

AVIS

Analyse combinée des gènes *KRAS-NRAS-BRAF* par séquençage de nouvelle génération pour le traitement du cancer colorectal métastatique

(Référence - 2017.02.002)

Transmission au ministre : 10 janvier 2018
Publication officielle : 12 mars 2018

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

ANALYSE COMBINÉE DES GÈNES *KRAS-NRAS-BRAF* PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION POUR LE TRAITEMENT DU CANCER COLORECTAL MÉTASTATIQUE (RÉFÉRENCE - 2017.02.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU de Sherbrooke

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 10 janvier 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 12 mars 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes en charge de l'analyse dans les laboratoires concernés 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

Monsieur Guy Fink et madame Suzanne Bédard 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 Trung-Nghia Nguyen**, hémato-oncologue, Hôpital Charles-Lemoyne;
- **D^r Patrice Desmeules**, anatomo-pathologiste, IUCPQ;
- **D^r Danh Tran-Thanh**, anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM;
- **D^r Sébastien Labonté**, anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUQ;
- **D^{re} Danuta Balicki**, hémato-oncologue, Clinique Medic Elle.

2 RÉSUMÉ

La décision de recourir à une thérapie anticancéreuse ciblée sur la base de données moléculaires somatiques des patients requiert des méthodes robustes et sensibles pour analyser différents gènes dans une réaction unique et multiplexe. L'utilisation du séquençage de nouvelle génération (SNG) permet entre autres d'identifier simultanément des mutations au sein de plusieurs gènes d'un même échantillon tumoral. L'analyse proposée vise à détecter des mutations somatiques dans les gènes *KRAS*, *NRAS* (codons 12, 13, 59, 61, 117, 146) et *BRAF* (codon 600) des patients susceptibles de recevoir un traitement ayant pour cible moléculaire l'*EGFR*. En outre, la capacité de la mutation *BRAF* V600E à prédire une réponse aux anti-*EGFR* demeure controversée tandis que sa valeur pronostique a été abordée dans plusieurs études.

L'association entre les mutations des gènes *RAS* et la réponse à un anti-*EGFR* (cétuximab et panitumumab) est établie et a été précédemment évaluée par l'équipe de biologie médicale de l'INESSS. Toutefois, une implication additionnelle de la position tumorale d'un cancer colorectal métastatique (CCRm) dans la réponse aux anti-*EGFR* n'a pas été évoquée. Une étude a rapporté la survie globale de 6,8 mois chez l'ensemble des patients atteints de CCRm qui passait à 10,1 mois chez ceux dont le gène *KRAS* était non muté et chez qui la tumeur primaire était localisée dans le côlon gauche. Lorsque la tumeur était située dans le côlon droit, ces valeurs correspondaient respectivement à 4,8 mois et 6,2 mois, bien que cette différence ne soit pas significative. En revanche, la survie sans progression était significativement plus élevée chez les patients au gène *KRAS* non muté avec leur tumeur primaire dans le côlon gauche : 5,4 mois au lieu de 3,6 mois pour l'ensemble des patients.

Par ailleurs, la méta-analyse retenue n'a associé aucune valeur pronostique ni prédictive au statut mutationnel du gène *BRAF* chez les patients atteints de CCRm et porteurs de gènes *RAS* non mutés. Par contre, une étude primaire a rapporté chez les patients atteints d'un cancer colorectal avancé avec un statut mutationnel *BRAF* V600E confirmé, 2,6 fois plus de risques de succomber à cette maladie qu'en l'absence de cette mutation. Plusieurs études menées sur l'utilisation du SNG pour détecter les mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* ont révélé, comparativement aux méthodes conventionnelles, une plus grande sensibilité de cette technique permettant la détection de faibles fréquences mutationnelles (5 % ou moins). Des mutations du gène *KRAS* initialement rapportées comme non existantes chez 15,9 % des patients atteints de CCRm ont pu être détectées à l'aide du SNG et ensuite confirmées par les méthodes conventionnelles. Toutefois, cette étude a également relevé la nécessité d'un personnel qualifié et d'une expertise fiable pour analyser et interpréter les résultats complexes du SNG.

L'introduction de cette analyse engendrerait des coûts supplémentaires d'environ 27 000 \$ par année. En revanche, elle serait associée à une réduction de dépenses annuelles en traitement anti-*EGFR* d'environ 100 000 \$ au CHU de Sherbrooke et de 2,5 M\$ d'une centaine de patients atteints de CCRm au Québec.

L'ASCO, l'ESMO, le NCCN et l'INESSS (Unité d'évaluation en oncologie) reconnaissent l'utilité clinique de l'analyse des 12 codons des gènes *KRAS*, *NRAS* et du codon 600 du gène *BRAF*. Toutefois, elles recommandent de tester la mutation *BRAF*V600E uniquement pour la stratification des patients atteints de cancer colorectal, tandis que les codons 12, 13, 59, 61, 117, 146 des gènes *KRAS* et *NRAS* devront être évalués afin de sélectionner les patients atteints de CCRm qui recevront des anti-*EGFR*.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Il s'agit d'une analyse combinée pour détecter des mutations somatiques des gènes *KRAS*, *NRAS*, et *BRAF* par séquençage de nouvelle génération (SNG) afin d'orienter le traitement du cancer colorectal métastatique.

L'analyse a pour but de détecter les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique chez qui un traitement avec anti-*EGFR*¹ serait inefficace en raison de la présence de mutations dans les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 des gènes *KRAS* et *NRAS*. Elle servira également à évaluer la mutation *BRAF*V600E en tant que marqueur pronostique.

3.2 Description de la méthode

Le demandeur utilise la trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 (TST-15) et la plateforme MiSeq^{MC} de la compagnie Illumina pour effectuer le SNG. Cette trousse est conçue pour réaliser une PCR multiplexée à partir d'ADN prélevé d'échantillons de tissus fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine. La trousse TST-15 permet une couverture par amplicons de régions spécifiques de 15 gènes associés au cancer, et incluant les trois gènes visés par cette analyse : *AKT1*, *BRAF*, *EGFR*, *ERBB2*, *FOXL2*, *GNA11*, *GNAQ*, *KIT*, *KRAS*, *MET*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *RET*, *TP53*. La détection de mutations dont la fréquence allélique est supérieure à 5 % avec une couverture minimum de 500 X peut être effectuée par la trousse TST-15 en produisant deux bibliothèques indexées par échantillon d'ADN dans une PCR multiplexée [Illumina, 2016].

¹ Type de thérapie administrée pour le traitement du cancer colorectal métastatique et qui cible le récepteur du facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor receptor*, *EGFR*) chez les patients non porteurs de mutations activatrices de ce récepteur [Tremblay, 2014].

Le SNG est une méthode qui tire largement parti des approches de séquençage en parallèle. La technologie de SNG repose essentiellement sur quatre étapes :

- Construction des bibliothèques et préparation de la matrice (amplification)
- Séquençage
- Analyse des données

Procédure du séquençage de nouvelle génération sur la plateforme Illumina

L'ADN génomique est amplifié à l'aide d'une réaction par polymérase en utilisant une série d'amorces consensus, sens et antisens. Cette étape est suivie d'une ligation enzymatique en position terminale 5' des amorces d'adaptateurs avec index (i7 et i5) responsables de l'hybridation sur le « *flow cell* » et permettant un séquençage à index double et à paires de bases appariées. Chaque index agit comme un code barres unique qui permet aux amplicons d'échantillons individuels d'être regroupés en pool après l'amplification par PCR afin de générer une seule bibliothèque lors du séquençage. Les produits de PCR formés sur un support solide et déjà hybridés à des oligonucléotides sont amplifiés par *bridge* PCR de manière à former des *clusters*. Pour le séquençage, quatre types de bases de terminateurs réversibles (bases RT) sont ajoutées et le brin d'ADN séquencé est allongé par l'insertion d'un nucléotide à la fois [Bentley *et al.*, 2008]. Les nucléotides fluorescents sont ajoutés au brin séquencé, alors que la fluorescence émise par chaque *cluster* résulte d'une excitation au laser. Un bloqueur en position terminale 3' est ajouté après chaque cycle du processus de séquençage et tout nucléotide non incorporé est retiré avant l'ajout de quatre nouvelles bases RT. Les données du séquençage des bibliothèques sont recueillies par détection optique d'une caméra CCD² qui capture l'image de la fluorescence émise [Bentley *et al.*, 2008]. L'analyse des mutants est ensuite effectuée grâce à un logiciel bio-informatique adapté, suivie de l'interprétation des résultats (figure 1).

² Caméra CCD (de l'anglais *Charge Coupled Device*) est un type de caméra détenant un récepteur à transfert de charge qui convertit un signal lumineux en un signal électrique.

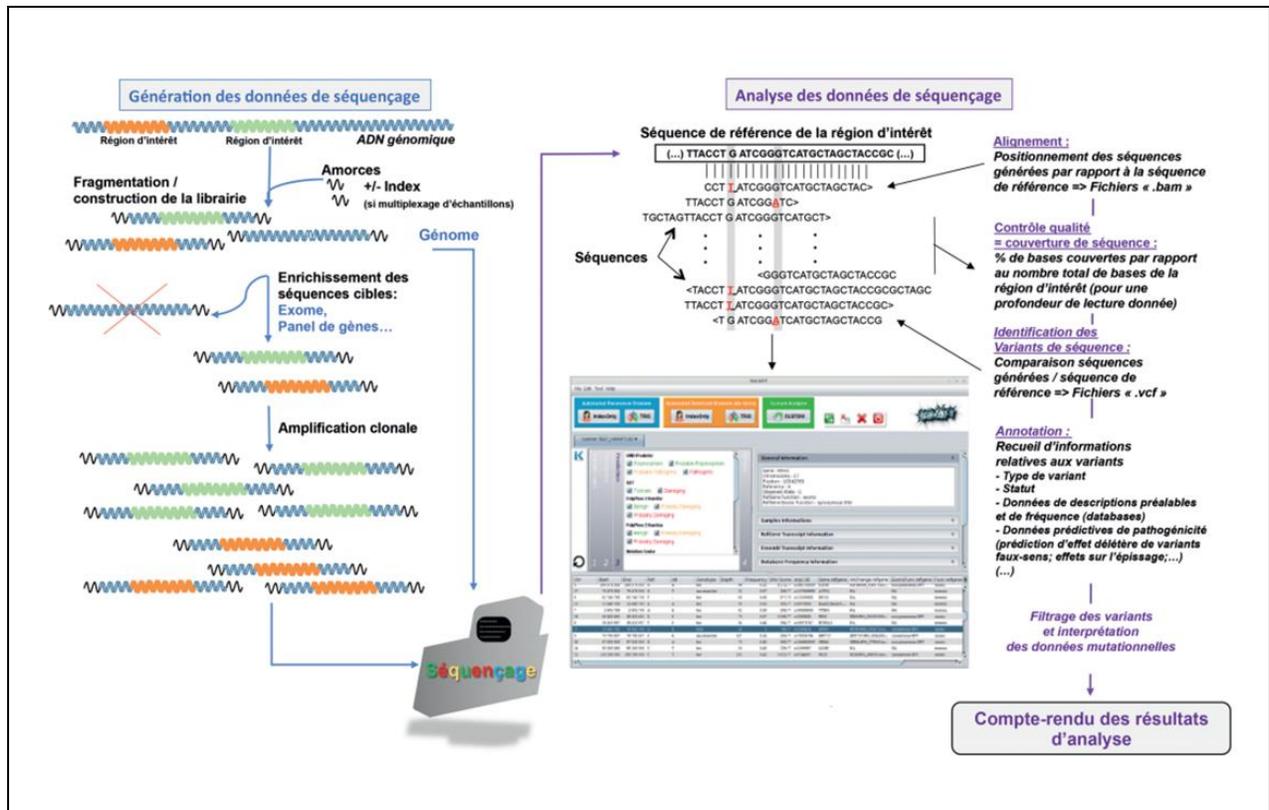


Figure 1 Les principales étapes de génération et d'analyse des données de séquençage de nouvelle génération

Les principales étapes de génération et d'analyse de données de SNG sont schématisées dans le cadre des techniques actuelles. Source : Krahn *et al.*, 2016.

