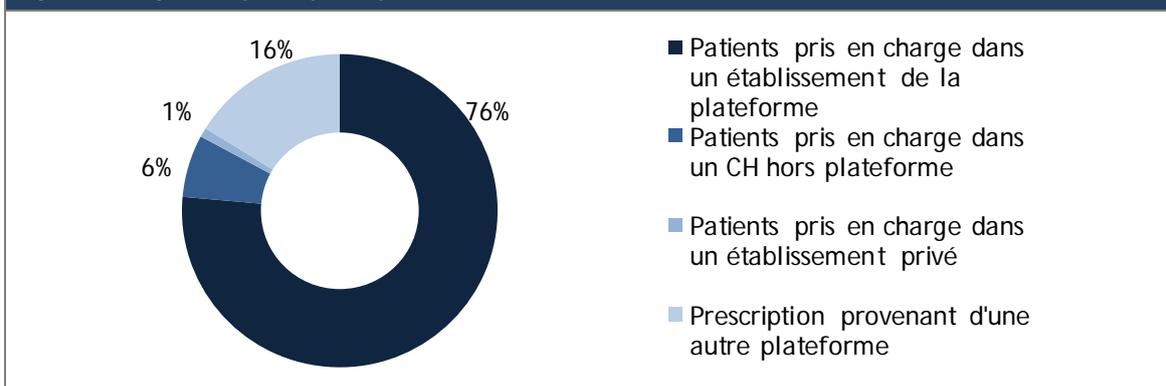
Tableau 19. Activité 2013 dans les LAL et LAM

Marqueur	Nombre de patients (nombre de tests)	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Mutations <i>FLT3</i>	2 640	20,4 %	0,4 %
Mutations <i>NPM</i>	2 510	26,2 %	0,7 %
Mutations <i>CEBPA</i>	1 508	7,3 %	0,4 %
Mutations <i>IDH1</i>	1 001	11,8 %	0,5 %
Mutations <i>IDH2</i>	1 032	13,4 %	0,5 %
Autres mutations (nb. de tests)	(4 897)	NA	NA

Figure 33. Évolution de l'activité



Figure 34. Origine des prescriptions pour le test *FLT3*



15.3. Suivi de la maladie résiduelle

Le gène *WT1* est un facteur de transcription impliqué dans la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques²⁷ et dans le développement des lymphocytes souvent surexprimé dans les leucémies. Il est désormais établi qu'une surexpression de ce gène est un facteur de mauvais pronostic dans les LAM. Une étude clinique^{28, 29} a aussi mis en évidence un intérêt à suivre l'évolution de l'expression de *WT1* suite à un protocole thérapeutique standard à base d'anthracycline et de cytarabine dans les LAL et LAM. En effet, ces travaux ont montré que lorsque le niveau d'expression de *WT1* est peu modifié par le

²⁷ Vidovic K et al. Leuk Res (2013) ; 37(10) :1341-9

²⁸ Cilloni D et al. J Clin Oncol (2009) ; 27 (5) :5195-5201

²⁹ Kim HJ et al, Eur J Haematol (2013)

traitement (baisse d'expression inférieure à un facteur 2), le risque de rechute est multiplié par deux.

La quantification d'autres transcrits de fusion spécifique au moment du diagnostic de LAL, de LAM ou de LMC, permet également de suivre la maladie résiduelle par FISH ou par RQ-PCR et de prédire le risque de rechute, permettant ainsi d'adapter le traitement le plus précocement possible.

Tableau 20. Activité 2013 dans les LAL et LAM

Marqueur	Nombre de patients
Quantification de <i>WT1</i>	2 885
Quantification d'un allèle muté ou hyperexprimé	1 363
Quantification de transcrits de fusion	2 444
Quantification d'anomalies chromosomiques	1 143

Figure 35. Évolution de l'activité

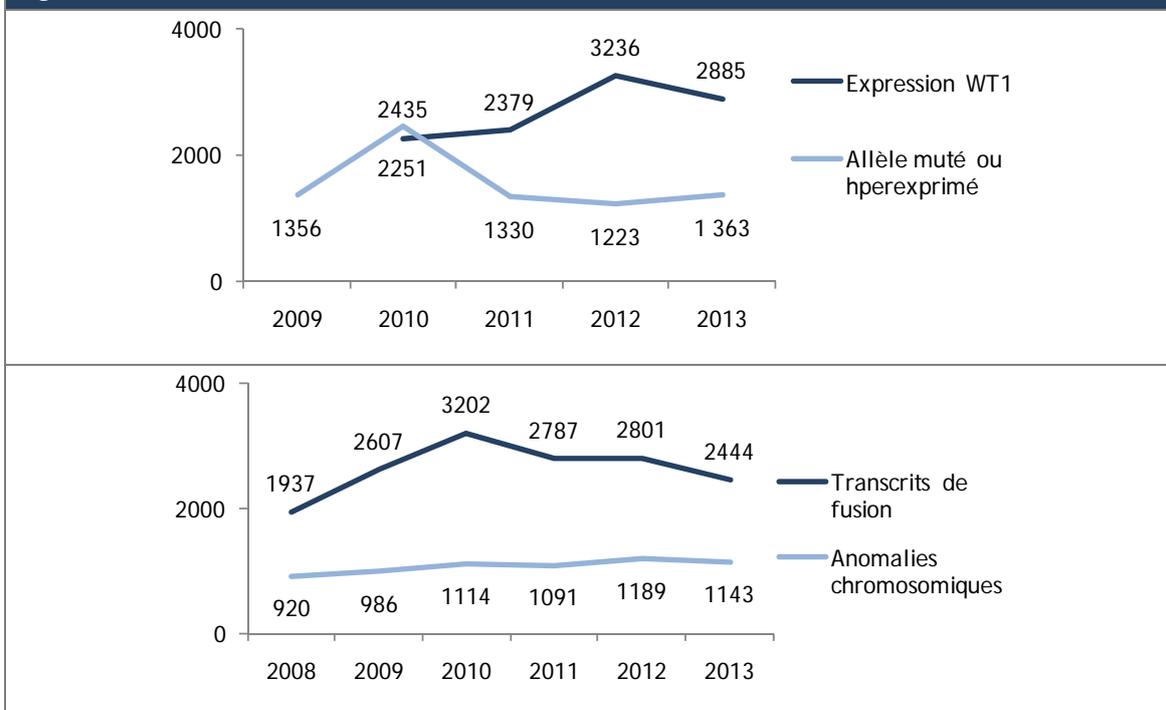
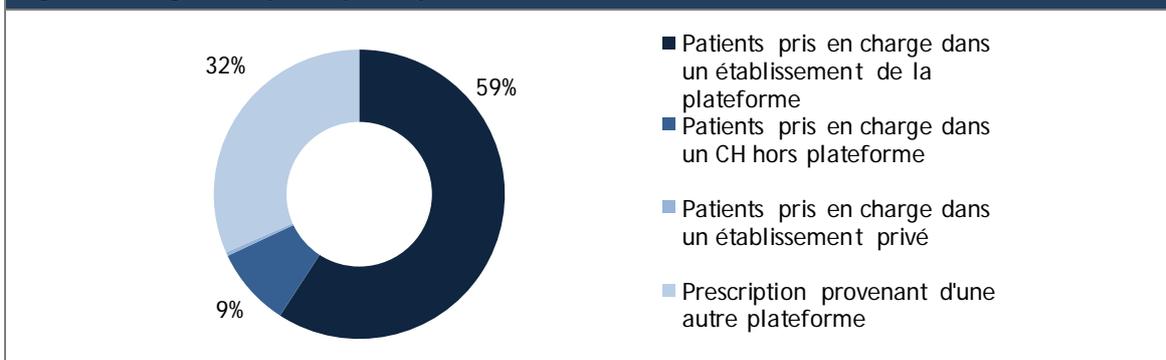


Figure 36. Origine des prescriptions pour le test *WT1*



16. LEUCÉMIES AIGÜES LYMPHOBLASTIQUES (LAL)

Des transcrits de fusion n'étant pas toujours retrouvés au diagnostic, le suivi de la maladie résiduelle dans les LAL se fait également par analyse du réarrangement des gènes du TCR ou des Ig (IGH-TCR). La région de jonction de ces réarrangements étant unique pour chaque clone tumoral, donc pour chaque patient, cette méthodologie nécessite la caractérisation préalable du réarrangement en question.

