

JUIN 2017

AVIS

Détection du transcrit EGFRvIII
(EGFR : *Epidermal growth factor
receptor*)

Transmission au ministre : 28 avril 2017
Publication officielle : 27 juin 2017

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

DÉTECTION DU TRANSCRIT EGFRvIII (EGFR : *EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR*) (RÉFÉRENCE – 2016.03.001R)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** Centre universitaire de santé McGill (CUSM)
- 1.2 Date de transmission de l'avis au ministre :** 28 avril 2017
- 1.3 Date de publication de l'avis :** 27 juin 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 et le D^r Cédric Yansouni n'ont pas participé aux délibérations et se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

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

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

- D^r Benjamin Ellezam, neuropathologiste, CHU Ste-Justine
- D^r Maxime Richer, neuropathologiste, CHU de Sherbrooke

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

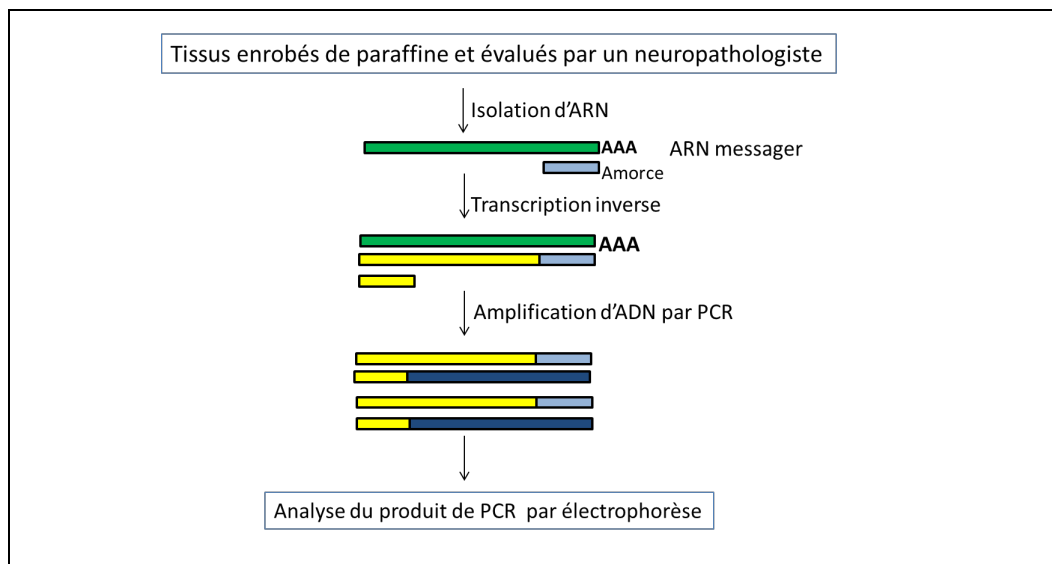
Détection du transcrit déficient de la variante III du gène *EGFR* (EGFR vIII) par réaction de transcription inverse (RT, de l'anglais *reverse transcriptase*) suivie d'une amplification en chaîne par polymérase (PCR)

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

La détection de la variante III du gène *EGFR* est effectuée par une transcription inverse suivie d'une PCR à partir d'ARN prélevé de tissus tumoraux fixés dans le formaldéhyde et enrobés de paraffine, ou congelés.

Une paire d'amorces dont les séquences sont spécifiques à l'ARN messenger du gène *EGFR*, permet de générer un brin d'ADN complémentaire (ADNc) grâce à l'action de la transcriptase inverse. L'ADNc est ensuite utilisé comme matrice d'amplification par PCR classique. Les amorces spécifiques au gène *EGFR* sont conçues pour l'amplification exclusive de la variante III du gène *EGFR* qui se distingue par une délétion des exons 2 à 7.

Figure 1 Principe de la PCR après la transcription inverse



Source : adapté des données fournies par le demandeur.

2.3 Modalités d'administration du test

Les spécimens proviennent du laboratoire de neuropathologie de l'Institut neurologique de Montréal et sont acheminés au laboratoire central de biologie moléculaire du CUSM site Glen. L'ARN est extrait des spécimens ainsi transférés, et utilisé pour la réaction de transcription inverse suivie d'une PCR spécifique pour détecter la présence du transcrit *EGFR* VIII.

2.4 Société ou concepteur

Selon le demandeur, il s'agit d'une analyse maison adaptée du protocole publié par Yoshimoto et ses collaborateurs avec pour modification l'utilisation du gène contrôle (*housekeeping gene*) de la phosphoglycérate kinase (*PGK*) au lieu de la phosphoribosyltransférase 1 hypoxanthine (*HPRT1*) [Yoshimoto *et al.*, 2008].

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Test maison non homologué par Santé Canada, ni par la FDA.

2.6 Valeur pondérée : 149,76

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients ayant obtenu un diagnostic de glioblastome ou de gliomes diffus sans mutation sur le gène de l'isocitrate déshydrogénase (*IDH* non muté).

3.2 Description de la maladie visée

Les gliomes sont des tumeurs cérébrales à différenciation gliale, astrocytaire ou oligodendrogiale, retrouvées au niveau de l'encéphale ou de la moelle épinière. Entre 2009 et 2013 aux États-Unis, les gliomes représentaient 24,7 % des tumeurs primaires cérébrales et d'autres sites du système nerveux central (SNC) [Ostrom *et al.*, 2016].

La classification traditionnelle utilisée est celle de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) qui distribue les gliomes en quatre grades (OMS grade I à IV) selon leurs caractéristiques histopathologiques, leur degré de malignité et plus récemment leur profil d'expression moléculaire [Louis *et al.*, 2016].

Le grade I s'applique à des lésions au potentiel de prolifération peu élevé et dont la résection chirurgicale est généralement suffisante pour guérir les patients. À partir du grade II, les gliomes sont généralement de nature infiltrante. On parle alors de gliomes diffus. En dépit d'une faible prolifération, ils sont souvent récurrents. La plupart des gliomes de grade II tendent à progresser vers des degrés plus avancés de malignité [Louis *et al.*, 2016].