Abréviations : bam : Les fichiers « . bam » sont des fichiers compressés .sam (*Sequence Alignment/Map format*) qui représentent un format standard suivant lequel tout type de séquences peut être aligné. vcf : Il s'agit d'un format *variant calling* qui est le format standard pour répertorier un grand nombre de séquences avec modification d'un nucléotide unique (SNP).

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les spécimens préparés par le laboratoire de pathologie sont acheminés au laboratoire de génétique moléculaire du CHUS constitué des locaux pré-PCR et « post-PCR ». Une fois les échantillons reçus au local pré-PCR, le travail préanalytique, l'extraction de l'ADN et la préparation des librairies de séquençage sont effectués. Le séquençage de nouvelle génération est réalisé dans le local post-PCR du laboratoire.

Temps de réponse souhaité

Le temps de réponse est de quatre semaines. Toutefois, le demandeur prévoit de l'ajuster afin d'effectuer un traitement anti-*EGFR* de troisième intention. En revanche, suite à l'approbation récente du panitumumab en première intention de traitement du cancer colorectal métastatique³, le demandeur envisage un

³ Extrait de l'Avis au ministre sur Vectibix [INESSS, 2017].

ajustement du temps de réponse à dix jours ouvrables⁴. Il est à noter que, selon les experts consultés, les recommandations suggèrent un temps de réponse de dix jours ouvrables⁵.

3.4 Société ou concepteur

La trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 (TST-15) est commercialisée par la compagnie Illumina.

3.5 Homologation

La trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 n'est pas homologuée par Santé Canada ni par la FDA.

Valeur pondérée : 389,95

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients atteints d'un cancer colorectal métastatique considérés pour une thérapie avec les anti-*EGFR*.

4.2 Description de la maladie visée

Incidence du cancer colorectal

Selon les statistiques canadiennes sur le cancer, le cancer colorectal est le deuxième en importance, représentant 13 % de tous les cancers [SCC, 2017]. En 2017 au Canada, 14,5 % des nouveaux cas de cancers chez les hommes et 11,5 % chez les femmes seront colorectaux [SCC, 2017]. En fonction de l'âge, on observe une croissance de la distribution du cancer colorectal qui passe de 4 % chez les personnes âgées de 15 à 29 ans, à 11 % chez ceux de 50 ans à 69 ans et à 17 % chez les plus de 85 ans [SCC, 2017]. Une projection de 2017 au Québec révèle que 3 800 hommes et 3 000 femmes recevront un diagnostic de cancer colorectal et que respectivement 1 350 et 1 200 en mourront. Le cancer colorectal représente 12 % de tous les décès attribuables au cancer [SCC, 2017].

Mutations des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*

Les mutations des gènes *KRAS* et *NRAS* sont respectivement rencontrées dans approximativement 30 % à 50 % et 2 % à 7 % des tumeurs colorectales, tandis que celles de *BRAF* sont présentes dans moins de 10 % de ces tumeurs [BCBS, 2016; Dienstmann et Tabernero, 2016]. La mutation *BRAF* V600E semble être un marqueur de mauvais pronostic, alors que la présence de mutations de *KRAS* et *NRAS* situées dans les exons 2 (codons 12 et 13), 3 (codons 59 et 61) et 4 (codons 117 et 146) prédisent un échec au traitement avec un anti-*EGFR* [BCBS, 2016; INESSS et GÉOQ, 2016]. Il est à noter que les mutations des gènes *RAS* ou

⁴ Communication personnelle avec le demandeur le 6 octobre 2017.

⁵ Communications personnelles avec les experts entre le 1^{er} et le 3 octobre 2017.

BRAF sont mutuellement exclusives, à l'exception de cas rares où elles coexistent [Hsu *et al.*, 2016; De Roock *et al.*, 2010; Hawkes et Cunningham, 2010].

Prise en charge et traitement

Une fois un diagnostic de cancer colorectal établi, sa prise en charge dépend du stade d'évolution de la maladie. De même, l'éventualité de récurrence du cancer colorectal demeure étroitement liée au stade de la maladie lors du traitement [IQWiG, 2017; SCC, 2017]. La formation de métastases présage fréquemment un mauvais pronostic associé à une condition néoplasique incurable. De ce fait, les patients reçoivent un traitement capable de ralentir la croissance de la tumeur et de leur assurer une bonne qualité de vie le plus longtemps possible [IQWiG, 2017]. Le cancer colorectal est associé à la surexpression cellulaire du récepteur du facteur de croissance épidermique (*EGFR* : *Epidermal Growth Factor Receptor*), faisant de lui la cible de traitements basés sur des anticorps monoclonaux. De ce fait, les traitements anti-*EGFR*, à l'instar de l'ERBITUX^{MC} (cétuximab) et du VECTIBIX^{MC} (panitumumab) ont nettement démontré un bénéfice de survie chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique (CCRm) [INESSS et GÉOQ, 2016]. Le kétuximab est admis au Canada pour un traitement de première intention accompagné de chimiothérapie dans le traitement du cancer colorectal métastatique [INESSS et GÉOQ, 2016; Bristol-Myers, 2013]. De plus, le statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* est reconnu comme outil de sélection des patients atteints de CCRm grâce à leur potentiel prédictif de la réponse à un traitement anti-*EGFR* [Benson *et al.*, 2017; BCBS, 2016; INESSS et GÉOQ, 2016].

La localisation de la tumeur primaire chez les patients atteints de CCRm

Les résultats de travaux publiés, ainsi que le guide clinique du National Comprehensive Cancer Network pour le cancer du côlon, ont tous relevé l'impact pronostique et prédictif de la localisation de la tumeur primaire dans la réponse à un traitement anti-*EGFR* [Benson *et al.*, 2017; Moretto *et al.*, 2016; Brulé *et al.*, 2015]. Il en ressort que la tumeur localisée dans le côlon gauche présage une meilleure réponse à un traitement avec anti-*EGFR* chez les patients atteints du cancer colorectal métastatique dont les gènes *RAS* sont de type sauvage [Messersmith, 2017; Moretto *et al.*, 2016; Venook *et al.*, 2016; Brulé *et al.*, 2015]. En revanche, la localisation de la tumeur primaire dans le côlon droit prédit une mauvaise réponse au traitement, et ce, même en l'absence de mutations dans les gènes *RAS* [Benson *et al.*, 2017; Moretto *et al.*, 2016; Venook *et al.*, 2016]. En effet, la disparité entre ces deux localisations de la tumeur primaire pourrait résider dans la différence entre leurs profils moléculaires [Venook *et al.*, 2016].

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Le demandeur prévoit environ 70 analyses par année pour la population desservie par le CHU de Sherbrooke. Pour le Québec, le chiffre projeté est d'environ 1 200 analyses par année en fonction du nombre de demandes d'analyse des mutations du gène *KRAS* enregistrées en 2016.

4.4 Situation actuelle

Le *Répertoire* contient un code individuel pour chacune des analyses (voir tableau 1 section 4.5). Actuellement, pour la population traitée pour un CCRm au CHUS, toutes les analyses *KRAS/NRAS/BRAF* sont réalisées localement. Le demandeur a mentionné que les analyses *KRAS* ne sont plus envoyées au CHUM. Au moment de commencer la mise en service de l'analyse proposée, le test *NRAS* n'était pas encore disponible à l'Hôpital général juif⁶.

La thérapie utilisant les anti-*EGFR* est un traitement standard présentement utilisé au Québec pour le traitement du cancer colorectal métastatique chez les patients qui ont des gènes *NRAS* et *KRAS* de type sauvage.

Selon la liste des médicaments des établissements publiée le 18 août 2017, les anti-*EGFR* (panitumumab et cétuximab) en monothérapie sont recommandés pendant une durée maximale de trois mois, en traitement de troisième intention du CCRm exprimant l'*EGFR* chez les personnes :

- Présentant un gène *KRAS* non muté;
- Présentant un statut de performance selon l'ECOG⁷ de 0 à 2;
- Réfractaires aux chimiothérapies à base d'irinotécan et d'oxaliplatine et qui ont reçu un traitement par fluoropyrimidine [RAMQ, 2017].

De plus, en association avec une combinaison d'agents de chimiothérapie, le panitumumab est recommandé pendant une durée maximale de trois mois, en traitement de première intention du cancer colorectal métastatique chez les personnes :

- dont la tumeur présente un gène *RAS* non muté;
- présentant une contre-indication ou une intolérance sérieuse au bévacizumab;
- et présentant un statut de performance selon l'ECOG à 0 ou 1 [RAMQ, 2017].

⁶ Communication électronique personnelle avec D^r Sébastien Lévesque, médecin généticien et directeur médical du laboratoire de génétique moléculaire du CHUS (6 novembre 2017).

⁷ Eastern Cooperative Oncology Group : Le score ECOG est une échelle de performance permettant de chiffrer l'état de santé général d'un patient. Elle varie des grades 0 à 5.

4.5 Données médico-administratives

Au Québec, aucun test du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après *Répertoire*) ne permet une analyse simultanée des codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 des gènes *KRAS* et *NRAS*, incluant la mutation *BRAF V600E*. Cette analyse ne fait pas l'objet d'envoi hors Québec. Un récapitulatif des données médico-administratives de tests portant sur les gènes à analyser est présenté dans le tableau 1.

Tableau 1 Volumétrie des analyses figurant au *Répertoire* et impliquant l'un des gènes à l'analyse.

NUMÉRO D'ANALYSE	MUTATIONS DÉTECTÉES [†]	NOMBRE D'ANALYSES EN 2016	VALEUR PONDÉRÉE	COÛT TOTAL (\$)
65 002	<i>BRAF V600E</i>	841	63,00	52 983
65 070	<i>KRAS</i> , codons 12 et 13	1 598	95,00	150 212
65149*	<i>NRAS</i> , codons 12, 13, 61 et 146	n.d.	201,50	n.d

Source : données du ministère de la Santé et des Services sociaux.

