

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

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

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

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

Le D^r David Rosenblatt s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

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

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

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

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

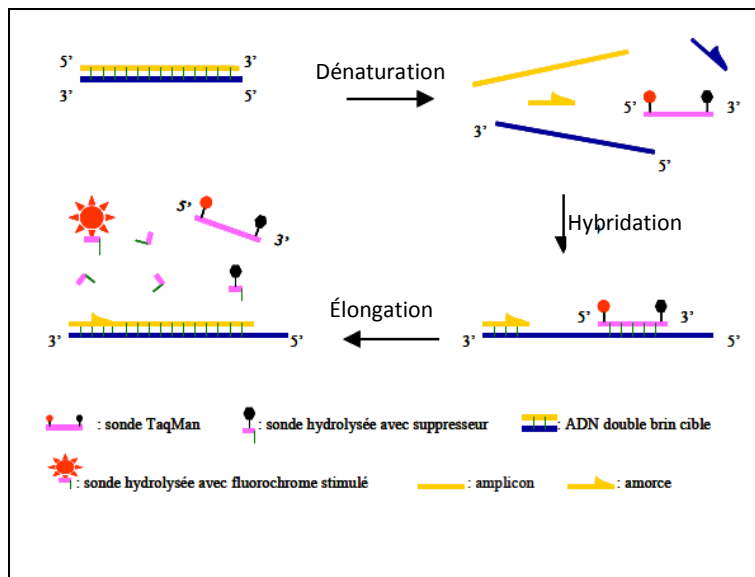
2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

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

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

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

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



Source : adaptée de Poitras et Houde, 2002.

L'analyse sera effectuée sur l'ADN extrait d'échantillons de sang, de moelle osseuse, de tissus frais ou de tissus fixé et enrobé de paraffine. Le demandeur a fourni deux algorithmes

de traitement pour les patients atteints de la macroglobulinémie de Waldenström (annexe A).

2.3 Modalités d'administration du test

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

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

2.4 Société ou concepteur

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

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

L'analyse n'est pas homologuée.

2.6 Valeur pondérée : 73,92

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

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

3.2 Description des maladies visées

Macroglobulinémie de Waldenström

La MW est la principale maladie visée par le demandeur¹. C'est un lymphome non hodgkinien indolent caractérisé par une infiltration de la moelle osseuse par des cellules lymphoplasmocytaires associée à la présence d'IgM monoclonales [Kapoor *et al.*, 2015; Kasi *et al.*, 2015; Treon *et al.*, 2014]. La MW est incurable et elle touche principalement les hommes caucasiens âgés (âge médian de 73 ans au diagnostic). Son incidence annuelle ajustée en fonction de l'âge est de 0,38 cas/100 000 personnes [Wang *et al.*, 2012] et le taux de survie médian est estimé à 7,0 ans [Nelson *et al.*, 2013]. Au Québec, de 20 à 40 nouveaux cas positifs sont attendus chaque année et la prévalence annuelle de la maladie est estimée à 150 à 200 personnes². Différentes altérations génétiques sont présentes dans les cellules tumorales des patients atteints de la MW [Hunter *et al.*, 2014; Braggio et Fonseca, 2013] et

¹ Information transmise par Yury Monczak, Ph.D., co-directeur du laboratoire de diagnostic moléculaire de l'HGJ (12 septembre 2016).

² Information transmise par le demandeur dans le formulaire de demande d'ajout d'une nouvelle analyse le 29 avril 2016. L'estimation de l'incidence québécoise de la macroglobulinémie de Waldenström est basée sur l'incidence des lymphomes non hodgkiniens estimée par la Société canadienne du cancer. La prévalence de la maladie est basée sur un taux de survie à 5 ans d'environ 78 %.

la plus fréquente est la mutation p.L265P dans le gène *MYD88* qui est retrouvée chez plus de 90 % des patients [Jiménez *et al.*, 2013; Varettoni *et al.*, 2013a; Xu *et al.*, 2013].

Lymphome diffus à grandes cellules B de type cellules B activées

Le LDGCB est le lymphome non hodgkinien le plus courant (30 % à 40 % des cas)³. Son incidence annuelle est estimée à 7,14 cas/100 000 personnes [Morton *et al.*, 2006].

L'Organisation mondiale de la Santé reconnaît l'existence de deux entités moléculaires de LDGCB, soit le type cellules B activées (LDGCB-ABC, tiré de l'anglais *activated B cell*) et le type centre germinatif (LDGCB-CG) [Swerdlow *et al.*, 2016]. Parmi les anomalies génétiques retrouvées dans le LDGCB-ABC, la mutation *MYD88* p.L265P est présente chez environ 30 % des patients [Rovira *et al.*, 2016; Bohers *et al.*, 2014; Ngo *et al.*, 2011]. De plus, au moins huit autres mutations dans le gène *MYD88* ont été identifiées et sont retrouvées chez environ 10 % des patients [Rovira *et al.*, 2016; Bohers *et al.*, 2014; Ngo *et al.*, 2011].