Tableau 21. Activité 2013 dans les LAL

Marqueur	Nombre de patients
Clonalité B/T	1 150
Quantification d'IGH-TCR	1 448

Figure 37. Évolution de l'activité

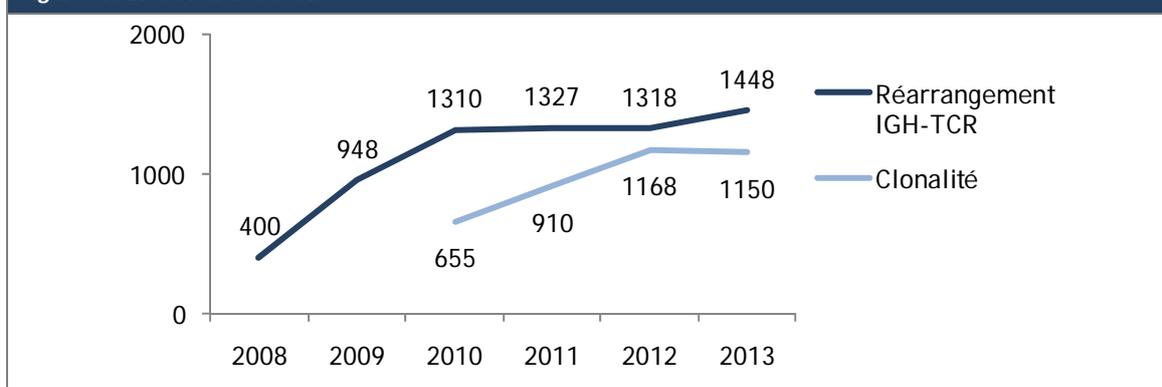
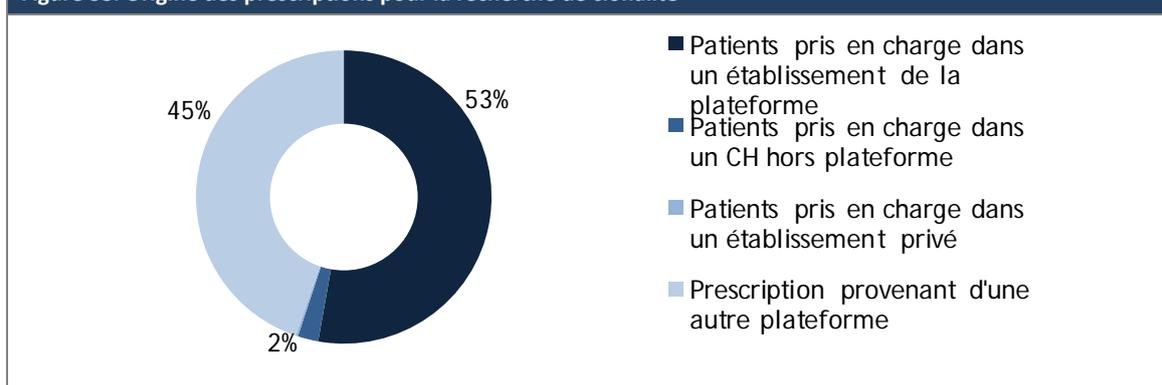


Figure 38. Origine des prescriptions pour la recherche de clonalité



17. LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC)

La LLC se caractérise par une prolifération anormale de la lignée lymphoïde avec un taux anormalement élevé de lymphocytes dans le sang. Les lymphocytes atteints sont pour leur grande majorité des lymphocytes de type B, peu différents des cellules normales.

Le démarrage d'un traitement dépend du stade de la maladie et les critères pronostiques orientent vers une simple surveillance ou la prescription d'une chimiothérapie. Les anomalies cytogénétiques s'imposent comme des critères pronostiques majeurs. Ainsi la délétion 13q est considérée de bon pronostic alors que les délétions 11q (gène *ATM*) ou 17p (gène *TP53*) sont corrélées à un mauvais pronostic. La recherche de ces anomalies chromosomiques par FISH s'avère nécessaire pour mettre en évidence des anomalies cryptiques qui n'ont pu être détectées par caryotype conventionnel. De plus, il a été montré que la présence d'une mutation ponctuelle dans le gène *TP53*, sans délétion du gène est un facteur de résistance aux chimiothérapies et a également une valeur pronostique défavorable³⁰.

D'autre part, les cellules leucémiques de 50 % des patients présentent des hypermutations somatiques dans les régions variables réarrangées des chaînes lourdes des immunoglobulines (*IgVH*). L'étude de ce statut mutationnel permet de répartir les patients en deux groupes à l'évolution bien distincte. Les patients avec une mutation ont une évolution favorable et une faible probabilité de développer une maladie agressive, alors que les patients sans mutation sont à risque de présenter une pathologie évolutive.

❖ Activité au niveau national

Le nombre de recherche d'anomalies chromosomiques est stable avec 2 290 caryotypes et 2 819 analyses par FISH réalisées en 2013. Le nombre de recherches de mutations somatiques d'*IgVH* est de 710 et le nombre de recherches de mutations de *TP53* est de 678. On note une baisse d'activité pour le test *IgVH* en 2013 tandis que le nombre de recherches de mutations de *TP53* augmente régulièrement depuis 2009.

Marqueur	Nombre de patients (nb. de tests)	% d'altérations moléculaires
Anomalies chromosomiques par caryotype	2 290	NA
anomalies chromosomiques par FISH	2 819	NA
Mutations somatiques d' <i>IgVH</i>	710	52,2 %
Mutations de <i>TP53</i>	678	18,0 %