La désignation de grade III est généralement réservée aux lésions présentant des caractéristiques histologiques évidentes de malignité, notamment une augmentation de l'activité mitotique. On les nomme gliomes diffus anaplasiques ou gliomes anaplasiques [Louis *et al.*, 2016].

Les gliomes à différenciation astrocytaire de grade IV sont appelés glioblastomes. En plus d'être diffus et de montrer une activité mitotique soutenue, ils présentent également de la nécrose et de la prolifération microvasculaire ou l'un des deux. Le glioblastome est la forme la plus agressive des gliomes. Son incidence est estimée à 3,20 cas pour 100 000 habitants [Ostrom *et al.*, 2016]. Son pronostic varie de 10 à 31 mois [Louis *et al.*, 2016].

Des anomalies moléculaires récurrentes permettent de stratifier les glioblastomes en trois groupes principaux : *IDH*¹ non muté, *IDH* muté ; et *NOS*² [Louis *et al.*, 2016]. Le glioblastome *IDH* non muté ou primaire survient dans 90 % des cas, et atteint les patients à un âge médian de 62 ans, tandis que le glioblastome *IDH* muté ou secondaire couvre 10 % des cas et atteint les patients à un âge médian de 44 ans. Le glioblastome secondaire a un pronostic plus favorable que le glioblastome primaire [Louis *et al.*, 2016].

Selon l'OMS, l'amplification du gène *EGFR* est observée dans 35 % des cas de glioblastome, tandis que l'expression constitutive de sa forme tronquée, *EGFR* VIII (délétion des exons 2 à 7) est observée chez 20 % à 30 % des patients atteints de glioblastome primaire [Weller *et al.*, 2014; Lv *et al.*, 2012].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le nombre de tests annuels attendus pour le Québec est estimé à 150 pour les trois années suivant l'addition de l'analyse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*).

3.4 Spécialités médicales concernées

Neuropathologie, neuro-oncologie, radio-oncologie et neurochirurgie

¹ *IDH* de l'anglais « *isocitrate dehydrogenase gene* ».

² *NOS* de l'anglais « *Not Otherwise Specified* » terme pour identifier les tumeurs sans expression de l'une des altérations génétiques utilisées pour le diagnostic.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Auparavant, les tumeurs du système nerveux central étaient stratifiées sur la seule base de leurs propriétés histologiques et immunohistologiques. Récemment, l'OMS a publié une refonte de cette classification afin d'y incorporer l'identification des anomalies moléculaires récurrentes, permettant de définir des catégories de tumeurs plus homogènes [Louis *et al.*, 2016]. Selon les experts consultés, les tumeurs cérébrales sont de plus en plus diagnostiquées sur la base de leur profil moléculaire. Cette nouvelle approche de diagnostic sera graduellement utilisée au détriment d'une évaluation histologique (annexe A).

3.6 Données médico-administratives

La présente analyse serait complémentaire à la détermination du statut de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (code 65147) et à la détection des mutations dans les gènes *IDH1* et *IDH2* (code 65065) qui sont des analyses dont l'introduction au *Répertoire* a été recommandée par l'INESSS. L'analyse proposée n'est pas inscrite au *Répertoire* et, selon les données du MSSS, n'a pas fait l'objet d'envoi hors Québec.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, les glioblastomes constituent un défi thérapeutique majeur avec des résultats décevants. L'amplification d'*EGFR* et la présence du transcrit de la variante III du gène *EGFR* sont fréquentes dans ces tumeurs et présentent une possibilité thérapeutique.

3.8 Assurance qualité

Selon le demandeur, le test est réalisé en suivant les normes de contrôle qualité international du type Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Des contrôles de qualité sont réalisés à chaque étape du test, de la réception de l'échantillon à l'émission du rapport. Pour chaque test, des contrôles positifs de sensibilité et des contrôles négatifs sont effectués. Les résultats sont analysés en première instance par les techniciennes, ensuite par le professionnel scientifique responsable du test. La validation du test est faite par le neuropathologiste.

3.9 Remplacement d'un autre test

L'analyse ne remplace aucun test déjà inscrit au *Répertoire*.

4 DONNÉES PROBANTES

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

- Une méta-analyse réalisée sur huit études visant à démontrer si l'amplification d'*EGFR* ou la mutation *EGFR* vIII seraient des facteurs de prédiction indépendants pour la survie des patients atteints de glioblastomes et d'astrocytomes anaplasiques [Chen *et al.*, 2015]
- Une étude primaire sur la valeur pronostique du génotypage d'*EGFR* vIII [Montano *et al.*, 2011]
- Quatre études primaires sur la valeur thérapeutique ou prédictive du génotypage d'*EGFR* vIII [Schuster *et al.*, 2015; Uhm *et al.*, 2011; Sampson *et al.*, 2010; Prados *et al.*, 2009]

- Trois études primaires sur la validité analytique [Faulkner *et al.*, 2015; Weller *et al.*, 2014; Yoshimoto *et al.*, 2008]

4.1 Valeur diagnostique

Ce test ne peut être utilisé ni pour préciser, ni pour établir un diagnostic. Aucune valeur diagnostique ne lui a été attribuée. De ce fait, la valeur diagnostique d'EGFR VIII ne sera pas abordée dans cet avis.

4.2 Valeur pronostique

4.2.1 Corrélation entre la mutation EGFR VIII et la survie globale des patients atteints de glioblastome

Méta-analyse de Chen et ses collaborateurs [2015]

La méta-analyse de Chen et ses collaborateurs avait pour objectif de déterminer si l'amplification du gène *EGFR* ou la mutation EGFR VIII a un impact sur le pronostic des patients atteints d'astrocytome anaplasique ou de glioblastome (GBM). La survie globale et le statut d'amplification du gène *EGFR* ou la présence de la mutation EGFR VIII des patients étaient connus. Le paramètre d'évaluation étant la survie globale, le rapport des risques instantanés a été calculé dans un intervalle de confiance de 95 % pour la survie des patients présentant l'amplification d'*EGFR* et la mutation EGFR VIII comparés à celle des patients n'ayant aucune de ces modifications.