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

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

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur estime qu'il effectuera de 100 à 120 tests par année chez des patients potentiellement atteints de la MW. Ces chiffres ne tiennent pas compte des patients atteints de LDGCB-ABC et de LDGCBPC-LT⁴. Notons qu'une seule analyse sera faite par patient.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hématologie et pathologie.

3.5 Brève description de la situation actuelle

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

3.6 Données médico-administratives

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

³ Société canadienne du cancer (SCC). Lymphome diffus à grandes cellules B [site Web], disponible à : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/non-hodgkin-lymphoma/non-hodgkin-lymphoma/diffuse-large-b-cell-lymphoma/?region=qc> (consulté le 14 septembre 2016).

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

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

3.8 Assurance qualité

La qualité et la quantité d'ADN seront vérifiées par densité optique et par un test d'amplification des acides nucléiques. Ce dernier sera effectué sur une série de fragments standards de tailles différentes afin d'établir le degré de dégradation de l'ADN. Par la suite, chaque réaction analytique inclura un témoin positif (muté), un témoin négatif (non-muté, type sauvage), et une réaction sans ADN (vérification de la contamination des réactifs). Tous les échantillons seront analysés en duplicata. La valeur de cycle seuil (C_t) de chaque échantillon contrôle sera notée pour assurer la sensibilité d'une analyse à l'autre. Un échantillon positif sera réévalué toutes les 10 à 12 réactions pour assurer la reproductibilité. Chaque nouvelle préparation des réactifs sera comparée à l'ancienne pour assurer la qualité.

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

3.9 Remplacement d'un autre test

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

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

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

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

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

prédictive positive était de 95,9 % alors que la valeur prédictive négative était de 100 % [Xu *et al.*, 2013].

Une partie de l'étude publiée par Ansell et ses collaborateurs [2014], avait comme objectif de comparer l'efficacité du séquençage de type Sanger et de la PCR en temps réel allèle-spécifique à identifier la présence de la mutation *MYD88* p.L265P. Des échantillons de moelle osseuse dont les cellules CD19+ CD138+, sélectionnées ou non, ou des cellules issues de ganglions lymphatiques (non sélectionnées) ont été utilisées. Le génotype de 20 des 39 patients atteints de MW a été déterminé par les deux méthodes de génotypage. Au total, la mutation a été mise en évidence chez les 20 patients. Tous les échantillons positifs par séquençage (n = 15) l'étaient également par la PCR. Toutefois, l'utilisation de la PCR a permis de mettre en évidence 5 échantillons mutés supplémentaires, soit l'équivalent d'un gain de sensibilité de 25 % [Ansell *et al.*, 2014].

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

Sélection des cellules B provenant des échantillons de moelle osseuse

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

Sélection des cellules B provenant des échantillons de sang périphérique

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

prélèvement d'un échantillon de moelle osseuse soit considéré en présence d'un résultat négatif obtenu sur un échantillon de sang périphérique afin de valider le statut mutationnel de *MYD88* [Xu *et al.*, 2014].

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.2 Valeur pronostique

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

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

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

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

4.3 Valeur thérapeutique

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

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

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

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

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

Étude de phase I

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

Étude de phase II

Une étude prospective et multicentrique de phase II avait pour objectifs de déterminer l'efficacité et l'innocuité de l'ibrutinib pour le traitement des patients atteints de MW et d'évaluer l'influence du statut mutationnel de *MYD88* et *CXCR4* (tiré de l'anglais *C-X-C chemokine receptor type 4*) sur le taux de réponse des patients. L'étude comportait 63 patients atteints de la MW ayant déjà reçu au moins un traitement pour cette indication. L'âge médian du groupe était de 63 ans (44 à 86 ans) et comprenait 48 hommes (76 %). Selon le International Prognostic Scoring System⁵ de la MW [Morel *et al.*, 2009], le risque de mortalité était faible pour 14 patients (22 %), intermédiaire pour 27 patients (43 %) et élevé pour 22 patients (35 %). Au total, 56 patients (89 %) avaient la mutation *MYD88* p.L265P et 21 patients (34 %) avaient une mutation *CXCR4* WHIM⁶. Tous les patients ayant une mutation *CXCR4* WHIM avaient aussi la mutation *MYD88* p.L265P [Treon *et al.*, 2015a]. Deux cas non mutés pour *CXCR4* avaient une mutation dans le gène *MYD88* qui n'avait pas pu être détectée par la PCR allèle-spécifique. Un patient avait la mutation *MYD88* p.S243N alors que l'autre patient avait une mutation *MYD88* p.L265P due à une substitution différente de celle habituellement observée [Treon *et al.*, 2015b]. Il n'y avait pas de différence significative entre les patients selon le statut mutationnel de *MYD88* et de *CXCR4* sauf pour une plus forte incidence d'adénopathie chez les patients ayant un *CXCR4* de type sauvage comparativement aux patients *CXCR4* WHIM (68,3 % contre 33,3 %; $p = 0,01$) [Treon *et al.*, 2015a].