³⁰ Te Raa GD *et al*, Leuk Lymphoma (2013) ; 54(8) :1849-53

Figure 39. Évolution de l'activité

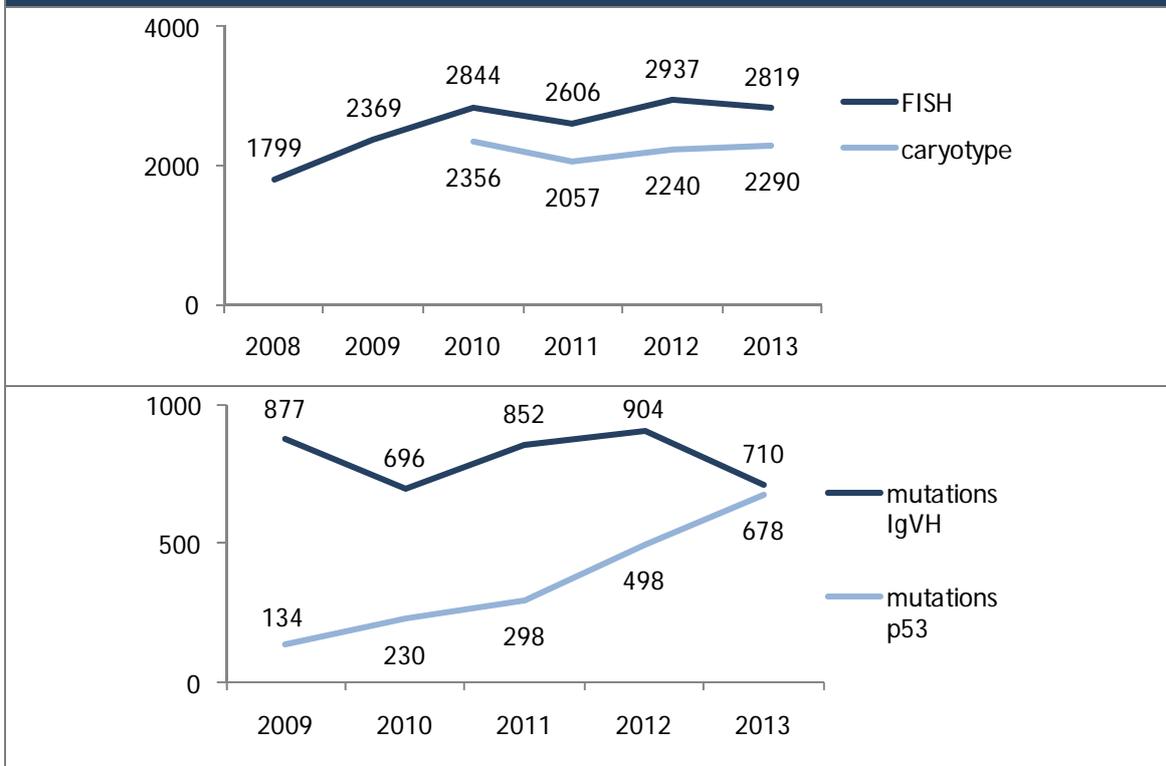
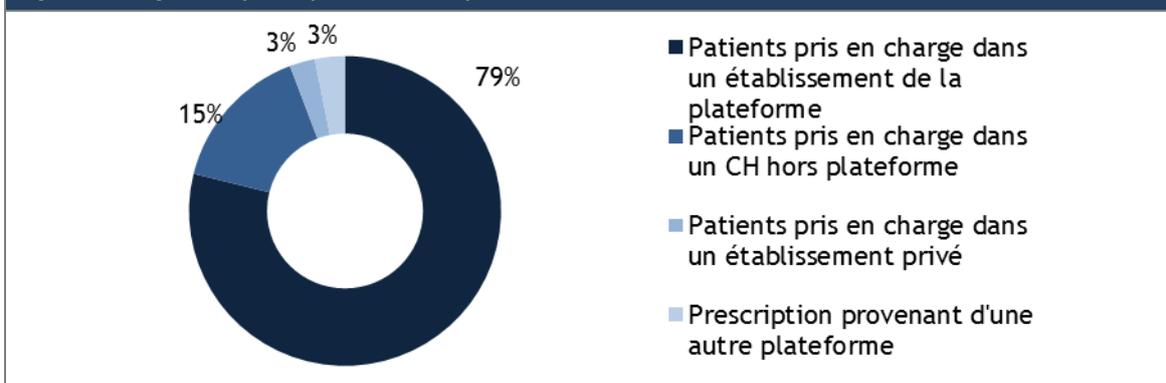


Figure 40. Origine des prescriptions les tests par FISH



18. SYNDROMES MYÉLOPROLIFÉRATIFS (SMP) HORS LMC

18.1. Anomalies chromosomiques

Les syndromes myéloprolifératifs se caractérisent par la prolifération anormale de cellules matures myéloïdes par la moelle osseuse. On regroupe classiquement sous le terme de SMP autres que la LMC, les hémopathies malignes chroniques suivantes : thrombocythémie essentielle, polyglobulie de Vaquez, métaplasie myéloïde avec myélofibrose (ou splénomégalie myéloïde). Il existe également des entités rares comme les syndromes impliquant les loci des gènes *PDGF* α et β et la région 8p11, les syndromes myéloprolifératifs difficiles à classer et les syndromes myéloprolifératifs–myélodysplasiques. La recherche d’anomalies chromosomiques par FISH est effectuée chez les patients pour qui un diagnostic de syndrome myéloprolifératif est suspecté.

Tableau 23. Activité 2013 dans les SMP

Marqueur	Nombre de patients
Anomalies chromosomiques par caryotype	2 025
anomalies chromosomiques par FISH	395

Figure 41. Évolution de l'activité

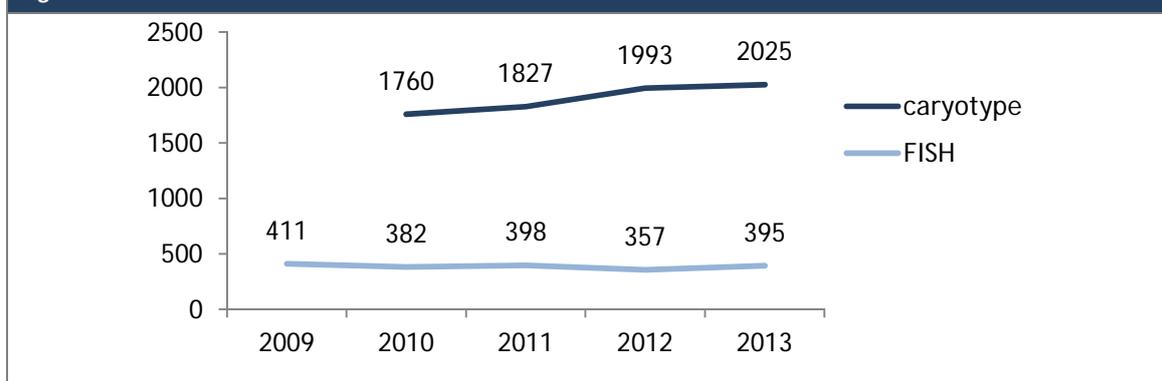
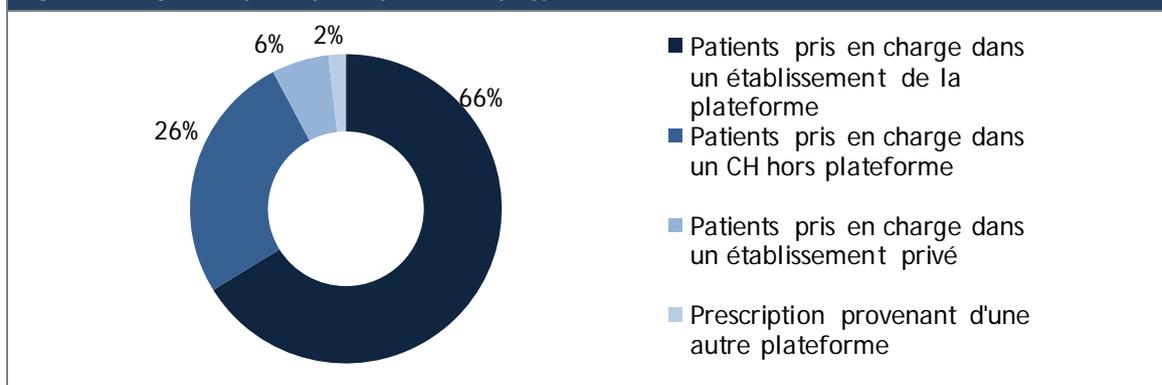


Figure 42. Origine des prescriptions pour les caryotypes



18.2. Mutations

La présence de la mutation *JAK2 V617F* est spécifique des syndromes myéloprolifératifs : elle est retrouvée dans 65 à 97 % des polyglobulies de Vaquez, 23 à 57 % des thrombocythémies essentielles, 35 à 95 % des myélofibroses, mais n'est jamais retrouvée dans les LMC. La présence de cette mutation constitue une information essentielle pour poser le diagnostic de ces pathologies et la recherche de la mutation de *JAK2 V617F* a été intégrée au processus diagnostique de ces pathologies dans les critères de l'OMS en 2008. En pratique clinique, la recherche de la mutation *JAK2 V617F* est utilisée en première intention en cas de suspicion de syndrome myéloprolifératif afin d'éliminer ou de confirmer d'emblée cette hypothèse. La recherche de mutations autres que *JAK2 V617F*, comme des mutations dans l'exon 12 du gène permet également d'affirmer le diagnostic de SMP lorsque la mutation *JAK2V617F* n'est pas mise en évidence, surtout chez des patients jeunes, avant traitement par chimiothérapie. La recherche de mutations sur d'autres gènes, notamment de *MPL* ou de *FIP1L1*, permet aussi de préciser le diagnostic de SMP quand *JAK2* n'est pas muté.

Outre la recherche de la mutation *V617F*, la quantification répétée de *JAK2 V617F* au cours du traitement permet de suivre l'évolution du clone tumoral. Un nombre croissant de laboratoires réalisent la quantification de *JAK2* dès le diagnostic, en parallèle de la recherche de la mutation *V617F*.