Des huit articles analysés, trois sous-groupes de patients ont été constitués, dont le premier portait sur ceux atteints de GBM avec amplification d'*EGFR*, le deuxième sur ceux avec un astrocytome anaplasique et le troisième comptait les patients présentant un GBM en plus de la mutation EGFR VIII. Dans le troisième sous-groupe, constitué de trois études et regroupant 507 patients, une hétérogénéité significative entre les études a été rapportée ($Q = 12,47$; $p = 0,002$; $I^2 = 83,96\%$). De plus, l'analyse a révélé une différence non significative entre les patients porteurs de la mutation EGFR VIII et ceux qui ne la portaient pas (RRI = 1,321; IC95 % : 0,881 à 1,981; $p = 0,178$).

Selon les auteurs, les résultats de cette méta-analyse indiquent un manque d'évidence inhérent au potentiel pronostique du biomarqueur EGFR VIII chez les patients atteints de GBM [Chen *et al.*, 2015].

Étude de Montano et ses collaborateurs [2011]

Dans une étude prospective ouverte menée auprès de 73 patients dont le GBM a été nouvellement diagnostiqué, Montano et ses collaborateurs ont évalué le rôle pronostique de la mutation EGFR VIII sur la survie globale des patients. Ces derniers avaient bénéficié d'une résection importante de leur tumeur en plus de recevoir de la radiothérapie et du témozolomide (TMZ) en adjuvant. Une analyse univariée révèle entre autres facteurs biologiques la présence d'EGFR VIII comme étant associée à une survie globale significativement plus longue (RRI : 2,59; IC95 % 1,40 à 4,79; $p = 0,0023$). L'analyse multivariée a été réalisée en utilisant le modèle à risques proportionnels de Cox ajusté suivant les facteurs de pronostic majeurs incluant l'âge (≤ 60 ans / > 60 ans), l'indice de performance KPS³, (< 70 / ≥ 70), la résection (totale / partielle), le statut de méthylation du promoteur du gène *MGMT* (+ / -), l'index Ki67 ($\leq 20\%$ / $> 20\%$) et l'expression du gène

³ L'indice de performance de Karnofsky (de l'anglais *Karnofsky Performance Status*) indique l'indépendance fonctionnelle des patients avec un glioblastome et est un facteur clé pour mesurer leur qualité de vie.

PTEN (tableau 1). Ce modèle dévoile qu'un âge plus élevé que 60 ans ($p = 0,0182$)⁴, un score KPS de 70 et plus ($p = 0,0055$), un index Ki67 de 20 % ou moins ($p = 0,0032$) et l'expression d'EGFR vIII ($p = 0,0128$) sont des facteurs de pronostic indépendants pour la survie globale (tableau 1).

Les auteurs concluent qu'EGFR vIII est un biomarqueur qui prédit une survie globale prolongée chez les patients atteints de GBM qui bénéficient d'une intervention chirurgicale et d'une radiothérapie combinée au TMZ en adjuvant [Montano *et al.*, 2011].

Tableau 1 Analyse multivariée pour évaluer la survie globale en fonction des paramètres biologiques des patients atteints de glioblastomes.

PARAMÈTRES BIOLOGIQUES	RRI (IC95 %)	VALEUR $p^{\dagger}$
EGFR vIII	0,4347 (0,2264 – 0,8349)	0,0128
Âge	2,1374 (1,1412 – 4,0033)	0,0182
KPS	0,4264 (0,2344 – 0,7757)	0,0055
Ki67*	2,4150 (1,3472 – 4,3292)	0,0032
Méthylation du promoteur de <i>MGMT</i>	0,7171 (0,3743 – 1,3739)	0,3186
Expression de <i>PTEN</i>	1,1725 (0,6509 – 2,1120)	0,5979
Résection	1,0703 (0,4613 – 2,4832)	0,8749

Source : tableau adapté [Montano *et al.*, 2011].

Abréviations : EGFR vIII : de l'anglais « *Epidermal growth factor receptor variant 3* »; KPS : de l'anglais, « *Karnofsky performance status* » (KPS) IC = intervalle de confiance; *MGMT* : O6 – Méthylguanine-ADN Méthyltransférase; *PTEN* : De l'anglais « *Phosphatase and tensin homolog* »; RRI : Rapport des risques instantanés

*l'index de Ki67 (un marqueur de prolifération cellulaire) est de 20 % ou moins.

[†]la valeur p est calculée en comparant un sous-groupe à un groupe témoin ne présentant pas les paramètres biologiques observés.

⁴ Selon les auteurs, l'âge (> 60 ans) était considéré comme un facteur de mauvais pronostic (communication avec le Dr. Larocca Luigi Maria le 20 janvier 2017).

4.3 Valeur thérapeutique ou prédictive

4.3.1 Un inhibiteur d'EGFR inclus dans la prise en charge du glioblastome

Prados et ses collaborateurs [2009]

Dans une étude prospective de phase II, Prados et ses collaborateurs visaient à déterminer l'efficacité d'une combinaison entre l'erlotinib (agent inhibiteur d'*EGFR*), la radiothérapie et le TMZ pour traiter 65 patients adultes dont le glioblastome (GBM) ou le gliosarcome (GSM) a été nouvellement diagnostiqué. Les marqueurs moléculaires *EGFR*, *EGFR* VIII, *PTEN* et le statut de méthylation de *MGMT* ont été analysés dans les tissus prélevés chez les patients. Les paramètres d'évaluation étaient la survie globale et la survie sans progression.