Abréviations : n.d. : non déterminé

* : Cette analyse a été inscrite au *Répertoire* sur recommandations de l'INESSS en juin 2016.

† : Toutes les analyses actuellement inscrites au *Répertoire* sont effectuées par TAAN : Tests d'amplification des acides nucléiques.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permet de :

- combiner des analyses complémentaires dont l'accès au matériel génétique est limité;
- récupérer 20 % des patients mutés qui ne sont pas détectés par les analyses existantes;
- détecter un plus grand nombre de mutations, notamment en incluant les codons 59 et 117, et économiser près de 100 000 \$ par an en traitements inefficaces au CHUS;
- réduire le temps technique requis pour la réalisation de trois analyses en une seule permet de faire une économie d'environ 105 \$.

4.7 Assurance qualité

Selon le demandeur,

- Les coupes de tissus sont révisées par les pathologistes du CHUS afin d'identifier la zone tumorale et déterminer son pourcentage de cellules. L'analyse est effectuée seulement si le pourcentage de cellules tumorales est supérieur à 30 % dans la zone identifiée.
- Chacune des analyses comporte un témoin positif à la limite de sensibilité de l'essai (5 %) ainsi qu'un témoin négatif. Plus de 80 % des séquences doivent avoir une valeur de qualité supérieure à Q30⁸ avec une couverture supérieure à 500 X.
- Un génotypage par PCR en temps réel est effectué en parallèle pour éliminer tout risque de contamination. Tout le travail technique et d'interprétation est réalisé par le personnel qualifié du CHUS et est sujet aux politiques de qualité des laboratoires du CHUS.

Depuis 2016, le demandeur participe au test de compétence du College of American Pathologists (CAP) pour le séquençage de nouvelle génération sur tumeur solide (SNGST), et ce, entre autres pour l'analyse de mutations dans *KRAS/NRAS/BRAF*. Au moment de l'évaluation de l'analyse proposée, deux tests (SNGST-A 2016 et SNGST-B 2016) portant le numéro d'identification 7204813-01 (CAP) ont été effectués.

5 DONNÉES PUBLIÉES

Une recherche structurée de la littérature a permis d'identifier des études primaires qui évaluent les performances pronostiques, thérapeutiques et analytiques de la caractérisation du statut mutationnel des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, majoritairement par séquençage de nouvelle génération (SNG) et chez les patients susceptibles d'être traités avec des anti-*EGFR*. La méta-analyse présentée pour évaluer la valeur thérapeutique de l'analyse portait sur des études randomisées et contrôlées utilisant le SNG ou une autre méthode pour détecter les mutations recherchées [Rowland *et al.*, 2015].

⁸ Un score Q est une mesure de qualité évaluant la probabilité d'erreur lors du séquençage. Q10 : une erreur pour 10 bases (90 % d'exactitude); Q20 indique une erreur pour 100 bases (99 % d'exactitude); Q30 indique une erreur pour 1 000 bases (99,9 % d'exactitude); Q40 : une erreur pour 10 000 bases (99,99 % d'exactitude); Q50 : une erreur pour 100 000 bases (99 999 % d'exactitude) [Illumina, 2011].

5.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue pour évaluer le potentiel diagnostique de cette analyse puisque le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

5.2 Valeur pronostique

Le centre demandeur prévoit utiliser la détection de la mutation *BRAF* V600E comme un outil pronostique inclus dans l'analyse proposée.

Deux études ont été repérées pour évaluer la valeur pronostique de la mutation *BRAF* V600E dans un contexte où les mutations des gènes *KRAS* et *NRAS* ont été également recherchées chez les patients atteints d'un cancer colorectal avancé [Gong *et al.*, 2017; Summers *et al.*, 2017].

5.2.1 Évaluation de la valeur pronostique de mutations des gènes *KRAS*, *BRAF* et *NRAS* chez des patients atteints de cancer colorectal avancé

L'étude rétrospective de Summers et ses collaborateurs [2017] a été effectuée chez 2 157 patients atteints de cancer colorectal avancé et qui n'avaient préalablement jamais reçu un traitement de chimiothérapie à visée palliative. Les échantillons analysés provenaient des études COIN-B et COIN, respectivement de phases 2 et 3 [Wasan *et al.*, 2014; Maughan *et al.*, 2011].

Au total, 2 mutations distinctes ont été repérées dans *BRAF*, soit les mutations V600E et D594G, chez 9 % des patients (199/2 097).

Les auteurs ont constaté que seulement 1 % des tumeurs colorectales *BRAF* V600E (2/178) arboraient également une mutation *RAS* comparativement à 47 % pour les tumeurs sans mutation *BRAF* (894/1 908) ($p < 1,1 \times 10^{-13}$ après correction pour l'ensemble des tests).

Considérant uniquement les cas dont la tumeur était de statut *RAS* non muté et dans un contexte « microsatellites stables⁹», les auteurs ont calculé la valeur pronostique des mutations *BRAF*, et ce, en terme de survie globale (tableau 2). Comparativement aux patients avec une tumeur non mutée pour ces trois gènes, la seule présence de la mutation *BRAF* V600E a été associée à une réduction de la survie globale équivalente à 320 jours se traduisant par une augmentation significative de 2,6 fois le risque de décès par cancer colorectal (RRI : 2,60 [IC 95 % : 2,06 à 3,28]; $p = 1 \times 10^{-15}$). Cette différence n'a pas été démontrée pour l'autre mutation *BRAF*.

L'analyse du statut mutationnel de *BRAF* a dévoilé que la mutation *BRAF* V600E était plus souvent rencontrée lorsque la tumeur primaire était située au niveau du

⁹ Les tumeurs déficientes en système MMR (mismatch repair) se caractérisent par une fréquence élevée d'erreurs de réplication concentrées sur de courtes séquences répétitives nommées microsatellites [Aaltonen *et al.*, 1994].

côlon droit (47 %). Toutefois, 12 % de ces tumeurs portaient le gène *BRAF* non muté ($p < 2,2 \times 10^{-16}$).

Les auteurs soulignent entre autres que les mutations *BRAF* V600E et *RAS* (*KRAS* et *NRAS*) sont mutuellement exclusives et associées à un mauvais pronostic. Ils mentionnent également que cette mutation, tout comme la localisation de la tumeur primaire, devrait être considérée lors de la prise en charge de patients atteints d'un cancer colorectal avancé [Summers *et al.*, 2017].

Tableau 2 Évaluation pronostique des différentes mutations regroupées par codons et par gènes

GÈNE	MUTATIONS	NOMBRE DE MUTATIONS	RRI (IC 95 %)	VALEUR P [†] (CORRECTION DE BONFERRONI)
<i>KRAS</i>	Codon 12	486	1,44 (1,28 à 1,61)	$6,4 \times 10^{-10}$ ($1,9 \times 10^{-08}$)
	Codon 13	123	1,53 (1,26 à 1,86)	$1,5 \times 10^{-05}$ ($4,5 \times 10^{-04}$)
	Codon 61	27	1,23 (0,84 à 1,81)	0,28
	Total	632 [*]	1,45 (1,30 à 1,61)	$1,9 \times 10^{-11}$ ($5,7 \times 10^{-10}$)
<i>NRAS</i>	Codons 12 et 13	8	1,29 (0,64 à 2,58)	0,48
	Codon 61	45	1,47 (1,09 à 1,99)	0,01
	Total	53	1,44 (1,09 à 1,90)	0,01
<i>BRAF</i>	Codon 600 (<i>BRAF</i> V600E)	87	2,60 (2,06 à 3,28)	$1,0 \times 10^{-15}$ ($3,0 \times 10^{-14}$)
	Codon 594 (<i>BRAF</i> D594G)	12	1,30 (0,73 à 2,31)	0,37
	Total	99	2,31 (1,85 à 2,87)	$7,8 \times 10^{-14}$ ($2,3 \times 10^{-12}$)

Source : tableau adapté de l'article de Summers *et al.*, 2017.

Abréviations : IC : intervalle de confiance; RRI : rapport de risques instantanés

Notes tableau :

* : Quatre mutations qui demeuraient significatives après la correction de Bonferroni pour une analyse multivariée n'ont pas été incluses dans l'évaluation totale des mutations du gène *KRAS*.

† : Les variantes du gène *KRAS* étaient comparées au type sauvage chez les patients porteurs de *BRAF* et *NRAS* non mutés. Les variantes du gène *BRAF* étaient comparées au type sauvage chez les patients dont les gènes *RAS* étaient non mutés et à microsatellites stables.

La caractérisation de mutations pouvant servir de nouvelles cibles thérapeutiques ou d'outils pronostiques constituait l'objectif de l'étude rétrospective menée par Gong et ses collaborateurs [2017]. L'étude décrit leur expérience institutionnelle relativement à l'utilisation du SNG dans la caractérisation moléculaire de la tumeur de 138 patients atteints de cancer colorectal avancé ou métastatique.

En tout, 5 patients (3,6 %) étaient en stade 2 de la maladie, 16 (11,6 %) en stade 3 et 117 (84,8 %) en stade 4 au moment du diagnostic. Une mutation du gène *KRAS*

a été rapportée chez 68 patients (49,3 %), tandis que 9 patients (6,5 %) portaient une mutation du gène *BRAF* et 3 (2,2 %) celle du gène *NRAS*. D'autres mutations dans des gènes non ciblés par la présente demande ont également été mises en évidence [Gong *et al.*, 2017].

Globalement, une mutation *RAS* (*KRAS* et *NRAS*) était présente chez 51,4 % des patients et une mutation *RAF* chez 7,2 % des patients. Chez ceux présentant une forme métastatique de la maladie, une prépondérance de mutations dans l'exon 2 (codons 12 et 13) a été rapportée. Des mutations ont également été rapportées dans les codons 61, 117 et 146 des exons 3 et 4 du gène *KRAS*, et deux dans le codon 61 du gène *NRAS*. La nouvelle mutation *KRAS* R68S1 a été associée à un phénotype particulièrement agressif de la maladie, qui persistait malgré le cétuximab administré au patient depuis deux mois. La mutation *BRAF* V600E représentait la majorité (40 %) des mutations observées dans les gènes *RAF*.

Selon les auteurs, des études prospectives incluant un plus grand nombre de sujets seront requises pour établir les associations entre certaines altérations moléculaires des gènes *RAS* et *RAF*, et le pronostic ou la résistance aux anti-*EGFR*. Ils soulignent également la capacité du SNG à dévoiler de nouvelles mutations autres que les conventionnelles [Gong *et al.*, 2017].

5.3 Valeur thérapeutique

L'apport thérapeutique des analyses des gènes *NRAS* et *KRAS* a été démontré dans un avis d'évaluation précédemment émis par l'équipe de biologie médicale de l'INESSS [2016]. L'analyse proposée dans le présent avis suggère en plus du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS*, l'implication de la variante *BRAF* V600E dans la prédiction de la réponse au traitement d'anti-*EGFR* chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique, bien que celle-ci demeure controversée.