Le ruxolitinib, un inhibiteur spécifique des protéines *JAK1* et *JAK2* a obtenu une AMM européenne en août 2012 pour le traitement des patients avec SMP mais l'autorisation de cette molécule n'est pas conditionnée à la présence d'une mutation de ces gènes.

❖ Activité au niveau national

La mutation *JAK2 V617F* a été recherchée pour 14 780 patients en 2013. L'activité pour ce marqueur reste relativement stable depuis 2008. Par ailleurs, on observe une mise en place progressive des analyses pour la recherche d'autres mutations de *JAK2* lorsque la mutation *V617F* n'est pas retrouvée. Ainsi, en 2013, 1 738 recherches complémentaires de mutations de ce gène ont été effectuées. Le nombre de quantifications de l'expression de *JAK2* s'est stabilisé entre 2012 et 2013 et 8 518 tests ont été réalisés cette dernière année.

En 2013, 3 480 recherches complémentaires sur d'autres gènes ont été réalisées pour des patients ne présentant pas de mutation de *JAK2*. Ces analyses se sont concentrées plus particulièrement sur les gènes *MPL* (1 654 tests) et *ASXL1* (788 tests).

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires	% de non interprétables
Détection mutations <i>JAK2 V617F</i>	14 780	31,4 %	1,1 %
Autres mutations de <i>JAK2</i>	1 738	1,0 %	0 %
Quantification <i>JAK2</i>	8 518	NA	NA
Mutations <i>MPL</i>	1 654	2,6 %	0,2 %
Mutations <i>ASXL1</i>	788	24,5 %	0 %
Autres mutations	1 038	NA	NA

Figure 43. Évolution de l'activité

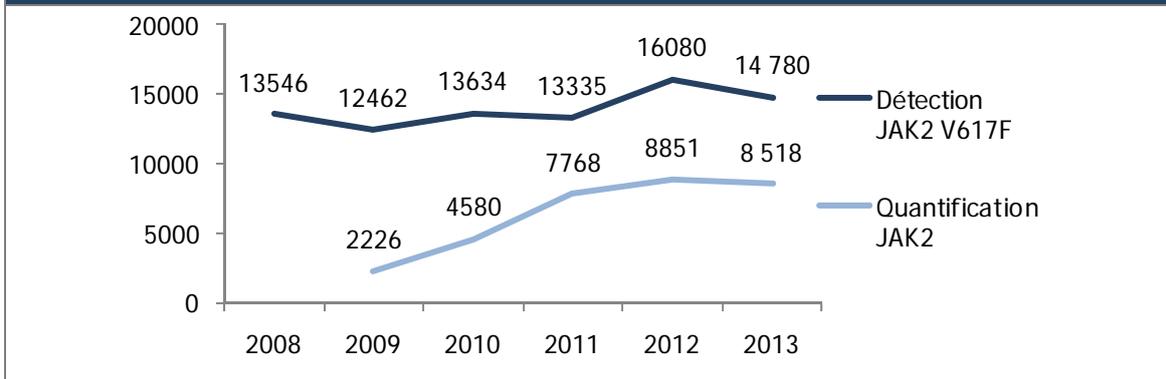
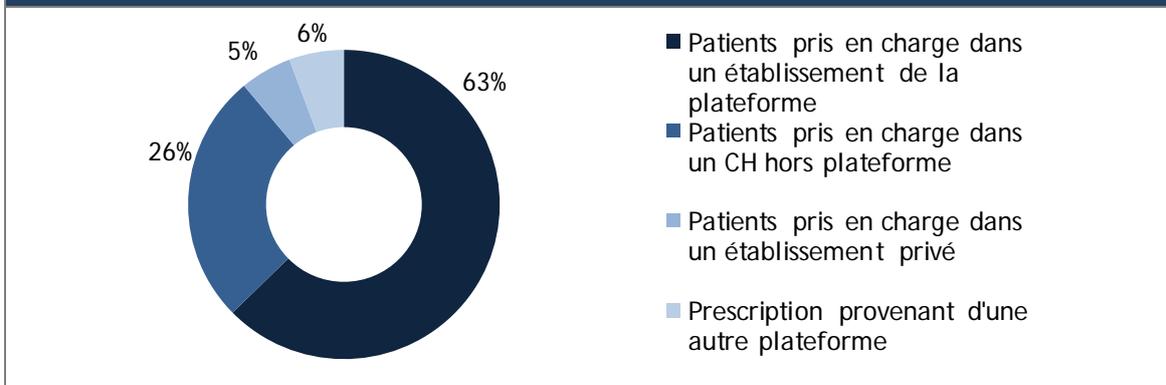


Figure 44. Origine des prescriptions pour le test JAK2



19. MYÉLOME MULTIPLE ET SYNDROMES LYMPHOPROLIFÉRATIFS

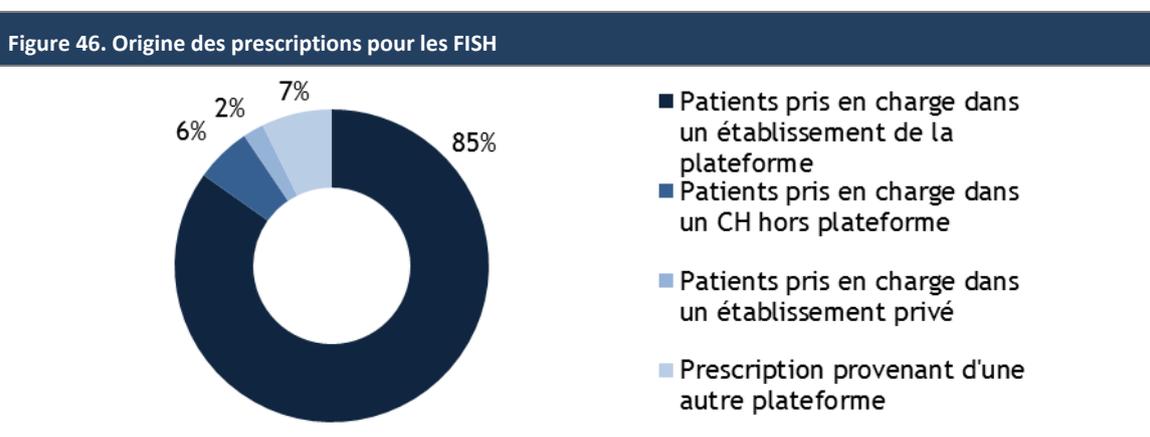
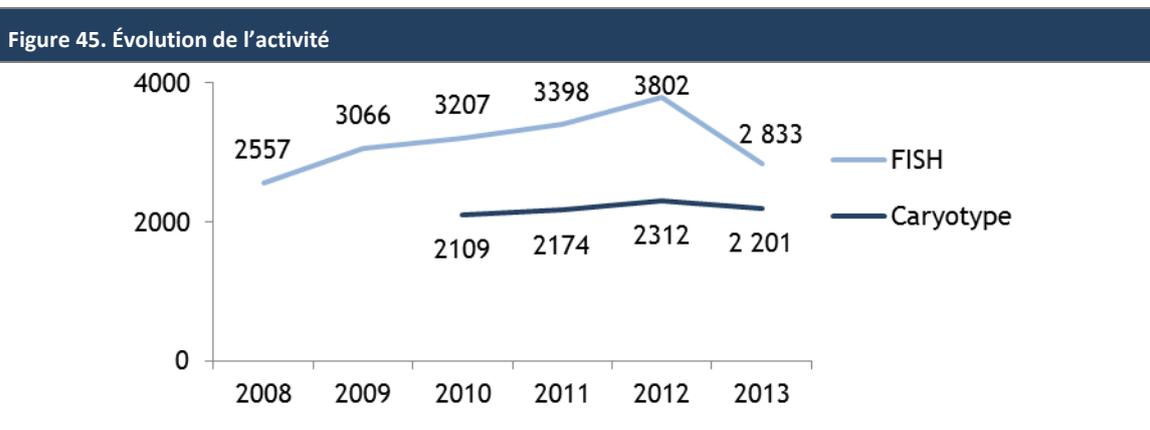
Le myélome multiple (MM) est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération monoclonale aboutissant à une accumulation de plasmocytes dans la moelle osseuse. Il existe des disparités importantes de pronostic avec des formes peu actives et d'autres formes très agressives entraînant des décès rapides.