Une cohorte historique de 128 patients a été utilisée à titre de groupe contrôle. Aucune différence statistique pour l'âge, le score KPS, la fréquence et l'étendue de la résection n'a été constatée entre les deux groupes.

Dans la cohorte à l'étude, 6 des 58 patients analysés par IHC exprimaient *EGFR* VIII. Une association directe entre l'amélioration de la survie globale ou de la survie sans progression et *EGFR* VIII n'a pas été établie dans cette étude [Prados *et al.*, 2009].

Étude de Sampson et ses collaborateurs [2010]

Une étude de phase II de Sampson et ses collaborateurs visait à évaluer l'immunogénicité d'un vaccin composé de peptide ciblant *EGFR* VIII (PEP VIII-KLH), et à estimer la survie sans progression et la survie globale des 18 patients vaccinés. Ces patients ayant nouvellement obtenu un diagnostic de glioblastome ont reçu des doses du vaccin jusqu'à ce qu'une toxicité ou une évolution de la tumeur soit observée. Le modèle de régression de Cox a été utilisé pour la comparaison des survies sans progression et des survies globales. L'expression d'*EGFR* VIII a été analysée par immunohistochimie (IHC). Une cohorte constituée de 17 patients, et dont la tumeur n'avait pas progressé pendant 4 semaines après la fin de la radiothérapie, a été utilisée à titre de groupe contrôle.

La survie sans progression médiane rapportée à partir du diagnostic histologique était de 14,2 mois (IC95 % : 9,9 à 17,6 mois) pour les patients vaccinés et de 6,3 mois (IC95 % : 4,1 à 9 mois) pour ceux de la cohorte contrôle. Le rapport des risques instantanés (RRI) en comparant ces deux cohortes était 2,4 [IC95 % : 1,2 à 5,0]; $p = 0,013$. De plus, malgré l'ajustement de la survie sans progression selon l'âge et l'indice KPS, les patients vaccinés avaient près de deux fois plus de risque instantané de survie de progression que les patients du groupe témoin (RRI = 2,2 [IC95 % 1,0 à 4,8]; $p = 0,041$).

La survie globale médiane suite au diagnostic histologique était de 26 mois (IC95 % : 21 à 47,7 mois) chez les 18 patients vaccinés et de 15 mois (IC95 % : 11,4 à 19,7 mois) pour les 17 de la cohorte contrôle. Cependant, en ajustant les données en fonction de l'âge et de l'indice KPS, le risque instantané de survie des patients vaccinés était 5 fois plus élevé que celui des patients du groupe témoin qui étaient traités au TMZ (RRI = 5,1 [IC95 % : 1,9 à 13,9]; $p = 0,001$).

La survie globale médiane à partir d'un diagnostic histologique chez les 6 patients ayant développé les anticorps spécifiques à *EGFR* VIII s'élevait à 47,7 mois (IC95 % : 20,8 à un nombre infini de mois) tandis que pour les 8 patients n'ayant pas développé d'anticorps, elle était de 22,8 mois (IC95 % : 21 à 34,9 mois). Un ajustement en fonction de l'âge, de l'indice

KPS et de la méthylation du promoteur *MGMT* a révélé que la survie globale à partir de la période de vaccination ($p = 0,025$) ou du diagnostic histologique ($p = 0,025$) des patients ayant développé les anticorps était plus grande que celle des patients sans anticorps (RRI = 0,08 [IC95 % : 0,007 à 0,93]; $p = 0,043$).

À la suite de cette étude, les auteurs concluent que les patients ayant reçu un vaccin constitué d'un peptide contenant un épitope spécifique d'EGFR vIII et qui ont nouvellement reçu un diagnostic de glioblastome exprimant EGFR vIII, développent une immunité spécifique contre EGFR vIII. Les anticorps ainsi formés permettent d'éliminer les cellules qui expriment EGFR vIII de façon récurrente. Toutefois, l'évidence d'efficacité ne pourrait être établie qu'en menant une étude randomisée contrôlée de phase III contre un placebo [Sampson *et al.*, 2010].

Étude d'Uhm et ses collaborateurs [2011]

Une étude menée auprès de 96 patients adultes et nouvellement diagnostiqués d'un GBM avait pour objectif d'évaluer un inhibiteur potentiel d'*EGFR* (gefitinib) pour le traitement de ces derniers. La survie globale des patients avec une amplification d'*EGFR* (20 des 55 échantillons analysés) a été comparée à celle des patients chez qui une mutation EGFR vIII avait été détectée (12 des 20 échantillons avec amplification d'*EGFR*), sans toutefois révéler de différence entre les deux groupes. De plus, la survie sans progression demeurait la même malgré le traitement au gefitinib. Les résultats n'ont montré aucune corrélation entre le bénéfice clinique de ce traitement et l'amplification d'*EGFR* ou la présence de la mutation EGFR vIII [Uhm *et al.*, 2011].

Étude de Schuster et ses collaborateurs [2015]

Dans une étude multicentrique de phase II (étude ACT III), Schuster et ses collaborateurs ont évalué l'innocuité et la réponse immunitaire spécifique à la mutation EGFR vIII de 65 patients atteints de glioblastome (GBM) et ayant subi une résection totale de la tumeur combinée à une chimiothérapie. Bien que des études précurseurs (ACTIVATE/ACT II) aient procédé à une évaluation semblable, le but de cette étude était principalement de confirmer leurs résultats. Le produit analysé est un vaccin constitué d'un peptide d'EGFR vIII-KLH⁵ et susceptible d'accroître la survie sans progression (rindopepimut).

La médiane de survie sans progression était 9,2 mois (IC95 % : 7,4 à 11,3), tandis que celle de la survie globale était 21,8 mois (IC95 % : 17,9 à 26,5) à partir du premier jour de l'étude, soit environ 3 mois après le diagnostic.

Les auteurs proposent un modèle dans lequel des anticorps dirigés contre une mutation EGFR vIII permettraient d'éliminer les cellules tumorales exprimant ce marqueur. Toutefois une étude pivot, randomisée, à double insu, et incluant un grand nombre de patients (ACT IV), donnerait une crédibilité plus importante aux observations de la présente étude [Schuster *et al.*, 2015].