Cependant, il est à noter que dans un article commentant la littérature sur la valeur thérapeutique de la mutation *BRAF* V600E chez les patients recevant un traitement d'anti-*EGFR*, les auteurs arguent la présence d'évidence suffisante à travers les résultats d'études publiées à ce sujet. De ce fait, ils attribuent à la mutation *BRAF* V600E une valeur prédictive négative de la réponse aux anti-*EGFR* [Van Brummelen *et al.*, 2017]. En outre, il a été souligné par le centre demandeur que la présence de la mutation *BRAF* V600E pourrait, selon les médecins consultés, aider à orienter les patients vers un traitement plus adéquat à l'agressivité de ce sous-type de cancer¹⁰. En tout, quatre articles ont été retenus pour évaluer la portée thérapeutique de l'analyse proposée [Ciardiello *et al.*, 2016; Brulé *et al.*, 2015; Rowland *et al.*, 2015; Ciardiello *et al.*, 2014].

¹⁰ Communication personnelle du demandeur le 21 août 2017.

5.3.1 Évaluation de la capacité du gène *BRAF* à prédire une réponse à un traitement d'anti-EGFR chez les patients dont les gènes *KRAS*, et *NRAS* sont non mutés

Une méta-analyse de Rowland et ses collaborateurs [2015] a été menée dans l'objectif d'évaluer l'effet de la mutation *BRAF* V600E sur la réponse au traitement de 3 168 patients atteints de cancer colorectal métastatique avec un statut *RAS*¹¹ non muté et recevant un anti-EGFR (cétuximab ou panitumumab). Seules les études randomisées et contrôlées contenant des données de survie globale (n = 7) et de survie sans progression (n = 8) ont été retenues. Le rapport des risques instantanés (RRI) a été utilisé comme paramètre permettant de comparer l'effet d'un traitement avec anti-EGFR à celui d'un autre qui n'en contenait pas [Rowland *et al.*, 2015].

Survie globale

Chez les patients porteurs de gènes *RAS* WT et *BRAF* muté, un rapport de risques instantanés (RRI) de 0,97 a été rapporté (IC 95 % : 0,67 à 1,41 ; $I^2 = 53$ %) et passait à 0,81 (IC 95 % : 0,70 à 0,95 ; $I^2 = 64$ %) chez ceux qui avaient les deux gènes non mutés. Toutefois, cette différence avait été jugée non significative ($p = 0,43$) [Rowland *et al.*, 2015].

Survie sans progression

Chez les patients porteurs de gènes *RAS* WT et *BRAF* muté, un RRI de 0,86 avait été rapporté (IC 95 % : 0,61 à 1,21 ; $I^2 = 39$ %) et passait à RRI = 0,62 (IC 95 % : 0,50 à 0,77 ; $I^2 = 82$ %) chez ceux qui avaient les deux gènes non mutés. Toutefois, cette différence avait été jugée non significative [Rowland *et al.*, 2015].

Selon les auteurs, cette méta-analyse démontre l'absence d'évidence en ce qui concerne la valeur prédictive de réponse au traitement anti-EGFR des patients porteurs de gènes *RAS* non mutés et *BRAF* muté, et qui sont atteints de cancer colorectal métastatique [Rowland *et al.*, 2015].

5.3.2 Corrélation entre le statut mutationnel des gènes *KRAS* *NRAS* et *BRAF* et l'efficacité d'un traitement de chimiothérapie combiné au cétuximab

L'étude rétrospective de Ciardiello et ses collaborateurs [2014] a été réalisée auprès de 182 patients recevant un traitement de première intention composé d'au moins une perfusion de FOLFIRI¹² combinée au cétuximab. Au total, 46 mutations de *KRAS* ont été détectées dans 45 échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP), avec une tumeur portant deux mutations *KRAS* [Ciardiello *et al.*, 2014].

¹¹ Dans certaines études, le statut mutationnel des gènes RAS est plutôt évoqué. Il englobe celui des gènes *KRAS* ou *NRAS*.

¹² Le FOLFIRI est une chimiothérapie qui combine le 5 - fluoro-uracile, l'irinotécan et l'acide folinique

L'utilisation du SNG a permis de reclasser 29 cas (15,9 %) de tumeurs initialement rapportées non mutées pour *KRAS* dans l'exon 2 (codons 12 et 13). Ces 29 mutations ont ensuite été confirmées par séquençage de Sanger et par PCR en temps réel. Par ailleurs, des mutations d'exons 3 et 4 du gène *KRAS* de 16 patients (8,8 %), et d'exons 2 et 3 du gène *NRAS* chez 13 autres (7,1 %) ont été détectées par SNG. Des 15 échantillons arborant les mutations du gène *BRAF*, 10 portaient la mutation *BRAF V600E*.

Le taux global de réponse au traitement était de 62 % dans la cohorte composée de patients avec les gènes *KRAS* et *NRAS* non mutés passait à 46,6 % chez ceux qui avaient une mutation dans l'un des deux gènes. De même, la médiane de survie sans progression était de 11,1 mois pour le groupe non muté contre 8,9 mois chez ceux qui portaient une mutation dans l'un de ces deux gènes.

Une analyse de la cohorte dont les gènes *BRAF*, *KRAS*, *NRAS* et *PIK3CA* étaient non mutés augmentait le taux global de réponse au traitement à 64,4 % qui diminuait ensuite à 47,4 % si l'un de ces 4 gènes était muté. De même, la valeur médiane de survie sans progression de 11,3 mois passait à 7,7 mois [Ciardiello *et al.*, 2014].

Selon les auteurs, le changement observé dans le taux global de réponse au traitement et la survie sans progression en évaluant les 4 gènes (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS* et *PIK3CA*) pourrait être lié à une valeur pronostique et non prédictive des gènes *BRAF* et *PIK3CA*.

Les auteurs concluent qu'aucune évidence ne permettrait d'attribuer la détérioration du taux de réponse global au statut mutationnel de *BRAF*. Ils soutiennent que ce gène ne pourrait être utilisé pour sélectionner les patients susceptibles de répondre favorablement aux anti-*EGFR*. Les auteurs soulignent également le fait qu'en utilisant le SNG, l'on puisse simultanément détecter des mutations dans plusieurs gènes à partir du même échantillon [Ciardiello *et al.*, 2014].

Une autre étude randomisée et contrôlée de phase 2 dont l'objectif principal était d'évaluer l'efficacité du FOLFOX¹³ combiné au cétuximab en deuxième intention de traitement a été menée par Ciardiello et ses collaborateurs [2016]. Un échantillon tumoral, originalement démontré *RAS* non muté (*KRAS* et *NRAS* exons 2, 3, 4), a été utilisé afin de réaliser une analyse moléculaire par SNG chez 53 patients traités avec la combinaison et 64 avec le FOLFOX seul.

L'analyse moléculaire SNG, réalisée rétrospectivement sur 22 gènes, a révélé la présence d'au moins une mutation pour les gènes *KRAS/NRAS/BRAF* ou *PIK3CA* chez 43,6 % des cas (51/117, dont 19 dans le groupe expérimental et 32 dans le groupe contrôle). Les auteurs mentionnent que la détection de mutations, notamment dans l'exon 2 de *KRAS*, est attribuable à la sensibilité du SNG (2 % d'allèles mutés), comparativement aux techniques standards de génotypage.

¹³ Le FOLFOX est une chimiothérapie combinant le 5 - fluoro-uracile modifié, l'acide folinique et l'oxaliplatine.

Parmi les patients qui ne présentaient aucune mutation dans ces gènes (n = 66), 34 recevaient le FOLFOX combiné au cétuximab et 32 uniquement le FOLFOX. Les paramètres d'évaluation pour ces deux groupes étaient la survie sans progression, la survie globale et le taux de réponse au traitement (tableau 3) [Ciardiello *et al.*, 2016].

Dans la cohorte des patients avec tumeurs aux gènes non mutés, la survie sans progression augmentait de 44 % chez les cas avec un traitement incluant le cétuximab comparativement à ceux qui n'en recevaient pas (RRI = 0,56 ; IC 95 % 0,33 à 0,94) ; p = 0,025). En revanche, les patients aux tumeurs avec des gènes mutés et recevant le FOLFOX avaient une survie sans progression 1,7 fois plus élevée que ceux qui recevaient également du cétuximab (RRI = 1,7 ; IC 95 % 0,94 à 3,05 ; p = 0,07) [Ciardiello *et al.*, 2016].

Tableau 3 Performance de l'analyse pour la prédiction de la réponse au traitement

PARAMÈTRES D'ÉVALUATION	KRAS/NRAS, BRAF/PIK3CA NON MUTÉS (IC 95 %)		KRAS/NRAS, BRAF/PIK3CA MUTÉS (IC 95 %)	
	FOLFOX + CÉTUXIMAB (n = 34)	FOLFOX (n = 32)	FOLFOX + CÉTUXIMAB (n = 19)	FOLFOX (n = 32)
Survie sans progression (valeur médiane)	6,9 mois (5,5 à 8,2)	5,3 mois (3,7 à 6,9)	2,7 mois (1,1 à 4,3)	4,4 mois (3,3 à 5,5)
Survie globale (valeur médiane)	23,7 mois (19,4 à 28)	19,8 mois (14,9 à 24,7)	11,6 mois (11,2 à 12)	14 mois (11,9 à 16)
Taux de réponse au traitement	29,4 % (14,1 à 43,5 %)	9,4 % (0 à 41,3 %)	Non déterminé	Non déterminé

Source : tableau adapté de l'article de Brulé *et al.*, 2015.

Abréviation : IC : intervalle de confiance

Bien que la différence entre les groupes FOLFOX cétuximab et FOLFOX n'ait pas été significative concernant la survie sans progression, la réponse au traitement et la survie globale, une tendance générale en faveur de la chimiothérapie combinée au cétuximab a été rapportée pour chacun des paramètres d'évaluation.

Selon les auteurs, plusieurs études ont rapporté l'apparition de mutations dans les gènes *RAS* comme étant un indicateur de résistance aux anti-*EGFR* chez les patients dont les gènes étaient au préalable non mutés. De plus, ils ont suggéré le maintien du cétuximab combiné à une chimiothérapie adéquate comme étant une avenue thérapeutique prometteuse pour le traitement des patients atteints de cancer colorectal métastatique et susceptibles de recevoir des anti-*EGFR*, après la première progression de la maladie. Les auteurs ont également relevé l'importance

d'une analyse permettant d'identifier plus de gènes dont le statut mutationnel a une valeur prédictive de réponse à un traitement anti-EGFR [Ciardiello *et al.*, 2016].