Les marqueurs de mauvais pronostic sont à rechercher pour adapter l'attitude thérapeutique et en particulier la détermination de paramètres de mauvais pronostic tels que la t(4;14), la del(17p) ou la del(13). Ces analyses doivent être effectuées sur cellules triées et non sur moelle totale, ce qui nécessite une expertise spécifique.

❖ Activité au niveau national

En 2013, la recherche d'anomalies chromosomiques par caryotype a été réalisée pour 2 201 patients atteints de myélome multiple et 2 833 analyses ont été réalisées par FISH. La baisse d'activité FISH en 2013 s'explique par l'arrêt de protocoles cliniques dans cette pathologie.

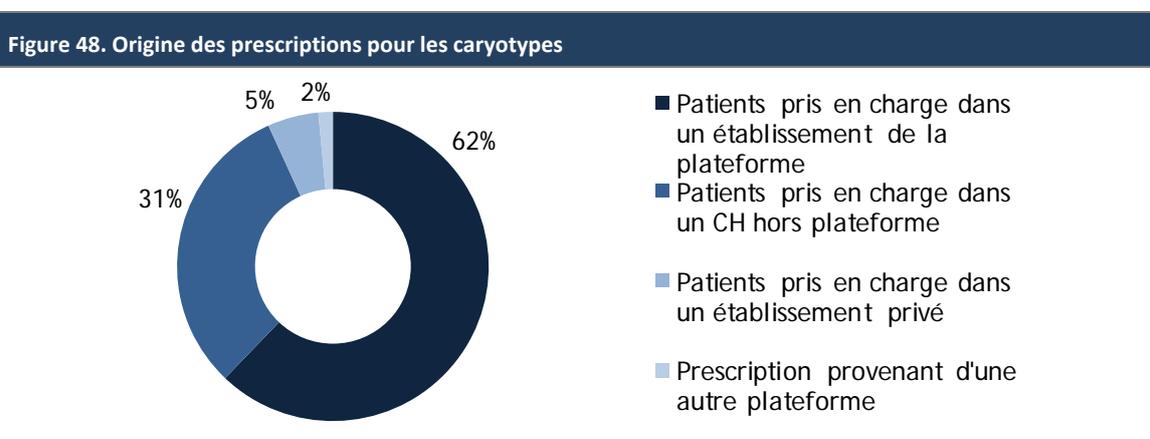
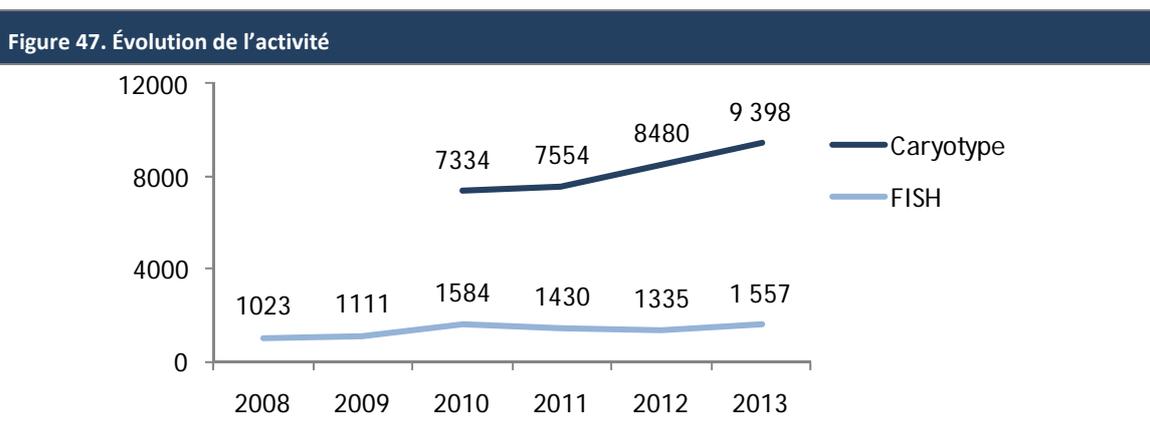
Marqueur	Nombre de patients
Anomalies chromosomiques par caryotype	2 201
anomalies chromosomiques par FISH	2 833



20. SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES (SMD)

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des affections clonales des cellules-souches hématopoïétiques, qui présentent un trouble de différenciation aboutissant à un avortement intramédullaire des précurseurs myéloïdes et à des cytopénies sanguines. L'étude cytogénétique réalisée sur moelle osseuse révèle des anomalies cytogénétiques : monosomie 5, monosomie 7, trisomie 8, trisomie 21, délétions partielles du 5q, du 7p, du 20q. Le diagnostic de SMD repose sur des caractéristiques cytologiques et est aidé par des paramètres biologiques, en particulier par la recherche de ces anomalies cytogénétiques. La recherche de mutations (*RAS*, *TP53*, *FLT3*, *AML1*, etc.) dans les SMD ne permet pas d'apporter d'information pronostique indépendante ou d'orienter vers un traitement spécifique et n'est pas justifiée en routine³¹. La recherche d'anomalies chromosomiques est réalisée lorsqu'il y a suspicion de syndrome myélodysplasique.

Marqueur	Nombre de patients
Anomalies chromosomiques par caryotype	9 398
anomalies chromosomiques par FISH	1 557
Mutations diverses	617



³¹ Consensus Français sur les syndromes myélodysplasiques (SMD) : diagnostic, classifications, traitement. Mise à jour Juillet 2008 par le Groupe francophone des myélodysplasies (GFM)

21. LYMPHOMES

21.1. Anomalies chromosomiques

Les lymphomes malins non hodgkiniens (LNH) représentent un groupe de maladies hétérogènes résultant de la prolifération maligne de cellules lymphoïdes matures, B ou T, à différents stades de différenciation et définis par des critères anatomopathologiques selon la classification OMS. Cette prolifération peut se faire aux dépens d'un organe lymphoïde (ganglion, rate) ou autre (peau, estomac, poumon, etc.).

Le diagnostic de lymphome malin repose sur l'examen histologique et phénotypique de la biopsie tissulaire, le plus souvent ganglionnaire. Lorsque l'analyse morphologique et immunologique ne permet pas de conclure, la cytogénétique et la biologie moléculaire apportent une aide diagnostique.

Certaines anomalies génétiques récurrentes sont corrélées au sous-type de lymphome :

- la translocation t(11 ;14)(q13 ;q32), observée dans la plupart des lymphomes du manteau, entraîne le réarrangement des gènes *CCND1-JH*, induisant une surexpression du gène de la cycline D1.
- la translocation t(2 ;5)(p23 ;q35) entraînant un gène de fusion *NPM-ALK* est la plus fréquente dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules de phénotype T ou nul.
- D'autres translocations spécifiques de certains lymphomes sont également décrites :
- la translocation t(8 ;14)(q24;q32) et ses variantes : le réarrangement du locus *MYC* (bande 8q24) est constant dans le lymphome de Burkitt et fait partie de la définition de cette entité.
- la translocation t(14;18)(q21;q32) est détectable dans plus de 90 % des lymphomes folliculaires et 20 % des lymphomes B diffus à grandes cellules. Le réarrangement *BCL2-JH*, résultant de cette translocation entraîne la surexpression de *BCL2*.
- la translocation t(11;18)(q21;q21) entraînant la jonction *API2-MALT1* se voit dans les lymphomes du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT).