4.4 Validité analytique

Étude de Yoshimoto et ses collaborateurs [2008]

Dans cette étude, Yoshimoto et ses collaborateurs ont développé une RT-PCR en temps réel pour la détection d'EGFR vIII. Les 59 échantillons tumoraux de glioblastome fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP) étaient appariés à des échantillons congelés.

⁵ KLH de l'anglais « *keyhole limpet hemocyanin* » est un conjugué à l'hémocyanine.

Les 6 échantillons FFEP et leurs équivalents congelés, analysés par RT-PCR étaient positifs. En opposition à l'immunohistochimie, la RT-PCR a montré une meilleure corrélation entre les résultats générés à partir d'échantillons FFEP et ceux issus de tissus congelés ($r = 0,76$; $p = 3,7 \times 10^{-11}$). De ce fait, la RT-PCR effectuée sur les échantillons FFEP et dont les résultats obtenus à partir d'échantillons congelés étaient sans équivoque, démontrait une sensibilité (100 %) et une spécificité (94 %) assurant la détection de la mutation EGFR VIII.

L'application d'une analyse rigoureuse de l'étude a révélé que la RT-PCR effectuée sur des échantillons FFEP demeurait sensible (93 %, IC 95 % : 78 à 100) et spécifique (98 %, IC 95 % : 93 à 100), avec une aire sous la courbe ROC de 0,95. La valeur prédictive positive était de 93 % (IC 95 % : 78 à 100) tandis que la négative était de 98 % (IC 95 % : 93 à 100).

De plus, une concordance de 100 % entre la RT-PCR conventionnelle et la RT-PCR en temps réel a été rapportée.

L'analyse développée pour la détection d'EGFR VIII est caractérisée d'être hautement sensible et spécifique par les auteurs. Selon eux, elle permet sans ambiguïté la détection de la mutation recherchée à partir d'échantillons FFEP. De ce fait, la RT-PCR permettrait ainsi de palier au manque d'échantillons congelés, et d'effectuer un plus grand nombre d'analyses [Yoshimoto *et al.*, 2008].

Étude de Faulkner et ses collaborateurs [2015]

Une étude, avec pour objectif d'analyser l'expression d'EGFR et d'EGFR VIII et d'évaluer différentes méthodes de détection, a été menée par Faulkner et ses collaborateurs auprès de 50 patients atteints de glioblastome. Les 51 échantillons étaient prélevés à partir de tissus tumoraux fixés dans le formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP). De même, une comparaison entre l'immunohistochimie (IHC) et la RT-PCR utilisées comme méthodes de détection d'EGFR VIII a été réalisée.

Des 51 échantillons analysés, 16 (31 %) étaient positifs aussi bien en utilisant l'IHC que la RT-PCR. Un échantillon s'est révélé positif par IHC et négatif par RT-PCR. Toutefois, une concordance presque parfaite entre les méthodes IHC et RT-PCR pour la détection d'EGFR VIII a été rapportée ($\kappa = 0,954$; $p < 0,001$). Se référant à la RT-PCR, la sensibilité et la spécificité de détection par l'IHC s'élevaient à 100 % et à 97 % respectivement.

Les auteurs reconnaissent l'IHC et la RT-PCR comme étant des méthodes adéquates pour la détection d'EGFR VIII. Néanmoins, ils mentionnent l'éventualité de résultats discordants dans une infime partie des échantillons analysés, lors de l'utilisation d'une des deux méthodes. Il est également recommandé de choisir une méthode en fonction de l'expertise du laboratoire [Faulkner *et al.*, 2015].

Étude de Weller et ses collaborateurs [2014]

L'étude prospective réalisée auprès de 184 patients avec un glioblastome nouvellement diagnostiqué visait à comparer différentes méthodes de détection d'EGFR VIII en vue d'évaluer le rôle pronostique. Les méthodes utilisées étaient la RT-PCR, l'IHC, ainsi que l'amplification multiplexe de sondes dépendant d'une ligation (MLPA⁶). Au total, la mutation somatique EGFR VIII a été détectée par IHC dans l'échantillon tumoral de 34 patients. La MLPA a permis de détecter 17 des 29 porteurs révélés par IHC. Deux cas positifs additionnels repérés par MLPA étaient négatifs pour l'IHC. Cependant, l'analyse par RT-PCR

⁶ De l'anglais *Multiplex Ligation – dependent Probe Amplification*.

rapportait 29 cas positifs à l'EGFR vIII. En considérant la mutation EGFR vIII uniquement chez les cas de glioblastome avec amplification d'*EGFR*, 30 %, 47 %, et 54 % des échantillons positifs ont été respectivement détectés par MLPA, IHC et RT-PCR.

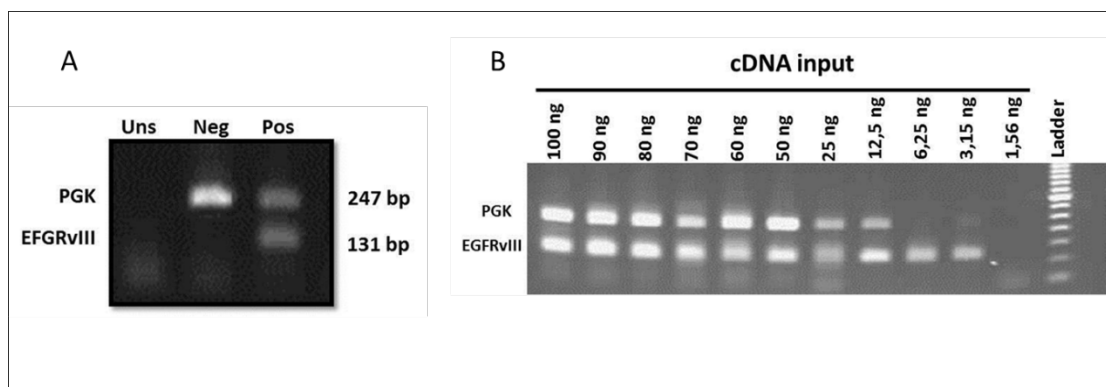
Une comparaison des trois méthodes révèle la RT-PCR comme étant la méthode la plus sensible relativement à la détection d'EGFR vIII chez les patients atteints de glioblastome. Les auteurs relèvent que l'analyse de RT-PCR est plus sensible lorsque la détection se fait sur des tissus congelés. Dans les cas où il s'agirait des tissus fixés dans le formaldéhyde et enrobés de paraffine, ils recommandent l'utilisation de l'immunohistochimie combinée à la RT-PCR [Weller *et al.*, 2014].