5.3.3 Le statut mutationnel des gènes *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* et la localisation de la tumeur primaire chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique

L'étude rétrospective de Brulé et ses collaborateurs [2015] a été effectuée à partir des données issues d'une étude prospective randomisée et contrôlée de phase 3 auprès de patients atteints d'un cancer colorectal réfractaire à un traitement de chimiothérapie [Jonker *et al.*, 2007]. Des 572 patients de l'étude prospective, 399 avaient été retenus et classés en fonction du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *BRAF*, de la position de la tumeur primaire dans le côlon, entre autres critères. Le but était d'examiner si la position de la tumeur primaire avait un effet sur la réponse à un traitement de cétuximab dans le cas du cancer colorectal métastatique [Brulé *et al.*, 2015].

Des 150 patients présentant une tumeur primaire localisée dans le côlon droit (patients — CD), 78 ont reçu du cétuximab et 72 les meilleurs soins de soutien (MSS). De ceux qui avaient la tumeur primaire située dans le côlon gauche (patients-CG), 122 avaient été traités avec du cétuximab tandis que 127 avaient reçu les MSS.

Par ailleurs, le gène *KRAS* était significativement plus fréquemment muté ($p = 0,02$) chez les patients-CD (40 %) que chez les CG (26,5 %), comparativement au gène *BRAF* qui était non muté chez 74,7 % des patients-CD contre 67,9 % pour les CG ($p = 0,005$).

En outre, lorsque le cétuximab était administré aux patients-CD, aucune amélioration significative n'a été observée au niveau de la survie globale [RRI = 1 (IC 95 % : 0,70 à 1,43; $p = 1,00$)] ou de la survie sans progression [RRI = 0,93 (IC 95 % : 0,66 à 1,29; $p = 0,64$)]. En revanche, lorsque le même traitement était administré aux patients-CG avec le gène *KRAS* non muté, la valeur médiane de la survie globale s'allongeait de 4,8 à 10,1 mois, et de 1,8 à 5,4 mois pour la survie sans progression (tableau 4).

Tableau 4 Position de la tumeur comme facteur prédictif de la réponse au cétuximab chez tous les patients et ceux au gène *KRAS* non muté

PARAMÈTRES	POSITION DE LA TUMEUR	SURVIE MÉDIANE (MOIS)		RRI (IC 95 %)	EFFET PRÉDICTIF (VALEUR p)
		CÉTUXIMAB	MSS		
Tous patients confondus					
Survie globale	CD	4,8	4,5	1,00 (0,70 à 1,43) p = 1	0,08
	CG	6,8	4,2	0,60 (0,46 à 0,80) p = 0,0003	
Survie sans progression	CD	1,8	1,8	0,93 (0,66 à 1,29) p = 0,64	0,004
	CG	3,6	1,8	0,53 (0,41 à 0,69) p < 0,0001	
Patients au gène <i>KRAS</i> non muté					
Survie globale	CD	6,2	3,5	0,66 (0,36 à 1,21) p = 0,18	0,25
	CG	10,1	4,8	0,49 (0,31 à 0,77) p = 0,002	
Survie sans progression	CD	1,9	1,9	0,73 (0,42 à 1,27) p = 0,26	0,002
	CG	5,4	1,8	0,28 (0,18 à 0,45) p < 0,0001	

Source : tableau adapté de l'article de Brulé *et al.*, 2015.

Abréviations : CD : tumeur située dans le côlon droit; CG : tumeur située dans le côlon gauche; MSS : meilleurs soins de soutien; RRI : rapport de risques instantanés.

Selon les auteurs, la position de la tumeur chez les patients avec un *KRAS* non muté demeure un prédicteur non significatif des bénéfices du cétuximab sur la survie globale (p = 0,25), mais significative pour la survie sans progression des patients (p = 0,002) [Brulé *et al.*, 2015].

5.4 Validité analytique

La validité analytique a été évaluée à l'aide de quatre articles portant sur le séquençage de nouvelle génération (SNG) dans un contexte où les patients sont atteints de cancer colorectal ou de CCRm [Illumina, 2016; Malapelle *et al.*, 2015; Sakai *et al.*, 2015; Tack *et al.*, 2015]. Il est à noter que la plateforme de SNG utilisée dans les études comparatives de Sakai [2015] et Malapelle [2015] est celle de la compagnie Life Technologies (Ion Torrent^{MC} Personal Genome Machine^{MC}).

5.4.1 Performance analytique de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 selon la notice d'utilisation

La trousse commerciale a été validée par le fabricant, en analysant différents types d'échantillons tumoraux, dont ceux de cancers colorectaux. L'ADN purifié à partir d'échantillons tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine (FFEP), a été évalué à l'aide de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15, et séquencé par le système MiniSeq. Une couverture supérieure à 500 X était requise pour la détection des fréquences mutationnelles de 5 % (tableau 5). La qualité de l'échantillon était déterminée en évaluant le potentiel d'amplification de l'ADN purifié des échantillons FFEP et en le comparant à un échantillon témoin d'ADN dans une PCR quantitative (qPCR). La valeur ΔC_q générée par qPCR sur l'ensemble des échantillons était l'indicateur de qualité pour chacun d'eux (tableau 5). La qualité de l'échantillon était dite élevée pour une valeur ΔC_q de 0 à 2, moyenne de 2 à 4 et faible de 4 à 6 [Illumina, 2016].

Tableau 5 Performance de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 pour analyser des échantillons tumoraux

IDENTIFICATION ÉCHANTILLON	QUALITÉ DES ÉCHANTILLONS	POURCENTAGE DE BASES (≥ 500 X)	COUVERTURE* MOYENNE DES AMPLICONS
FFEP_Colon 1	Moyenne	99,7 %	24 219 X
FFEP_Colon 2	Faible	99,9 %	20 763 X
FFEP_Colon 3	Faible	99,2 %	35 270 X
FFEP_Colon 4	Élevée	100,0 %	18 357 X
FFEP_Colon 5	Élevée	100,0 %	15 769 X

Source : Notice de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15.

Abréviation : FFEP : échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine

* Une valeur supérieure ou égale à 500 X assure une couverture d'au moins 93,5 % des bases de la séquence d'ADN à analyser. Une valeur élevée de la couverture procure une sensibilité plus importante et une meilleure exactitude de l'analyse pour détecter les mutations à faible fréquence.

L'ADN purifié à partir d'échantillons pré-analysés de lignée cellulaire a été évalué par la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 et séquencé à l'aide du système MiniSeq. Une concordance de 100 % avec les résultats de la pré-analyse a été rapportée dans l'analyse à l'étude (tableau 6). Les résultats obtenus à partir de la lignée cellulaire testée (HD-C749) étaient identiques pour sept essais indépendants de séquençage [Illumina, 2016].

Tableau 6 Performance de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 pour analyser une lignée de cellules fixée au formaldéhyde

GÈNE	MUTATION	FRÉQUENCE RAPPORTÉE	FRÉQUENCE DÉTECTÉE	COUVERTURE*
<i>BRAF</i>	V600E	10,5 %	12,3 %	55 457 X
<i>KRAS</i>	G13D	15,0 %	15,3 %	6 745 X
<i>KRAS</i>	G12D	6,0 %	7,2 %	6 742 X
<i>NRAS</i>	Q61K	12,5 %	11,2 %	13 154 X

Source : Notice de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15.

* Une valeur supérieure ou égale à 500 X assure une couverture d'au moins 93,5 % des bases de la séquence d'ADN à analyser. Une valeur élevée de la couverture procure une sensibilité plus importante et une meilleure exactitude de l'analyse pour détecter les mutations à faible fréquence.

L'ADN purifié à partir d'échantillons FFEP et évalué à l'aide de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 était ensuite séquencé par le système MiniSeq, et analysé en utilisant le logiciel VariantStudio^{MC} permettant de détecter les différentes variantes de mutations présentes dans les différents gènes¹⁴ (tableau 7).

Tableau 7 Performance de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15 pour la détection de variantes mutationnelles dans les échantillons tumoraux

ÉCHANTILLON	MUTATION RAPPORTÉE	MUTATION DÉTECTÉE	POURCENTAGE DE MUTATIONS DÉTECTÉES (%)	COUVERTURE*
FFEP_Colon 1	<i>KRAS</i> G12S	<i>KRAS</i> G12S	22,3 %	21 134 X
FFEP_Colon 2	<i>KRAS</i> G12D	<i>KRAS</i> G12D	11,5 %	4 322 X
FFEP_Colon 3	<i>BRAF</i> V600E	<i>BRAF</i> V600E	25,5 %	140 040 X
FFEP_Colon 4	<i>KRAS</i> G12V	<i>KRAS</i> G12V	33,4 %	5 256 X
FFEP_Colon 5	<i>KRAS</i> G13D	<i>KRAS</i> G13D	33,0 %	4 156 X

Source : Notice de la trousse TruSight^{MC} Tumor 15.

Abréviation : FFEP : échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine

* Une valeur supérieure ou égale à 500 X assure une couverture d'au moins 93,5 % des bases de la séquence d'ADN à analyser. Une valeur élevée de la couverture procure une sensibilité plus importante et une meilleure exactitude de l'analyse pour détecter les mutations à faible fréquence.

¹⁴ Illumina. Simplifying genetic analysis [site Web]. Disponible à : <https://www.illumina.com/informatics/biological-interpretation/variant-analysis.html> (consulté le 10 novembre 2017).

5.4.2 Comparaison entre la détection de *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* par SNG et autres méthodes

Sakai et ses collaborateurs [2015] ont effectué une étude rétrospective de validation afin d'évaluer la performance analytique du SNG pour détecter les mutations des gènes *RAS* et *BRAF* à partir d'échantillons de plasma ou de tissus tumoraux FFEP des patients atteints de cancer colorectal. L'habileté à détecter des mutations de faible fréquence à l'aide du SNG était opposée à celle du séquençage Sanger, de la PCR en temps réel ou d'une PCR digitale. Toutefois, la concordance des méthodes a été établie en comparant les résultats générés par le SNG, la PCR en temps réel et la PCR digitale [Sakai *et al.*, 2015]. Il est à noter que la plateforme de SNG utilisée dans cette étude est celle de la compagnie Life Technologies (Ion Torrent^{MC} Personal Genome Machine^{MC}).

La limite de détection a été déterminée à l'aide de 20 échantillons, tandis que 100 autres ont servi à détecter les mutations localisées dans 13 codons des gènes *KRAS*, *NRAS*, et *BRAF*, notamment : les codons 12 et 13 de l'exon 2, 59 et 61 de l'exon 3, 117 et 146 de l'exon 4 dans *KRAS* et *NRAS*, sans omettre le codon 600 dans l'exon 15 de *BRAF*. L'ADN prélevé de 10 participants sains a servi de contrôle dans le nombre de lectures et les erreurs de séquençage pour le SNG [Sakai *et al.*, 2015].

En tout, les mutations *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* étaient respectivement détectées dans 47 %, 7 % et 5 % des 100 échantillons analysés. Des 47 mutations détectées dans *KRAS* 43 étaient localisées dans les codons 12 et 13 (91,4 %).