La recherche d'anomalies chromosomiques spécifiques peut être réalisée par un caryotype standard, par FISH ou par RT-PCR. Le choix de la technique utilisée pour la mise en évidence des translocations spécifiques dans les lymphomes dépend en particulier de la nature de l'altération et du nombre de points de cassure. Ainsi, la translocation t(2;5) dans le lymphome anaplasique à grandes cellules est mise en évidence par PCR après reverse transcription alors que la recherche de la translocation t(8;14) dans le lymphome de Burkitt se fait plus aisément sur FISH interphasique. Les anomalies peuvent aussi être recherchées de manière indirecte en mesurant la surexpression de *BCL2* ou de la cycline D1.

Tableau 27. Activité 2013 dans les lymphomes

Marqueur	Nombre de patients
Anomalies chromosomiques par caryotype	3 913
anomalies chromosomiques par FISH	4 133
Remaniements spécifiques par PCR	2 278
Détection cycline D1	1 538

Figure 49. Évolution de l'activité

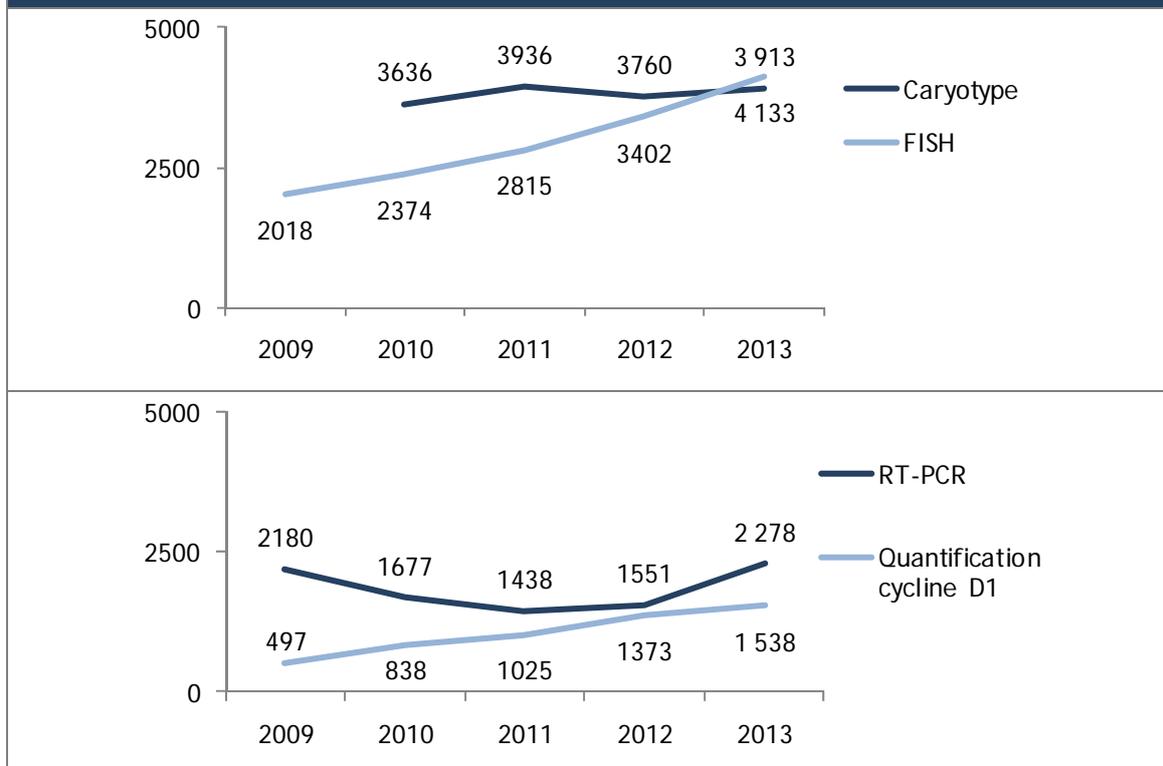
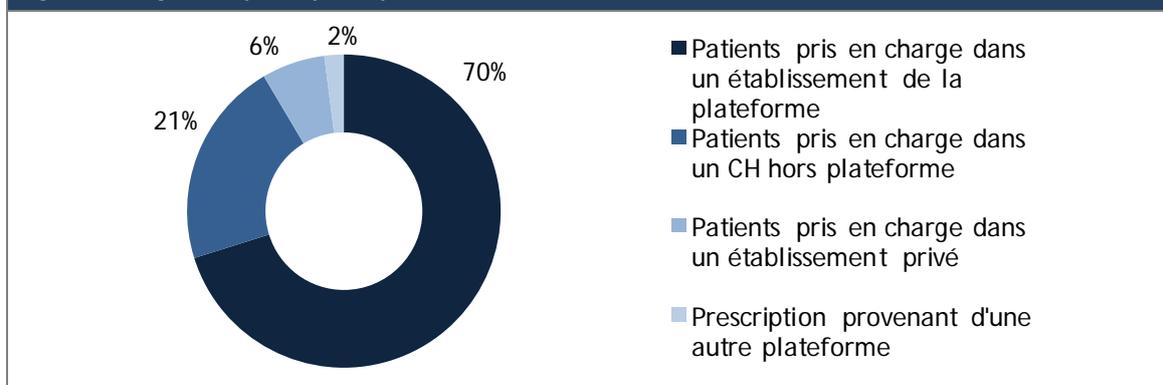


Figure 50. Origine des prescriptions pour les FISH



21.2. Clonalité

L'évaluation de la clonalité B/T permet de distinguer une lymphoprolifération réactionnelle polyclonale d'une lymphoprolifération maligne monoclonale quand l'analyse morphologique et phénotypique est difficile à interpréter et n'apporte pas la preuve définitive du lymphome.

L'évaluation de la clonalité est établie par une étude du réarrangement des gènes du récepteur T (TCR) à l'antigène pour les lymphoproliférations T ou des gènes des immunoglobulines pour les lymphoproliférations B. Pour un patient donné, la clonalité B et/ou T peut être recherchée.

Les techniques principalement utilisées ont fait l'objet d'un projet européen Biomed-2 d'harmonisation des techniques moléculaires et sont basées sur des PCR multiplexes³².

³² van Krieken JH *et al.* Leukemia. (2007) Feb ; 21(2):201-6

Tableau 28. Activité 2013 dans les lymphomes

Marqueur	Nombre de patients	% d'altérations moléculaires
Clonalité B	IGH-VHDHJH	9 927
	IGK	4 845
	IGH-DHJH	2 793
	IGL	551
Clonalité T	TCRG	10 914
	TCRB	1 683
	TCRD	1 530

Figure 51. Évolution de l'activité

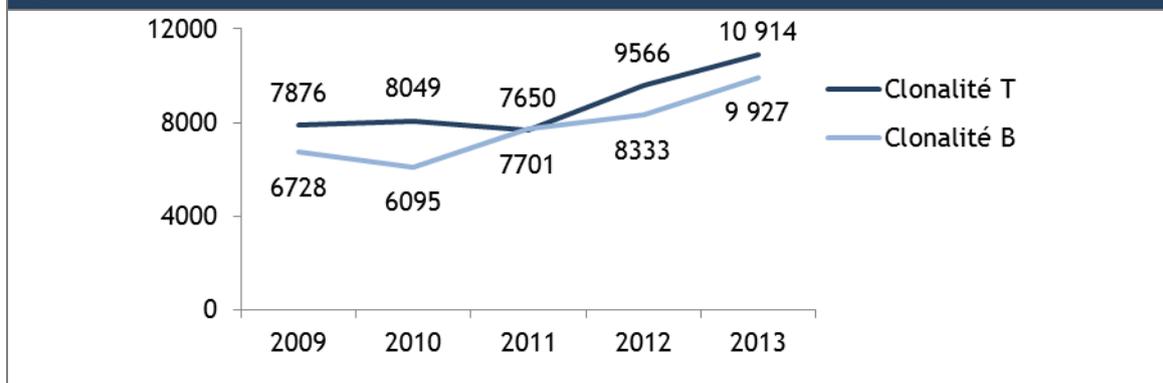
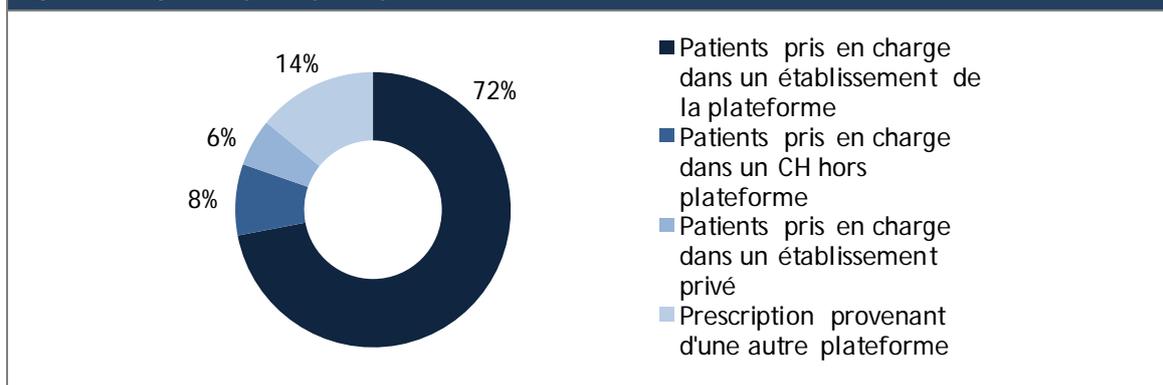