4.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a validé l'analyse proposée en effectuant une RT-PCR sur 30 échantillons de tissus tumoraux fixés dans le formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP). Les échantillons ont été au préalable analysés par un pathologiste. Au moins 20 % de cellules tumorales étaient présentes dans chaque échantillon. L'ARN a été prélevé et sa qualité confirmée avant son utilisation pour la RT-PCR. Le gène contrôle (de l'anglais *housekeeping gene*) de la phosphoglycérate kinase (*PGK*), dont l'expression demeure constante d'un échantillon à l'autre, a été amplifié dans chaque échantillon comme témoin positif de l'amplification (figure 2A). Cet exercice permet de discriminer les échantillons non conformes en cas d'absence d'amplification du gène *PGK*.

La sensibilité et la spécificité des résultats ont été évaluées en testant les échantillons analysés dans un laboratoire externe (tableau 2). Toutes les réactions présentaient une amplification du gène *PGK* (tableau 3). La précision a été rapportée en testant simultanément dix répliques de chaque contrôle (répétabilité) par deux techniciens et sur deux journées différentes (reproductibilité). La limite de détection (figure 2B) ainsi que la robustesse de l'analyse proposée ont été validées par le demandeur en se servant de différents instruments et équipements de laboratoire.

Figure 2 Validation qualitative par électrophorèse des échantillons et limites de détection d'ADNc par PCR



Source: figure adaptée des données fournies par le demandeur.

A: Résultats de l'amplification d'EGFR vIII et de *PGK*; cas d'un échantillon non conforme (1^{er} puits), d'un négatif (2^{ème} puits) et d'un positif (3^{ème} puits). B: Limite de détection déterminée par une dilution en série d'ADNc utilisée comme matrice pour la PCR.

Tableau 2 Précision de l'analyse de détection du transcrit EGFR vIII par RT-PCR

VALIDATION INTERNE DES ÉCHANTILLONS	VALIDATION EXTERNE DES ÉCHANTILLONS		TOTAL (N)
	POSITIFS	NÉGATIFS	
POSITIFS	15	0	15
NÉGATIFS	0	15	15
TOTAL	15	15	30

Source : Adapté à partir des données fournies par le demandeur.

Tableau 3 Résultats de l'analyse de 30 échantillons par RT-PCR

ÉCHANTILLONS	AMPLIFICATION DE PGK	AMPLIFICATION D'EGFR VIII	CONFIRMATION PAR SÉQUENÇAGE DE SANGER
NP-1	+	+	Oui
NP-2	+	+	Oui
NP-3	+	+	Oui
NP-4	+	+	Oui
NP-5	+	+	Oui
NP-6	+	-	
NP-7	+	-	
NP-8	+	-	
NP-9	+	-	
NP-10	+	+	Oui
NP-11	+	-	
NP-12	+	-	
NP-13	+	+	Oui
NP-14	+	+	Oui
NP-15	+	-	
NP-16	+	-	
NP-17	+	+	Oui
NP-18	+	+	Oui
NP-19	+	+	Oui
NP-20	+	-	
NP-21	+	-	
NP-22	+	-	
NP-23	+	-	
NP-24	+	+	Oui
NP-25	+	+	Oui
NP-26	+	+	Oui
NP-27	+	-	
NP-28	+	+	Oui
NP-29	+	-	
NP-30	+	-	

Source : Tableau adapté à partir des données fournies par le demandeur (-) négatif, (+) positif.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* du test permettant la détection du transcrit EGFR VIII par une réaction de transcription inverse suivie d'une amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR). Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose essentiellement sur les données fournies par le demandeur. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 4. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Selon le demandeur, 150 analyses seraient réalisées par année suivant son ajout au *Répertoire*.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- L'analyse n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec au cours des dernières années.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 149,76.
- Aucune modification significative de la prise en charge des patients n'est considérée suivant cette analyse.

Tableau 4 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection du transcrit EGFR VIII par une réaction de transcription inverse (RT) suivie d'une amplification en chaîne par polymérase

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre d'analyses anticipé	150	150	150	450
Coûts si introduction de l'analyse	22 464 \$	22 464 \$	22 464 \$	67 392 \$

Ainsi, les coûts liés à l'introduction de l'analyse au *Répertoire* sont estimés à environ 70 000 \$ pour le total des trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Il n'existe à ce jour aucun produit reconnu par Santé Canada pour le traitement des glioblastomes et ciblant la molécule EGFR vIII. L'erlotinib, dont l'indication canadienne n'est pas liée aux glioblastomes, est un produit homologué par Santé Canada qui inhibe la kinase de l'EGFR et celle de sa version tronquée EGFR vIII. Il a fait l'objet d'essais cliniques dans les glioblastomes sans toutefois montrer de résultats concluants en faveur de la survie globale des patients [van den Bent *et al.*, 2009].