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

⁶ *CXCR4* WHIM représente un ensemble d'une vingtaine de mutations à l'extrémité C-terminale de la protéine *CXCR4*. L'acronyme WHIM (tiré de l'anglais *warts, hypogammaglobulinemia, infections and myelokathexis*) est utilisé en référence au syndrome WHIM dans lequel les mêmes mutations sont retrouvées [Poulain *et al.*, 2016].

Les paramètres d'évaluation primaire étaient le taux de réponse globale (réponse mineure⁷ ou mieux) et le taux de réponse majeure (réponse partielle⁸ ou mieux) établis selon les critères du National Comprehensive Cancer Network [Anderson *et al.*, 2012]. Le plus haut taux de réponse a été obtenu chez les patients ayant une mutation dans *MYD88* et aucune mutation dans *CXCR4* et le plus bas taux de réponse chez les patients n'ayant pas de mutation dans les deux gènes (tableau 2). Les patients ayant une mutation dans *MYD88* et *CXCR4* avaient une réponse significativement moins bonne que les patients ayant seulement une mutation dans *MYD88* relativement à :

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

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

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

⁷ Réduction du niveau d'IgM sérique supérieure ou égale à 25 % et inférieure à 50 %. Absence de nouveaux symptômes ou de signes de progression de la maladie [Anderson *et al.*, 2012].

⁸ Réduction du niveau d'IgM sérique supérieure ou égale à 50 %, diminution de l'adénopathie/organomégalie. Absence de nouveaux symptômes ou de signes de progression de la maladie [Anderson *et al.*, 2012].

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Étude de phase III

Une étude de phase III visant principalement à évaluer l'effet de l'addition de l'ibrutinib au rituximab⁹ sur la survie sans progression des patients atteints de MW est présentement en cours (NCT02165397). Un des volets est une étude à devis ouvert sur 31 patients n'ayant pas répondu au rituximab. Les résultats préliminaires ont été présentés au congrès annuel de l'European Hematology Association [Dimopoulos *et al.*, 2016].

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

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

⁹ Le rituximab (Rituxan^{MC} de Roche) est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre l'antigène CD20 fixé à la surface des lymphocytes B matures et de certaines cellules tumorales.

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

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

Source : Dimopoulos *et al.*, 2016.

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

* Un patient n'était pas évaluable.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Source : Wilson *et al.*, 2015.

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

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

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

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

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

Aucune étude de cohorte visant à déterminer l’efficacité de l’ibrutinib pour le traitement du LDGCBPC-LT n’a été repérée lors de la recherche documentaire ou n’est enregistrée sur le site de ClinicalTrials.gov¹⁰. Une étude de cas fait état d’un patient âgé de 62 ans atteint de LDGCBPC-LT (type ABC) récidivant à plusieurs reprises au niveau de la jambe. Environ sept ans après le diagnostic, une récurrence systémique a entraîné le début du traitement à l’ibrutinib et mené à une rémission complète du patient. Toutefois, le statut mutationnel de *MYD88* chez ce patient n’a pas été rapporté [Gupta *et al.*, 2015].

4.4 Validité analytique

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

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

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

¹⁰ ClinicalTrials.gov. Search Results – ibrutinib [site Web], disponible à : <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=ibrutinib&pg=1> (consulté le 3 novembre 2016).

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

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

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

Source : Jiménez *et al.*, 2014.

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

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

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

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

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

Source : Xu *et al.*, 2013.

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

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

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

Source : Xu *et al.*, 2013.

Abréviations : C_t : cycle seuil; N : nombre.

4.5 Données fournies par le demandeur

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

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

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

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

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

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

Un troisième échange d'échantillons a été entrepris avec l'Hôpital général de Toronto, mais le demandeur s'attendait à recevoir les résultats au cours de la première semaine de novembre 2016¹¹.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

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

¹¹ Information transmise par Yury Monczak, Ph.D. co-directeur du laboratoire de diagnostic moléculaire de l'HGJ (18 octobre 2016).

l'ajout potentiel de cette analyse au *Répertoire*.