La limite de détection du SNG a été établie en utilisant des dilutions en série de 4 lignées cellulaires comportant les mutations *KRAS* G12S (A549), *KRAS* G13D (HCT116), *NRAS* Q61K (H1299), et *BRAF* V600E (HT-29) (tableau 6). Tandis que le seuil de détection pour la PCR digitale, évalué en nombre moyen de copies de mutants présents dans l'échantillon de tissu tumoral FFEP, a été déterminé pour 7 mutations à partir de 9 échantillons FFEP négatifs (tableau 8).

Tableau 8 Limites de détection et nombre seuil des copies de variantes mutées analysées par SNG

MUTATION	LIMITE DE DÉTECTION (FRÉQUENCE DE MUTATION DANS LES CELLULES : SNG)	NOMBRE SEUIL DE COPIES (TISSUS TUMORAUX FFEP : PCR DIGITALE)
<i>KRAS</i> G12S	2,40 %	16,48 copies
<i>KRAS</i> G13D	3,92 %	18,75 copies
<i>NRAS</i> Q61K	0,58 %	n.d.
<i>BRAF</i> V600E	1,85 %	n.d.
<i>KRAS</i> G12A	n.d.	3,00 copies
<i>KRAS</i> G12C	n.d.	3,10 copies
<i>KRAS</i> G12D	n.d.	15,27 copies
<i>KRAS</i> G12R	n.d.	3,00 copies
<i>KRAS</i> G12V	n.d.	4,32 copies

Source : tableau adapté de l'article de Sakai *et al.*, 2015.

Abréviations : FFEP : échantillons de tissus tumoraux fixés au formaldéhyde et enrobés de paraffine; n.d : non déterminé; SNG : Séquençage de nouvelle génération.

La concordance entre les méthodes SNG, PCR en temps réel et la PCR digitale a été établie en utilisant les résultats de détections de mutations des codons 12 et 13 de *KRAS*. Ainsi, une concordance de 92 % et de 90 % a été rapportée respectivement en opposant le SNG à la PCR en temps réel (valeur $\kappa = 0,833$) et à la PCR digitale (valeur $\kappa = 0,794$). De plus, en comparant le SNG à la PCR digitale des taux de 11,5 % de faux positifs et de 7,7 % de faux négatifs ont été rapportés [Sakai *et al.*, 2015].

Selon les auteurs, l'implantation du SNG pour la détection des mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, démontre une bonne performance préclinique et clinique. Les auteurs recommandent l'ajustement des concentrations des oligonucléotides pour chaque réaction multiplexe. De même, la sensibilité¹⁵ du SNG estimée de 0,58 % à 3,92 % représente un argument suffisant à son implantation en milieu clinique [Sakai *et al.*, 2015].

Par ailleurs, l'étude prospective de Malapelle et ses collaborateurs [2015], portant sur 114 échantillons de routine analysés simultanément par le SNG et le séquençage de Sanger, a permis de comparer leur performance analytique dans la détection des mutations des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, ainsi que leurs coûts et temps de réponse. Les échantillons étaient constitués de tissus tumoraux FFEP

¹⁵ Ici, la sensibilité de l'analyse se rapporte à sa capacité à détecter les mutations de faible fréquence.

destinés à la détection des mutations de l'exon 2 (codons 12 et 13), de l'exon 3 (codons 59 et 61) et de l'exon 4 (codons 117 et 146) des gènes *KRAS* et *NRAS* tout comme de l'exon 15 du gène *BRAF* [Malapelle *et al.*, 2015].

Au total, les deux méthodes de séquençage ont permis de détecter 38 mutations du gène *KRAS*, 8 du gène *NRAS*, et 10 du gène *BRAF*. Toutefois, 2 mutations du gène *BRAF* (G466E et G469A), une mutation du gène *KRAS* (Q22K) et une autre du gène *NRAS* (G13R) n'étaient uniquement détectables que par SNG (tableau 9). Il est à noter que les mutations *KRAS* Q22K et *NRAS* G13R avaient des fréquences faibles de 5,5 % et 5,2 % respectivement, sachant que la limite de détection du SNG déterminée à l'aide d'une dilution sériée des souches cellulaires était de 5 % [Malapelle *et al.*, 2015].

Tableau 9 Nombre total de mutations somatiques détectées par SNG ou par séquençage de Sanger

MÉTHODE DE SÉQUENÇAGE	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>BRAF</i>
SNG	39	9	12
Séquençage de Sanger	38	8	10

Le temps de réponse moyen pour le SNG était évalué à 13 jours ouvrables (intervalle : 7 à 14 jours), tandis que celui de la méthode Sanger prenait 10,4 jours ouvrables.

Selon les auteurs, la robustesse du SNG est comparable à celle de la méthode de Sanger dans les analyses de routine pour sélectionner les patients atteints de cancer colorectal métastatique et susceptibles de recevoir des anti-*EGFR*. Les auteurs projettent une amélioration du temps de réponse avec l'implantation d'une station robotisée et intégrée pour l'utilisation du SNG, en soulignant l'importance d'un personnel qualifié pour l'interprétation des résultats générés par cette méthode [Malapelle *et al.*, 2015].

5.4.3 Évaluation comparative des laboratoires pour le statut mutationnel des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG et autres méthodes d'analyse

Une évaluation de la performance de 131 laboratoires dans la détection des mutations du gène *BRAF* et des exons 2, 3, et 4 des gènes *RAS* a été effectuée par Tack et ses collaborateurs [2015]. Pour ce faire, 10 échantillons de tissus tumoraux FFEP et synthétiques ont été envoyés à chaque laboratoire afin d'y être analysés. Les laboratoires étaient évalués conformément aux lignes directrices internationales de l'organisation EQA (*External Quality Assessment*). La quantité de cellules néoplasiques était limitée à 30 % par échantillon et la sensibilité de l'analyse fixée à 5 % pour chaque allèle [Tack *et al.*, 2015].

En tout, 1 310 échantillons ont été analysés avec un total de 3,6 % portant une erreur de génotypage. Les irrégularités étaient plus fréquentes au sein des

échantillons contenant des mutations (5 %) que ceux de type sauvage (1,5 %) avec une valeur p équivalant à 0,001. Une erreur technique était rapportée dans 2,7 % des échantillons testés. Un total de 96 laboratoires (73,3 %) n'ont présenté aucune erreur de génotypage, tandis que 26 (19,9 %) ont rapporté une erreur et 9 (6,9 %) en ont rapporté plus. Le temps de réponse alloué de 14 jours a été respecté par 52,7 % des laboratoires avec un délai de traitement variant de 7 jours à 31 jours.

Le pourcentage de laboratoire utilisant exclusivement la méthode SNG pour tester *KRAS* était de 9,2 % (n = 12) comparativement aux 11 laboratoires qui l'ont utilisée pour l'analyse de *NRAS*. De plus, aucun résultat faux positif ou faux négatif n'a été rapporté en utilisant le SNG pour la détection des mutations de *KRAS* et *NRAS*, contrairement aux autres méthodes employées.

Selon les auteurs, cette étude soulève des interrogations sur la fiabilité des résultats générés par les laboratoires, et démontre que plusieurs laboratoires n'ont pas assez d'expertise pour effectuer une introduction rapide de nouvelles analyses moléculaires. Ils recommandent une formation approfondie des laboratoires d'analyses moléculaires, en validation, implantation et interprétation des tests moléculaires, appuyée d'un contrôle externe d'évaluation de la qualité. De ce fait, les auteurs encouragent les médecins prescrivant un traitement anti-*EGFR* aux patients atteints d'un cancer colorectal à sélectionner des laboratoires fiables.

5.5 Données fournies par le demandeur

Les données de validation de la méthode fournies par le demandeur sont réparties en trois sections :

- validation de la détection de mutations du gène *KRAS* dans les échantillons au statut mutationnel connu;
- validation d'échantillons témoins commerciaux;
- validation de la robustesse de l'analyse.

En premier, l'ADN tumoral de patients avec un statut mutationnel connu de *KRAS* (codons 12 et 13) a été extrait à partir d'échantillons déjà analysés et séquencés à l'aide de la trousse commerciale TruSight^{MC} Tumor 15 (TST-15). Les résultats de la détection de mutations dans *KRAS* étaient ensuite comparés aux données cliniques déjà disponibles pour des patients du CHUS. Parmi les 28 échantillons d'ADN séquencés en 5 cycles, le gène *KRAS* était muté pour 12 échantillons et de type sauvage pour 16 (tableau 10).

Tableau 10 Validation de statuts *KRAS* connus à partir d'échantillons déjà analysés

ÉCHANTILLON	STATUT <i>KRAS</i>	CONFIRMATION	POURCENTAGE DE LA MUTATION (%)	CYCLE DE SÉQUENÇAGE
1	Gly12Ala	oui	11,3	1
2	Gly12Ala	oui*	5,9	1
4	Gly12Val	oui	20	1
5	Gly13Asp	oui	18,7	1
3	Gly12Val	oui	6,9	2
6	Gly12Val	oui	38	2
7	Type sauvage	oui	s.o.	2
8	Type sauvage	oui	s.o.	2
9	Type sauvage	oui	s.o.	2
10	Type sauvage	oui	s.o.	2
12	Type sauvage	oui	s.o.	2
16	Type sauvage	oui	s.o.	2
13	Type sauvage	oui	s.o.	3
14	Type sauvage	oui	s.o.	3
15	Type sauvage	oui	s.o.	3
18	Type sauvage	oui	s.o.	3
19	Type sauvage	oui	s.o.	3

ÉCHANTILLON	STATUT <i>KRAS</i>	CONFIRMATION	POURCENTAGE DE LA MUTATION (%)	CYCLE DE SÉQUENÇAGE
17	Type sauvage	oui	s.o.	4
20	Gly12Asp	oui	23,3	4
21	Gly12Asp	oui	16	4
22	Type sauvage	oui	s.o.	4
23	Type sauvage	oui	s.o.	4
24	Gly12Asp	oui	39,4	4
27	Gly12Val	oui	27	4
28	Gly12Asp	oui	16	4
11	Type sauvage	oui	s.o.	5
25	Type sauvage	oui	s.o.	5
26	Gly12Asp	oui	15	5

Source : Données fournies par le demandeur.

Abréviations : s.o. : sans objet.

Notes tableau : : En plus de la mutation Gly12Ala, la mutation Gly13Asp (7 %) a également été détectée, et ce, même après une reprise de l'analyse. Ces deux mutations sont présentes en trans et suggèrent la présence de deux populations cellulaires.

Ensuite, une validation a été effectuée à partir de coupes de 10 microns de cellules obtenues de la compagnie Horizon Discovery. Celles-ci étaient constituées de cellules portant des mutations dans *KRAS* ou *NRAS* fixées au formol et enrobées de paraffine afin de reproduire les conditions des échantillons de pathologie. Après l'extraction d'ADN, des dilutions ont été effectuées afin d'obtenir une charge d'environ 5 % de mutation pour tester des échantillons près de la limite de détection anticipée. Les échantillons d'ADN ont été isolés pour le séquençage à l'aide de la trousse TST-15 (tableau 11).

