

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

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

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

Mise en garde

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

Conflit d'intérêts

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

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

Aux fins de la validation de cet avis, les experts consultés sont :

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

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

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

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

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

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

2.3 Modalités d'administration du test

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

2.4 Société ou concepteur

EntroGen, Inc. (Tarzana, CA, É.-U.).

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

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

- Canada : recherche seulement
- États-Unis : recherche seulement
- Union européenne : diagnostic (CE-IVD)² et recherche

2.6 Valeur pondérée : 201,50

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

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

3.2 Description de la maladie visée

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

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

L'EGFR est surexprimé dans 60 % à 80 % des carcinomes colorectaux, faisant de la voie de l'EGF une cible thérapeutique de choix [Field et Lipton, 2007]. Cette surexpression est entre autres responsable de l'activation du cycle cellulaire, de l'invasion tumorale et de la stimulation de l'angiogénèse [CEPO, 2011; Mendelsohn et Baselga, 2000]. Le cétuximab (Erbitux^{MC}, ImClone LLC) et le panitumumab (Vectibix^{MC}, Amgen Inc.) ont été conçus pour inactiver la voie de l'EGF.

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

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

Le cétuximab est un anticorps monoclonal chimérique murin et humain qui se lie de façon spécifique au récepteur de type 1 du EGF humain, désigné par HER1 (sigle de l'anglais *human epidermal growth factor receptor 1*), inhibant la cascade tyrosine kinase afin d'induire l'arrêt de la croissance cellulaire et l'apoptose [Saridaki *et al.*, 2010]. Le panitumumab est un anticorps monoclonal recombinant, entièrement humain, dont le mode d'action est le même que celui du cétuximab [Keating, 2010]. Malgré une amélioration marquée de l'arsenal chimiothérapeutique, le taux de survie à 5 ans demeure faible (13 %) chez les patients atteints d'un CCRm [ACS, 2015].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

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

3.4 Spécialités médicales concernées

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

3.5 Brève description de la situation actuelle

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

Indications et contre-indications des anti-EGFR

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

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

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

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

3.6 Données médico-administratives

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

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

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

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

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

3.8 Assurance qualité

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

3.9 Remplacement d'un autre test

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

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Le génome humain contient trois gènes *RAS* très homologues sur le plan des séquences nucléotidiques, mais fonctionnellement distincts, soit *KRAS*, *NRAS* et *HRAS*. Des mutations oncogéniques touchant l'un des gènes *RAS* sont détectées dans environ 30 % des cancers humains. La fréquence des mutations activatrices *KRAS* et *NRAS* parmi les tumeurs colorectales est différente. En effet, Peeters et ses collaborateurs [2015] ont réalisé une étude dont l'objectif était d'établir la prévalence des mutations somatiques *RAS*, globale et par exon, parmi 2 832 cas de CCRm ayant reçu le panitumumab au cours de 3 essais randomisés contrôlés de phase III [Peeters *et al.*, 2015], soit les études PRIME [Douillard *et al.*, 2013], 20050181 [Peeters *et al.*, 2014] et 20020408 [Peeters *et al.*, 2013].

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

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

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

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

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

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

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

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

4.2 Valeur pronostique

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

4.3 Valeur prédictive

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.4 Validité analytique

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

Limite de détection

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

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

Répétabilité

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

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

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

La précision

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

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

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

Réactivité croisée

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

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

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

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

Limite des blancs

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

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

Accuracy

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

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

INTERPRETATION	The Entrogen kit can accurately identify positive and negative samples.
OUTCOME/LIMITATIONS	<ul style="list-style-type: none"> ▪ There is still the need to validate accuracy for the detection of all 10 mutations detectable by the EntroGen kit. Due to the rarity of some mutations and non-availability of commercial standards, this is an on-going process and both HRM and the EntroGen kit are run in parallel. ▪ Standards from Horizon Dx will be used to complete accuracy validation as they become available commercially.