Figure 52. Origine des prescriptions pour la recherche de clonalité



22. HÉMOPATHIES : CHIMÉRISME POST-GREFFE

Les analyses du chimérisme après greffe allogénique de cellules-souches hématopoïétiques permettent de suivre la reconstitution hématopoïétique et/ou immunologique chez les patients dans les semaines et les mois après la greffe, et représentent un paramètre indispensable pour les cliniciens en vue du suivi des patients.

Tableau 29. Activité 2013 dans les leucémies	
Marqueur	Nombre de patients (nombre de tests)
Chimérisme post-greffe à la mise au point	1 448
Chimérisme post-greffe pour le suivi	3 064 (10 299)

Figure 53. Évolution de l'activité

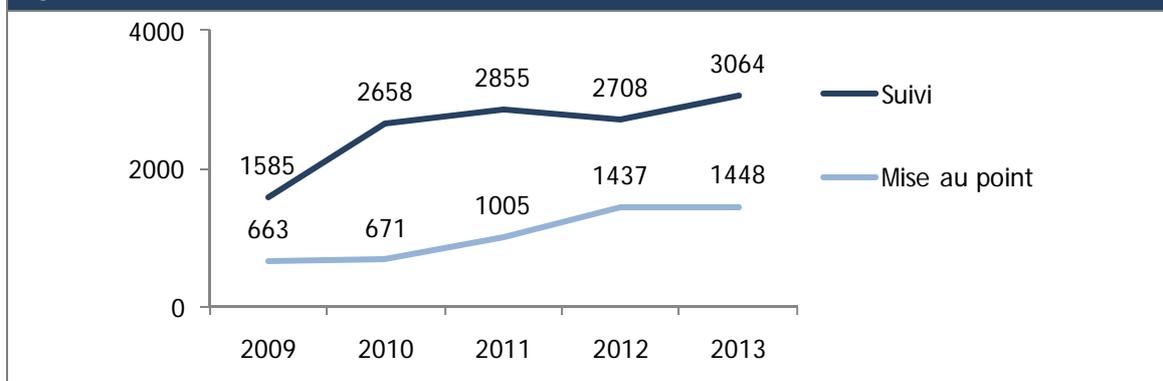
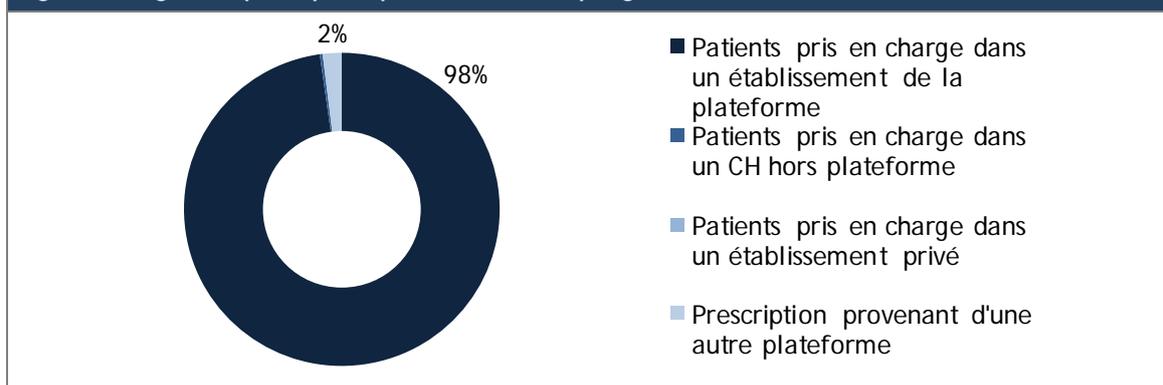


Figure 54. Origine des prescriptions pour le chimérisme postgreffe



23. PHARMACOGÉNÉTIQUE CONSTITUTIONNELLE

La pharmacogénétique étudie les mécanismes d'origine génétique intervenant dans la réponse aux médicaments et permet l'optimisation des traitements médicamenteux, tant en termes d'efficacité que de sécurité d'emploi. De nombreux polymorphismes génétiques affectant les gènes codant pour des enzymes, des transporteurs et des récepteurs ont été décrits, ainsi que leurs conséquences sur l'effet d'un grand nombre de médicaments.

On peut citer à titre d'exemple :

- polymorphismes du gène *UGT1A1* et toxicité accrue à l'irinotécan : les patients homozygotes pour l'allèle *UGT1A1*28* présentent un risque accru de toxicité à l'irinotécan. Une dose réduite peut leur être prescrite d'emblée ;
- polymorphismes du gène *TPMT* et toxicité accrue aux médicaments thiopuriniques : trois allèles, *TPMT*2*, *TPMT*3A* et *TPMT*3C*, sont impliqués dans la très grande majorité des patients avec des activités réduites de *TPMT*. Les patients homozygotes pour ces allèles sont déficients en *TPMT* et donc à risque accru de toxicité ;
- polymorphismes du gène *DPYD* et une toxicité accrue au 5-FU : il existe un lien démontré entre polymorphismes de *DPYD* et toxicité accrue au 5-FU.

❖ Activité au niveau national

En 2013, 8 352 tests de pharmacogénétique constitutionnelle ont été réalisés, contre 6 718 en 2012, soit une augmentation d'activité de 24 %. Les tests pharmacogénétiques concernent principalement la recherche de mutations de *DPYD* (4 415 patients) et l'étude du polymorphisme d'*UGT1A1* (2 447 patients). C'est également sur ces deux marqueurs que s'est concentrée l'augmentation d'activité en 2013, tandis que l'activité pour les autres mutations (*MTHFR*, *MTHFR*, *TPMP*,...) est restée stable.