Les produits en cours de développement tels que ABT-414 (AbbVie Inc.) et rindopepimut (Celldex Therapeutics Inc.) et ciblant la mutation EGFR vIII ont respectivement été admis en études cliniques randomisées de phase 2⁷ et 3⁸. Sous réserve des résultats de l'étude clinique de phase 3, le rindopepimut a été suggéré comme traitement de première ligne en combinaison avec le témozolomide pour les cas de glioblastomes nouvellement diagnostiqués et exprimant le mutant EGFR vIII. Cependant, la compagnie a annoncé l'interruption de l'étude clinique pivot de phase 3, justifiée par le manque d'efficacité du rindopepimut chez les patients nouvellement diagnostiqués d'un glioblastome avec expression d'EGFR vIII [Celldex Therapeutics, 2016].

Ainsi, l'utilité d'introduire un test de détection pour EGFR vIII dans un protocole thérapeutique des glioblastomes primaires, avant de démontrer l'efficacité des produits qui inhibent l'EGFR vIII, est contestable.

Néanmoins, la présence d'altérations d'EGFR pourrait être, selon les experts, un critère d'inclusion dans certaines études cliniques. Dans ce cas, un test serait effectué à l'externe sans générer de frais.

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

Organisation mondiale de la Santé (OMS)

En janvier 2016, l'OMS a publié une refonte de ses lignes directrices sur la classification des tumeurs du système nerveux central. Bien que l'amplification du gène *EGFR* ait été mentionnée comme une des caractéristiques du glioblastome *IDH*-non muté, aucune valeur thérapeutique ni pronostique n'a été attribuée à la variante III du gène *EGFR* [Louis *et al.*, 2016].

National Comprehensive Cancer Network (NCCN)

En juillet 2016, le NCCN a publié une mise à jour de ses lignes directrices sur le traitement des cancers du système nerveux central. Aucune mention d'un traitement de glioblastome modulé par la détection de la variante III d'*EGFR* n'a été faite [NCCN, 2016].

European Society for Medical Oncology (ESMO)

L'ESMO fait mention de la variante III d'*EGFR* comme étant un marqueur moléculaire caractérisant des glioblastomes à pauvre pronostic, sous réserve des résultats des études cliniques en cours menées sur les inhibiteurs d'*EGFR* [Stupp *et al.*, 2014].

⁷ Numéro de référence de l'étude : NCT02343406. Les détails de cette étude sont disponibles à : <https://clinicaltrials.gov/>.

⁸ Numéro de référence de l'étude : NCT01480479. Les détails de cette étude sont disponibles à : <https://clinicaltrials.gov/>.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Les glioblastomes constituent la forme la plus agressive des tumeurs cérébrales. Bien que ces tumeurs soient classées essentiellement en fonction de critères histologiques, quelques altérations moléculaires parmi lesquelles figurent les statuts IDH1/2 et H3K27 sont également considérés. La mutation EGFR vIII consiste en une délétion des exons 2 à 7 du gène *EGFR* et est détectée chez 20 % à 30 % des patients, sans toutefois être intégrée dans la classification des tumeurs du système nerveux central de l'OMS.

Des études de phase II ont abouti à une réduction des cellules exprimant EGFR vIII lors de l'administration d'un vaccin susceptible d'induire la production d'anticorps inhibiteurs d'EGFR vIII. Toutefois, l'étude de phase III (ACT IV) découlant de ces observations n'a pu les confirmer.

Une méta-analyse regroupant huit articles portant sur des patients atteints de glioblastomes a révélé une survie globale des patients exprimant EGFR vIII, semblable à celle de ceux chez qui son expression n'était pas détectée.

Par ailleurs, les lignes directrices publiées par l'OMS et le NCCN sur la classification des gliomes et la prise en charge des patients atteints de glioblastomes n'ont pas évoqué la mutation EGFR vIII comme étant un indicateur pronostique ou thérapeutique valable.

9 RECOMMANDATION de l'INESSS

Détection du transcrit EGFRvIII (EGFR : *epidermal growth factor receptor*)

La recommandation de l'INESSS

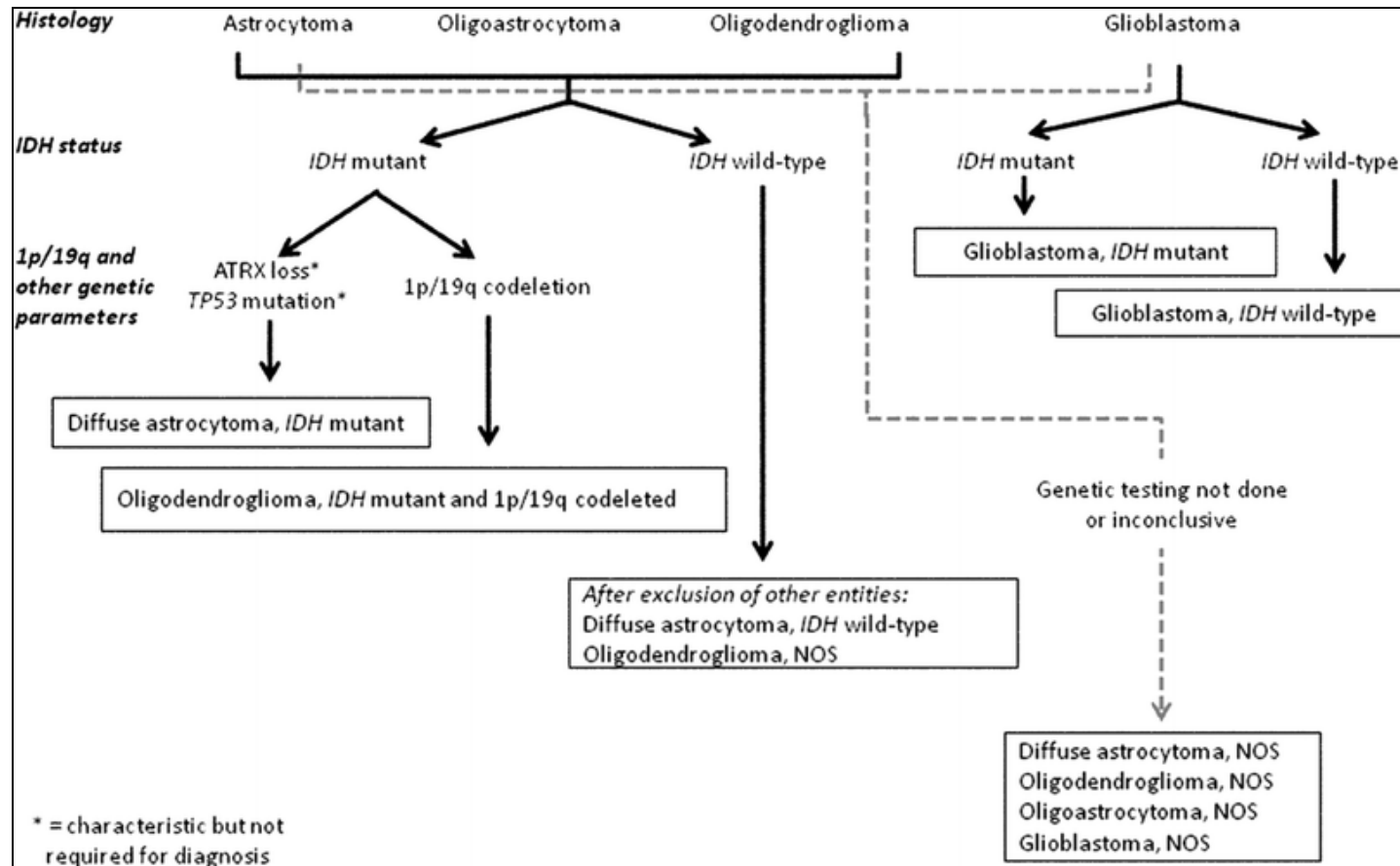
- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précision accompagnant la recommandation