Tableau 11 Validation d'échantillons contrôles commerciaux

GÈNE	TYPE DE MUTATION	DÉTECTION	POURCENTAGE DE MUTATION DÉTECTÉE
<i>KRAS</i>	c.38G>A (p.Gly13Asp)	Oui	4,9
<i>KRAS</i>	c.183A>C (p. Gln61His)	Oui	3,4
<i>KRAS</i>	c.436G>A (p.Ala146Thr)	Oui	4,2
<i>NRAS</i>	c.35G>A (p.Gly12Asp)	Oui	4,2
<i>NRAS</i>	c. 38G>A (p. Gly13Asp)	Oui	7,1
<i>NRAS</i>	c.175G>A (p. Ala59Thr)	Oui	6,3
<i>NRAS</i>	c.183A>T (p.Gln61His)	Oui	4,9
<i>NRAS</i>	c.436G>A (p. Ala146Thr)	Oui	4,3

Source : Données fournies pas le demandeur.

La détection de mutation dans le gène *BRAF* a révélé 8 cas négatifs (absence de la mutation V600E) et un cas positif (présence de la mutation V600E) qui ont été analysés avec 100 % de concordance.

Pour ce qui est de la couverture, elle est supérieure à 500 X pour 100 % des bases des séquences ciblées sur les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*.

La robustesse de l'analyse a été évaluée en faisant examiner un échantillon d'ADN dans cinq cycles indépendants de séquençage, par trois membres du laboratoire. Un coefficient de variation de 5,1 % a été obtenu pour la détection de la mutation Gly12Asp dans le gène *KRAS* (tableau 12). Aucune autre mutation n'a été détectée, indiquant ainsi l'absence d'éléments contaminants dans la procédure employée par le demandeur.

Tableau 12 Évaluation de la robustesse, en détectant la mutation Gly12Asp du gène *KRAS* par SNG

CYCLE	POURCENTAGE DE MUTATION DÉTECTÉ	BASES (KRAS/NRAS/BRAF) AVEC COUVERTURE* (%)	COUVERTURE* MOYENNE (X)	BASE > Q30 (%)
1	25,5	100	14 061	87,3
2	24,2	100	11 810	87
3	25,7	100	9 700	86,2
4	24,1	100	11 384	87,1
5	24,1	100	11 500	88,4
6	27,3	100	14 582	86,6
Moyenne	25,2	100	12 172,8	87,1
CV (%)	5,1	0	15	0,9

Source : Données fournies par le demandeur.

Abréviation : CV : coefficient de variation

Notes tableau : *En séquençage nouvelle génération, la couverture (en anglais *depth of coverage*) est généralement définie comme le nombre de lectures d'un nucléotide donné (nombre de fois où ce nucléotide est lu). Dans ce cas-ci, 500 X signifie qu'un nucléotide a été lu 500 X, ce qui est le minimum considéré acceptable.

6. IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par séquençage de nouvelle génération (SNG) pour le traitement du cancer colorectal métastatique (CCRm). Deux scénarios sont présentés. Le premier considère l'usage de l'analyse pour les patients pris en charge par le CHU de Sherbrooke alors que le second considère le déploiement de l'analyse à l'ensemble des patients du Québec. 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 sur des données épidémiologiques ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée aux tableaux 13 et 14. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée ciblerait les patients atteints d'un CCRm considérés pour une thérapie avec les anti-*EGFR*.
- La fréquence de mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* est respectivement de 49,6 %, 4,3 % et 5,1 % [Meric-Bernstam *et al.*, 2015].
- L'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec au cours de l'année 2015-16.

- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 389,95.
- Selon l'opinion d'experts, il est estimé que la majorité (75 %) des patients atteints de CCRm admissibles à une thérapie à base d'anti-EGFR reçoit du panitumumab plutôt que le cétuximab¹⁶.
- Le coût d'un traitement (8 cycles de 2 semaines) avec le panitumumab est estimé à 20 400 \$, alors qu'il est d'environ 23 370 \$ avec le cétuximab.
- Aucune augmentation du taux d'incidence du CCRm n'est envisagée pour les trois prochaines années suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Les analyses de sensibilité présentées reflètent l'incertitude concernant la volumétrie anticipée.
- Selon l'ensemble des experts consultés, le statut mutationnel du gène *BRAF* en position V600 n'influence pas la prise en charge des patients atteints de CCRm.

Scénario 1

Usage de l'analyse uniquement pour les patients atteints de CCRm pris en charge par le CHU de Sherbrooke

Ce scénario considère que :

- Le centre demandeur effectue actuellement l'analyse du statut des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG chez les patients atteints de CCRm.
- Aucun remplacement d'analyse n'est alors anticipé.
- Les coûts de l'analyse ne sont pas défrayés par le MSSS, mais par l'établissement.
- Le demandeur anticipe que 70 analyses seraient réalisées au cours de chacune des trois prochaines années pour combler 100 % des besoins de l'établissement.

¹⁶ Communications personnelles avec D^r Benoît Samson lors de l'évaluation du test *NRAS* publié en juin 2016 (13 mars 2016).

Tableau 13 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG pour le traitement du CCRm

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario 1 : Analyses réalisées au CHU de Sherbrooke				
Analyse SNG : <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i>	70	70	70	210
Coûts	27 297 \$	27 297 \$	27 297 \$	81 890 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			76 040 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			87 739 \$

Scénario 2

Déploiement de l'analyse à l'ensemble des patients atteints de CCRm au Québec

Ce scénario considère que :

- Les analyses *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* réalisées par TAAN dans le cadre d'une recherche de mutations pour le CCRm seraient remplacées par l'analyse proposée.
- En 2015-16, 1 598 analyses permettant la recherche de mutations dans le gène *KRAS* (code 65070) ont été réalisées par TAAN. La valeur pondérée de cette analyse est de 95.
- La volumétrie de l'analyse permettant la recherche de mutations dans le gène *NRAS* (code 65149) n'est pas encore disponible en raison de son ajout récent au Répertoire. Sa valeur pondérée est de 201,50. L'analyse du gène *NRAS* est réalisée parallèlement à celle du gène *KRAS* chez les patients atteints de CCRm.
- En 2015-16, 841 analyses permettant la recherche de mutations dans le gène *BRAF* (code 65002) ont été effectuées. De ce nombre, il est estimé que 10 % ont été faites chez des patients atteints de cancer colorectal. La valeur pondérée de cette analyse est de 63.
- Ainsi, il est estimé que 1 600 analyses par SNG seraient réalisées au cours de chacune des trois prochaines années au Québec.

Tableau 14 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG pour le traitement du CCRm

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse combinée des gènes <i>KRAS</i>, <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i> par SNG pour le traitement du CCRm au Répertoire				
Analyse TAAN <i>KRAS</i>	1 600	1 600	1 600	4 800
Coûts	152 000 \$	152 000 \$	152 000 \$	456 000 \$
Analyse TAAN <i>NRAS</i>	1 600	1 600	1 600	4 800
Coûts	322 400 \$	322 400 \$	322 400 \$	967 200 \$
Analyse TAAN <i>BRAF</i>	84	84	84	252
Coûts	5 292 \$	5 292 \$	5 292 \$	15 876 \$
Coûts totaux	479 692 \$	479 692 \$	479 692 \$	1 439 076 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse combinée des gènes <i>KRAS</i>, <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i> par SNG pour le traitement du CCRm au Répertoire				
Analyse SNG : <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i>	1 600	1 600	1 600	4 800
Coûts	623 920 \$	623 920 \$	623 920 \$	1 871 760 \$
Impact net	144 228 \$	144 228 \$	144 228 \$	432 684 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			374 192 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			584 634 \$

Ainsi, pour les patients atteints de CCRm actuellement pris en charge par le CHU de Sherbrooke, l'ajout au Répertoire de l'analyse combinée des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* par SNG pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 27 000 \$ par année pour un total de près 82 000 \$ pour les trois premières années, et ce, selon la perspective du MSSS. Selon le scénario dans lequel l'analyse serait déployée à l'ensemble du Québec et où les analyses *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* réalisées par TAAN pour le cancer colorectal seraient remplacées complètement dès la première année, des coûts supplémentaires d'environ 144 000 \$ par année pour un total de 432 000 \$ pour les trois premières années sont à prévoir.

Par ailleurs, étant donné que le SNG possède une sensibilité analytique accrue relativement à la détection de mutations somatiques à faible concentration, son utilisation permettrait de reclasser 15,9 % de patients dont les tumeurs étaient initialement déclarées non mutées pour les gènes *RAS* [Ciardiello *et al.*, 2014]. Sur cette base, quelques patients parmi ceux pris en charge par le CHU de Sherbrooke ne recevraient plus d'anti-*EGFR*, permettant ainsi une réduction de coûts d'environ 100 000 \$. Si l'analyse était déployée pour l'ensemble des patients atteints de CCRm au Québec, il est estimé qu'environ une centaine de patients ne recevraient plus d'anti-*EGFR* permettant ainsi une réduction de coûts d'environ 2,5 M\$. Ces patients recevraient plutôt une chimiothérapie ou les meilleurs soins de soutien.

7. ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le séquençage de nouvelle génération est une technologie qui rend possible la caractérisation d'un grand nombre d'altérations génétiques en une analyse et favorise la découverte de nouveaux marqueurs pronostiques et prédictifs de la réponse à un traitement donné. Chez les patients atteints de CCRm en particulier, les échantillons ont tendance à être de petite taille en raison de la proportion de tissu normal dans les biopsies, restreignant ainsi les quantités d'ADN disponibles pour effectuer un test de génotypage. Par ailleurs, différentes études ont noté une reclassification de tumeurs mutées qui étaient initialement classées non mutées en utilisant des méthodes conventionnelles de génotypage.

L'utilisation de la trousse TST-15 sous-tend la disponibilité des résultats d'évaluation des douze autres gènes outre ceux des trois gènes ciblés par cette demande. Sachant qu'à l'avenir ces douze gènes pourraient être associés au CCRm ou à d'autres affections, il apparaît pertinent de s'interroger sur la divulgation des données générées auprès des médecins ou des compagnies d'assurance dans le cas échéant.

Une étude de contrôle de la qualité menée auprès de 131 laboratoires utilisant le SNG entre autres méthodes moléculaires a révélé qu'uniquement 37 d'entre eux étaient en mesure de tester les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 des gènes *NRAS* et *KRAS* [Tack *et al.*, 2015]. D'autre part, une autre étude a évalué le temps moyen de réponse à 10,4 jours ouvrables lorsque le séquençage Sanger était utilisé contre 13 jours pour le SNG. Toutefois, une réduction de coûts de 4,5 % ainsi que la possibilité de détecter de nouvelles mutations à faible fréquence ont été rapportées avec l'utilisation du SNG [Malapelle *et al.*, 2015].

Avec l'introduction croissante du séquençage de nouvelle génération dans la routine clinique, la formation d'un personnel de laboratoire notamment au niveau de la méthode et de l'interprétation des résultats constitue un enjeu important [Malapelle *et al.*, 2015; Tack *et al.*, 2015]. À cet effet, l'émergence du SNG dans le milieu clinique devra être soutenue par la création de postes de bio-informaticiens afin de garantir une interprétation et une utilisation optimales des données générées.