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

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

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

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

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

Macroglobulinémie de Waldenström

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

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

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

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

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

Lymphome diffus à grandes cellules B de type cellules B activées

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

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

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

Lymphome diffus à grandes cellules B cutané primaire de type jambe

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

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

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

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

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

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

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

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

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

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

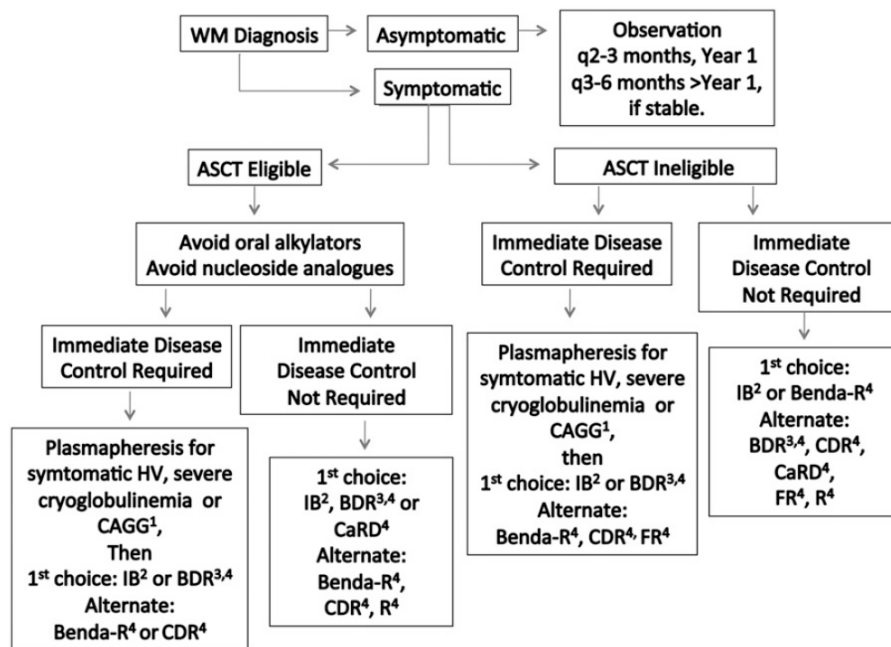
- ✓ Les membres du comité reconnaissent la valeur diagnostique du test pour la macroglobulinémie de Waldenström et sa valeur pronostique pour la gammopathie monoclonale d'IgM de signification indéterminée au regard des données cliniques publiées et présentées en appui. Cependant, selon les experts consultés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

ANNEXE A

Algorithmes de traitement des patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström

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

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



Source : Treon, 2015.

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

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

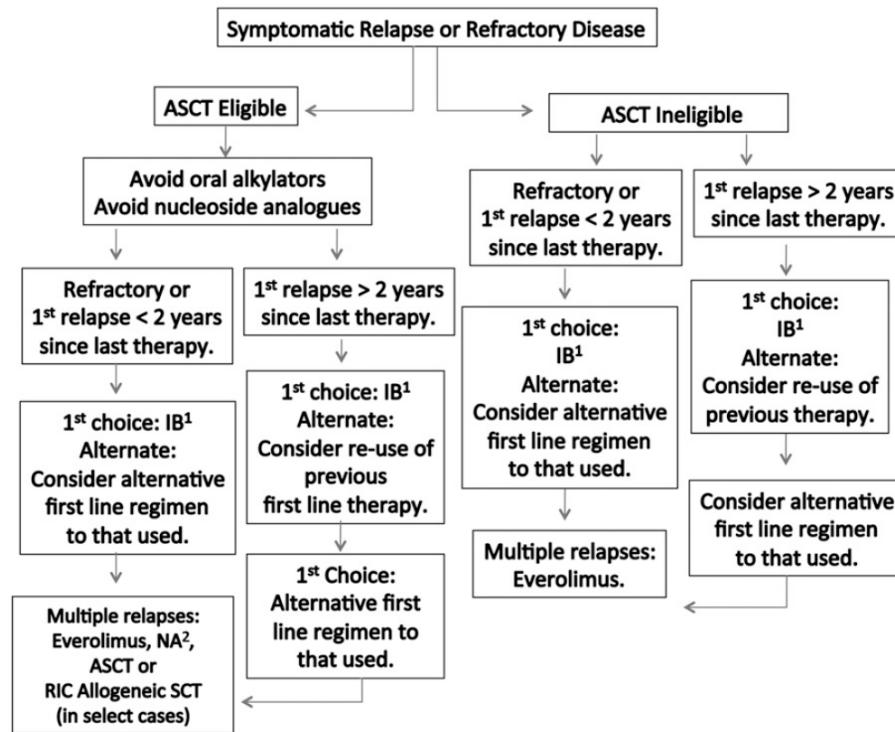
² Can be considered in patients who are not wild type for MYD88 and for those patients without bulky adenopathy or Bing-Neel syndrome.

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

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

A clinical trial should be considered whenever possible.

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



Source : Treon, 2015.

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

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

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

A clinical trial should be considered whenever possible.

RÉFÉRENCES

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

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

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

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