Limit of detection

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

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

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

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

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

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

Les deux scénarios reposent principalement sur les éléments suivants :

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

Scénario 1

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

Ce scénario repose sur les éléments suivants :

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

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

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

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

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

Scénario 2

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

Ce scénario repose sur les éléments suivants :

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

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

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

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

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

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

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

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

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

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

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

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

9 RECOMMANDATIONS DE L'INESSS

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

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

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

BIBLIOGRAPHIE

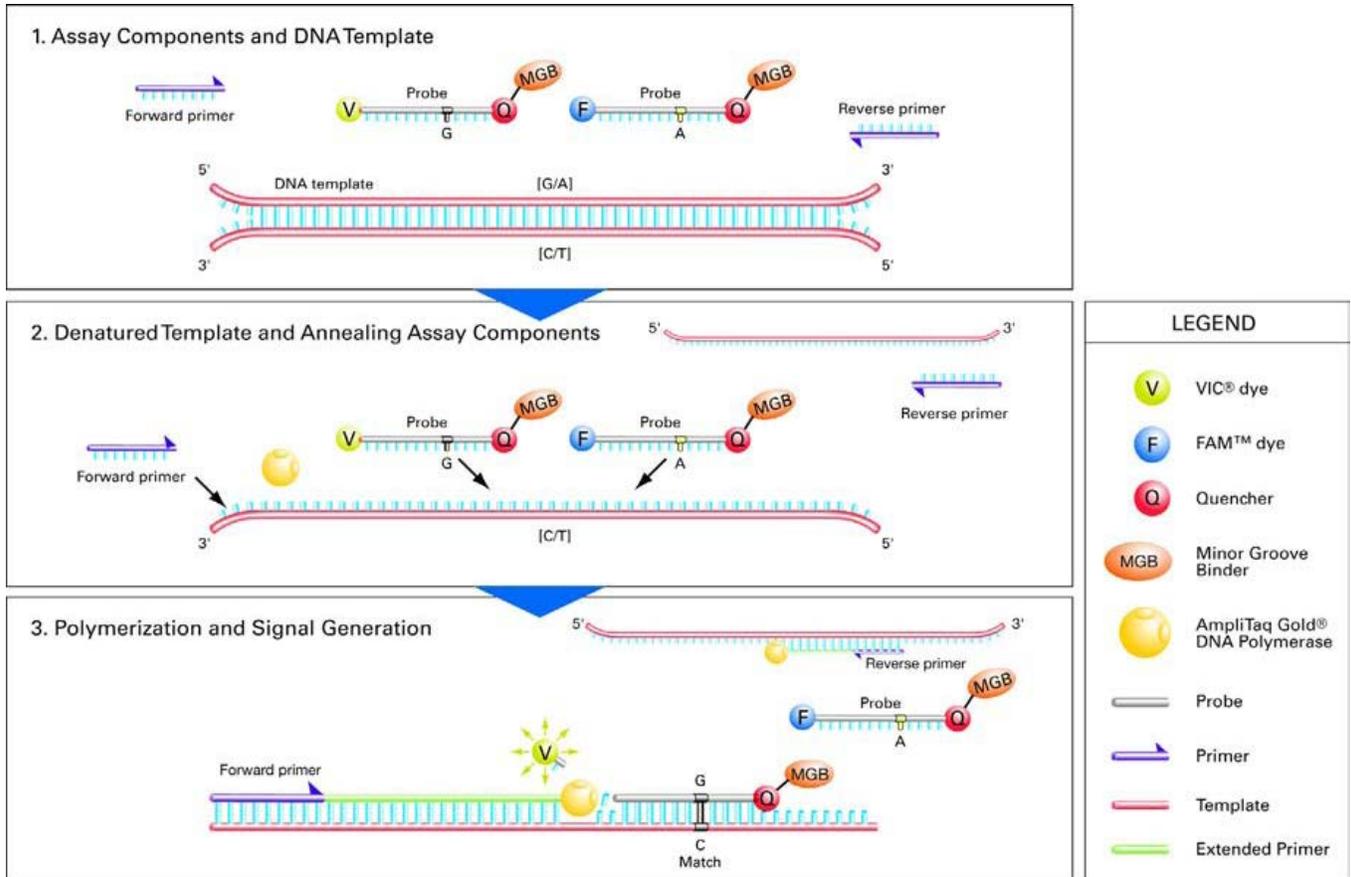
- Allegra CJ, Rumble RB, Hamilton SR, Mangu PB, Roach N, Hantel A, Schilsky RL. Extended RAS gene mutation testing in metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy: American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion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

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

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

ANNEXE A

Essai TaqMan^{MC}



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