Marqueur	Nombre de patients (nombre de tests)
Mutations <i>DPYD</i>	4 415
Mutations <i>UGT1A1</i>	2 447
Autres mutations	1 490

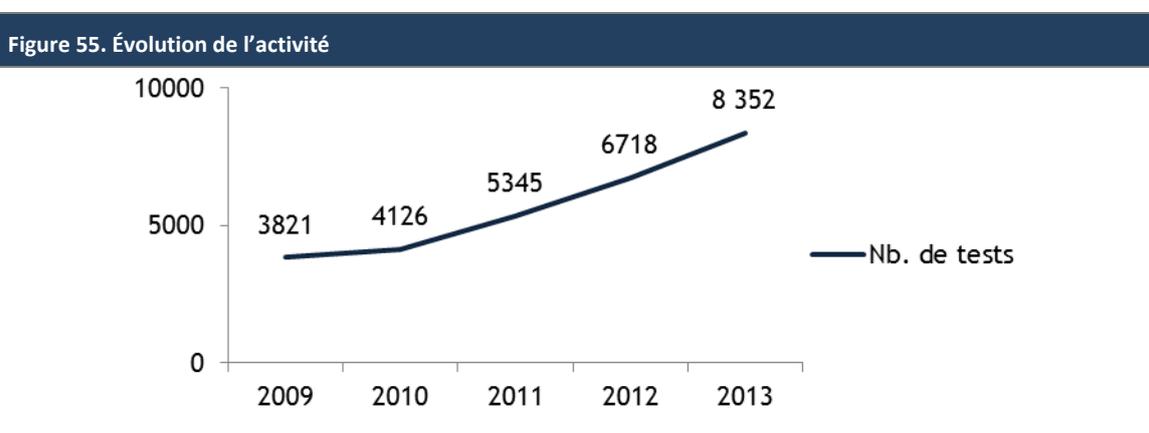
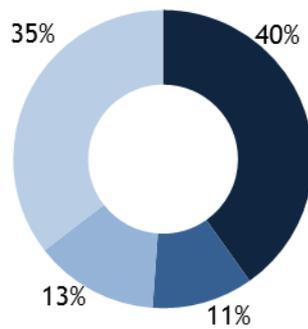


Figure 56. Origine des prescriptions pour le test *DPYD*



- Patients pris en charge dans un établissement de la plateforme
- Patients pris en charge dans un CH hors plateforme
- Patients pris en charge dans un établissement privé
- Prescription provenant d'une autre plateforme

ANNEXE 1. LES PLATEFORMES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DES CANCERS

L'identification d'altérations génétiques au sein des cellules cancéreuses a permis la mise en évidence de nouveaux biomarqueurs moléculaires. Ces paramètres sont aujourd'hui indispensables pour le diagnostic, la classification, le choix et la surveillance du traitement d'un nombre croissant de cancers. L'analyse de ces biomarqueurs doit donc être accessible à tous les patients, quel que soit l'établissement de santé dans lequel ils sont pris en charge.

Afin d'anticiper ce besoin sanitaire émergent, l'INCa a mis en place un programme spécifique dès 2006 pour soutenir la structuration de la génétique moléculaire. Deux appels à projets nationaux INCa ont été conduits en 2006 et 2007 afin de structurer ce dispositif. On compte 28 plateformes de génétique moléculaire des cancers réparties sur l'ensemble du territoire. Les plateformes regroupent plusieurs laboratoires pouvant appartenir à des établissements différents, permettant d'offrir aux patients l'ensemble des techniques indispensables de génétique moléculaire pour toutes les pathologies concernées.

Les plateformes ont pour vocation de réaliser les tests moléculaires pour l'ensemble des patients de la région, quel que soit l'établissement où ils sont pris en charge : CHU, CLCC, CH ou établissements privés. Il s'agit d'organiser un maillage territorial suffisant pour que les prélèvements tumoraux parvenant dans les laboratoires habituels d'anatomopathologie ou d'hématocytologie puissent être pris en charge rapidement par une plateforme avec laquelle il existe des liens organisés.

Elles ont pour mission de réaliser des tests moléculaires qui selon leur nature contribuent à :

- participer au diagnostic, en complémentarité de paramètres cliniques, morphologiques et biologiques ;
- orienter le processus diagnostique ;
- déterminer l'accès à une thérapie ciblée ;
- orienter la stratégie de traitement du patient ;
- permettre le suivi de la maladie résiduelle.

Actuellement, les plateformes disposent d'un catalogue de 60 tests dont certains sont déterminants pour l'accès à des thérapies ciblées existantes ou en cours de développement. Elles reçoivent des financements de l'INCa et de la DGOS pour la réalisation de ces tests moléculaires. Par ailleurs, afin d'anticiper l'arrivée des nouvelles molécules et de les rendre disponibles le plus rapidement possible, l'INCa a mis en place un programme de détection prospective des biomarqueurs émergents dans le cancer du poumon, dans le cancer colorectal et dans le mélanome depuis 2010. Le développement de ces plateformes s'inscrit dans la mise en œuvre de l'objectif 6 du Plan cancer 2014-2019, « Conforter l'avance de la France dans la médecine personnalisée ».

Liste des plateformes

Alsace

CHU - CLCC de Strasbourg - CH de Mulhouse - CH de Colmar
Coordonnateurs : Marie-Pierre Gaub et Jean-Pierre Ghnassia

Aquitaine

CHU - CLCC de Bordeaux - CHU de la Réunion
Coordonnateur : Jean-Philippe Merlio

Auvergne

CHU - CLCC de Clermont-Ferrand
Coordonnateur : Andreï Tchirkov

Basse Normandie

CHU - CLCC de Caen
Coordonnateur : Marie-Laure Kottler

Bourgogne

CHU - CLCC de Dijon
Coordonnateur : Laurent Martin

Bretagne

CHU de Brest
Coordonnateur : Valérie Ugo

CHU - CLCC de Rennes

Coordonnateurs : Thierry Fest et Nathalie Rioux-Leclercq

Centre

CHRU de Tours – CH d'Orléans
Coordonnateur : Jean-Christophe Pagès, Olivier Herault et Serges Guyétant

Champagne Ardenne

CHU - CLCC de Reims
Coordonnateur : Christine Clavel

Franche-Comté

CHU de Besançon
Coordonnateur : Christiane Mougin

Haute-Normandie

CHU - CLCC de Rouen
Coordonnateur : Jean-Christophe Sabourin

Île-de-France

Gustave Roussy
Coordonnateur : Jean-Yves Scoazec

Institut Curie – CH de Versailles
Coordonnateurs : Olivier Delattre et Ivan Bièche

AP-HP

Coordonnateurs : Michel Marty, Pierre Laurent-Puig, Thierry Molina, Nathalie Rheims

Languedoc Roussillon

BILANS D'ACTIVITÉ ET D'ÉVALUATION

► Plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers : faits marquants et synthèse d'activité 2013

CHU - CLCC de Montpellier - CHU de Nîmes

Coordonnateur : Thierry Maudelonde

Limousin

CHU de Limoges
Coordonnateurs : François Labrousse et Jean Feuillard

Lorraine

CHU - CLCC de Nancy
Coordonnateur : Philippe Jonveaux

Midi-Pyrénées

CHU - CLCC de Toulouse
Coordonnateur : Eric Delabesse

Nord-Pas-de-Calais

CHU - CLCC de Lille
Coordonnateur : Nicole Porchet

Pays de la Loire

CHU - CLCC de Nantes
Coordonnateur : Marc Denis

CHU - CLCC d'Angers

Coordonnateur : Alain Morel

Picardie

CHU d'Amiens
Coordonnateurs : Brigitte Gubler et Jean-Pierre Marolleau

Poitou-Charentes

CHU de Poitiers
Coordonnateurs : Lucie Karayan-Tapon

Provence- Alpes- Côte d'Azur

CHU - CLCC de Nice
Coordonnateur : Florence Pedeutour

CHU - CLCC de Marseille

Coordonnateur : Anne Barlier

Rhône-Alpes

CHU - CLCC de Lyon
Coordonnateur : Alexandra Traverse-Glehen

CHU de Grenoble

Coordonnateur : Dominique Leroux

CHU de Saint-Étienne

Coordonnateur : Lydia Campo



Édité par l'Institut National du Cancer
Conception/Réalisation : Institut National du Cancer
Tous droits réservés – Siren : 185 512 777
ISBN : 978-2-37219-050-3
ISBN net : 978-2-37219-051-0
Illustrations : DR

DÉPÔT LÉGAL NOVEMBRE 2014

Plus d'informations sur l'Institut
et le Plan cancer 2014-2019 sur
e-cancer.fr

RÉF : BILPTFMOL14

Institut National du Cancer
52, avenue André Morizet
92100 Boulogne-Billancourt
France

Tel. +33 (1) 41 10 50 00
Fax +33 (1) 41 10 50 20
diffusion@institutcancer.fr