- ✓ Actuellement, les preuves scientifiques publiées sont insuffisantes pour appuyer l'utilité clinique de l'analyse.

ANNEXE A

Algorithme simplifié de la classification des gliomes diffus basés sur des caractéristiques histologiques et génétiques.



Source : Louis *et al.*, 2016.

RÉFÉRENCES

- Celldex Therapeutics. Data Safety and Monitoring Board recommends Celldex's phase 3 study of RINTEGA® (rindopepimut) in newly diagnosed glioblastoma be discontinued as it is unlikely to meet primary overall survival endpoint in patients with minimal residual disease [site Web]. Hampton, NJ : Celldex Therapeutics, Inc.; 2016. Disponible à : <http://ir.celldex.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=959021>.
- Chen JR, Xu HZ, Yao Y, Qin ZY. Prognostic value of epidermal growth factor receptor amplification and EGFRvIII in glioblastoma: Meta-analysis. *Acta Neurol Scand* 2015;132(5):310-22.
- Faulkner C, Palmer A, Williams H, Wragg C, Haynes HR, White P, et al. EGFR and EGFRvIII analysis in glioblastoma as therapeutic biomarkers. *Br J Neurosurg* 2015;29(1):23-9.
- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol* 2016;131(6):803-20.
- Lv S, Teugels E, Sadones J, De Brakeleer S, Duerinck J, Du Four S, et al. Correlation of EGFR, IDH1 and PTEN status with the outcome of patients with recurrent glioblastoma treated in a phase II clinical trial with the EGFR-blocking monoclonal antibody cetuximab. *Int J Oncol* 2012;41(3):1029-35.
- Montano N, Cenci T, Martini M, D'Alessandris QG, Pelacchi F, Ricci-Vitiani L, et al. Expression of EGFRvIII in glioblastoma: Prognostic significance revisited. *Neoplasia* 2011;13(12):1113-21.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Central nervous system cancers. Version 1.2016. Clinical Practice Guidelines in Oncology. Fort Washington, PA : NCCN; 2016. Disponible à : https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Xu J, Kromer C, Wolinsky Y, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2009-2013. *Neuro Oncol* 2016;18(Suppl 5):v1-v75.
- Prados MD, Chang SM, Butowski N, DeBoer R, Parvataneni R, Carliner H, et al. Phase II study of erlotinib plus temozolomide during and after radiation therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme or gliosarcoma. *J Clin Oncol* 2009;27(4):579-84.
- Sampson JH, Heimberger AB, Archer GE, Aldape KD, Friedman AH, Friedman HS, et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4722-9.
- Schuster J, Lai RK, Recht LD, Reardon DA, Paleologos NA, Groves MD, et al. A phase II, multicenter trial of rindopepimut (CDX-110) in newly diagnosed glioblastoma: The ACT III study. *Neuro Oncol* 2015;17(6):854-61.
- Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, Tonn JC, Pentheroudakis G. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25(Suppl 3):iii93-101.

- Uhm JH, Ballman KV, Wu W, Giannini C, Krauss JC, Buckner JC, et al. Phase II evaluation of gefitinib in patients with newly diagnosed Grade 4 astrocytoma: Mayo/North Central Cancer Treatment Group Study N0074. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011;80(2):347-53.
- Van den Bent MJ, Brandes AA, Rampling R, Kouwenhoven MCM, Kros JM, Carpentier AF, et al. Randomized phase II trial of erlotinib versus temozolomide or carmustine in recurrent glioblastoma: EORTC brain tumor group study 26034. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1268-74.
- Weller M, Kaulich K, Hentschel B, Felsberg J, Gramatzki D, Pietsch T, et al. Assessment and prognostic significance of the epidermal growth factor receptor vIII mutation in glioblastoma patients treated with concurrent and adjuvant temozolomide radiochemotherapy. [Erratum appears in *Int J Cancer* 2016;139(4):E9]. *Int J Cancer* 2014;134(10):2437-47.
- Yoshimoto K, Dang J, Zhu S, Nathanson D, Huang T, Dumont R, et al. Development of a real-time RT-PCR assay for detecting EGFRvIII in glioblastoma samples. *Clin Cancer Res* 2008;14(2):488-93.