Il est à noter qu'un résultat faussement positif ou négatif pourrait engendrer des coûts supplémentaires ou alors exposer les patients à des toxicités graves causées par un traitement superflu [Tack *et al.*, 2015].

8. POSITIONS OU ORIENTATIONS D'ORGANISATIONS D'INTÉRÊT CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

American Society for Clinical Pathology (ASCP), College of American Pathologists (CAP), Association for Molecular Pathology (AMP), et American Society of Clinical Oncology (ASCO)

Une collaboration de l'ASCP, le CAP, l'AMP et de l'ASCO a mené à une revue systématique de la littérature afin d'émettre des recommandations sur l'utilisation des anti-*EGFR* dans le traitement du cancer colorectal. Selon ces organisations, les preuves sont insuffisantes pour soutenir une recommandation à évaluer le statut mutationnel de *BRAF* V600 pour prédire la réponse aux anti-*EGFR*. Néanmoins, elles recommandent d'analyser la mutation *BRAF* V600 chez les patients atteints de cancer colorectal pour des fins de stratification du pronostic. En revanche, l'évaluation du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* portant sur les codons 12 et 13 de l'exon 2, 59 et 61 de l'exon 3 ainsi que 117 et 146 de l'exon 4 est recommandée chez les patients atteints de cancer colorectal et susceptibles d'être traités avec des anti-*EGFR*. Une note ajoutée à la recommandation détermine le temps de réponse idéal pour cette détection à 10 jours ouvrables [Sepulveda *et al.*, 2017].

L'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux et le Groupe d'étude en oncologie du Québec (INESSS – Unité d'évaluation en cancérologie et GÉOQ)

L'INESSS et le GÉOQ ont émis la recommandation d'analyser le statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* portant sur les codons 12 et 13 de l'exon 2, 59 et 61 de l'exon 3 ainsi que 117 et 146 de l'exon 4 chez les patients atteints de cancer colorectal et devant être traités avec des anti-*EGFR*. Ils soulignent la controverse associée à l'utilisation du gène *BRAF* comme marqueur prédictif de la réponse thérapeutique [INESSS et GÉOQ, 2016].

National Comprehensive Cancer Network (NCCN)

Le NCCN recommande le traitement des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des anti-*EGFR* (cétuximab ou panitumumab) en première intention, uniquement chez ceux dont les tumeurs sont localisées à gauche et porteurs des gènes *KRAS* et *NRAS* non mutés. De plus, un groupe d'experts du NCCN recommande fortement l'analyse du génotype des tissus tumoraux chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique. Le statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* permet d'orienter promptement le traitement en cas de CCRm, tandis que celui de *BRAF* est requis au diagnostic [Benson *et al.*, 2017]. Néanmoins, le National Comprehensive Cancer Network souligne une évidence grandissante bien que non suffisante de l'implication de la mutation *BRAF* V600E dans la réponse au panitumumab ou au kétuximab.

European Society for Medical Oncology (ESMO)

L'ESMO recommande d'analyser chez les patients atteints du cancer colorectal métastatique le statut mutationnel du gène *BRAF* conjointement à celui des gènes *RAS*, afin d'en évaluer l'utilité pronostique ou d'affecter les patients dans les études cliniques [Van Cutsem *et al.*, 2016].

Groupe d'experts de la Spanish Society of Pathology (SEAP) et la Spanish Society of Medical Oncology (SEOM)

En 2015, un groupe d'experts de la SEAP et de la SEOM recommande l'évaluation du statut mutationnel des gènes *KRAS* et *NRAS* chez tous les patients porteurs d'un cancer colorectal métastatique et susceptibles de recevoir des anti-*EGFR*. En revanche, l'analyse du gène *BRAF* s'avère non pertinente pour le choix thérapeutique et ne nécessite pas d'être effectuée de façon routinière.

Alberta Health Services (AHS)

En 2014, le Alberta Health Services a inclus les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* dans le panel de biomarqueurs à analyser, en se servant d'un essai multiplex. Aucune mention n'a été faite du codon 59 des gènes *KRAS* et *NRAS* [AHS, 2014]. De plus, la mutation du gène *BRAF* est associée à un pauvre pronostic et rend inefficace un traitement d'anti-*EGFR* de première intention combinée à la chimiothérapie [AHS, 2016].

9. RECOMMANDATION DE L'INESSS

Analyse combinée des gènes *KRAS-NRAS-BRAF* par séquençage de nouvelle génération pour le traitement du cancer colorectal métastatique

La recommandation de l'INESSS

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

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ L'utilité clinique de l'analyse des gènes *KRAS* et *NRAS* est reconnue. Toutefois, des questionnements concernant l'utilité d'ajouter le gène *BRAF* à cette analyse ont été soulevés.
- ✓ L'introduction de cette analyse ne devrait pas avoir pour conséquence le retrait des autres analyses des gènes *KRAS* et *NRAS*.
- ✓ Le demandeur devrait préciser comment seront gérés les résultats des autres gènes couverts par la trousse utilisée (puisque'il s'agit d'un panel de 15 gènes, il sera important de masquer les résultats des gènes non inclus à l'analyse).

ANNEXE A : Algorithme de traitement du cancer colorectal métastatique ou avancé, inopérable

Le demandeur a également référé à l'algorithme réalisé par l'Institut national d'excellence en Santé et en Services sociaux (INESSS) et le Groupe d'étude en oncologie du Québec (GÉOQ) pour le traitement et le suivi du cancer colorectal métastatique (figure 2) [INESSS et GÉOQ, 2016].

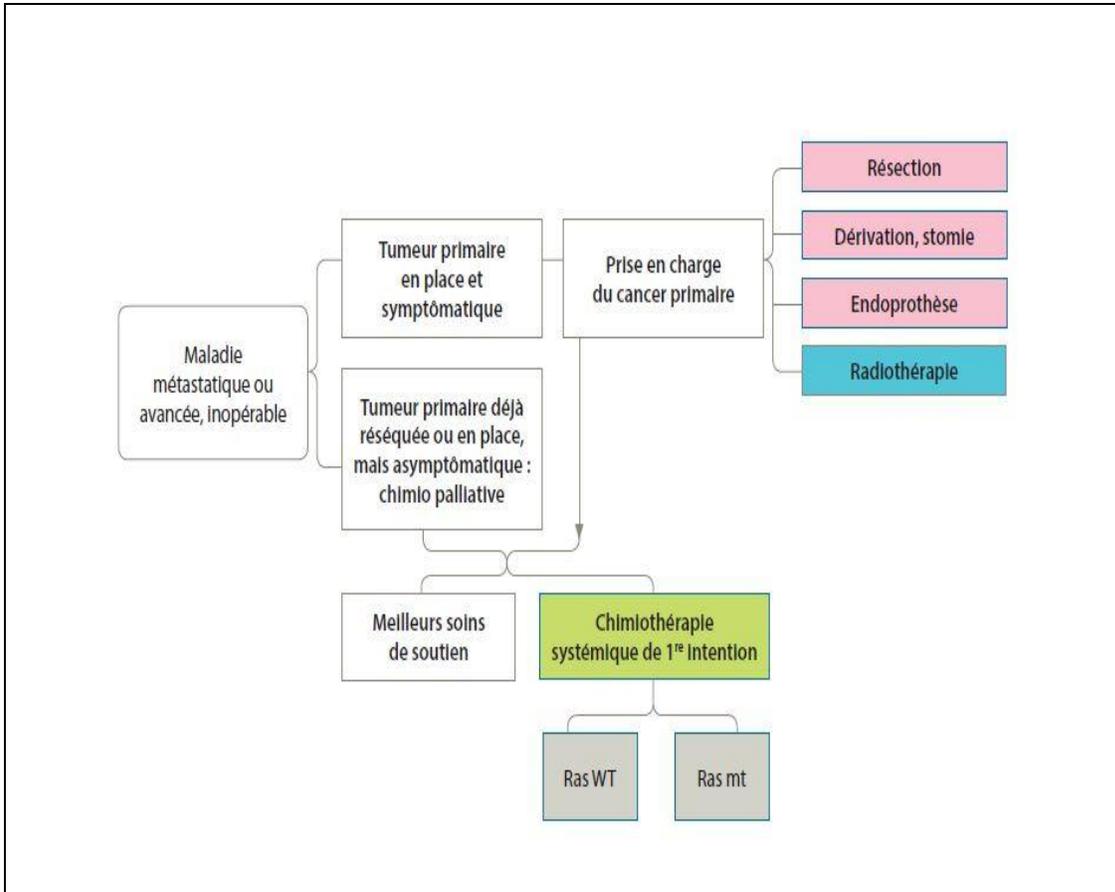


Figure 2 Algorithme de traitement d'un cancer colorectal métastatique ou avancé, inopérable

Source : Figure adaptée du document INESSS et GÉOQ, 2016.

Abréviations : WT : Type sauvage, traduit de l'anglais « wild type »; mt : mutant

RÉFÉRENCES

- Aaltonen LA, Peltomaki P, Mecklin JP, Jarvinen H, Jass JR, Green JS, et al. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res* 1994;54(7):1645-8.
- Alberta Health Services (AHS). Metastatic colorectal cancer. Clinical Practice Guideline G1-003. Version 9. Edmonton, AB : AHS; 2016.
- Alberta Health Services (AHS). Expanded cancer biomarker testing panel for colorectal cancer. Laboratory Bulletin, November 25, 2014. Edmonton, AB : AHS; 2014. Disponible à : <https://www.albertahealthservices.ca/assets/wf/lab/wf-lab-bulletin-expanded-cancer-biomarker-testing-panel-colorectal-cancer.pdf>.
- Benson AB 3rd, Venook AP, Cederquist L, Chan E, Chen YJ, Cooper HS, et al. Colon Cancer, Version 1.2017: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2017;15(3):370-98.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, Smith GP, Milton J, Brown CG, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 2008;456(7218):53-9.
- BlueCross BlueShield (BCBS) of Kansas. KRAS, NRAS and BRAF mutation analysis in metastatic colorectal cancer. Topeka, KS : BCBS; 2016. Disponible à : <https://pdfs.semanticscholar.org/8209/802266a82a6ae1ea55e3d03dd8ba1e8b35b0.pdf>.
- Bristol-Myers Squibb Canada. Erbitux^{MC} en association avec la chimiothérapie maintenant approuvé au Canada comme traitement de première intention chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique [communiqué de presse]. Montréal, Qc : Bristol-Myers Squibb Canada; 2013. Disponible à : <https://www.newswire.ca/fr/news-releases/erbituxmc-en-association-avec-la-chimiotherapie-maintenant-approuve-au-canada-comme-traitement-de-premiere-intention-chez-les-patients-atteints-de-cancer-colorectal-metastatique-511828901.html>.
- Brulé SY, Jonker DJ, Karapetis CS, O'Callaghan CJ, Moore MJ, Wong R, et al. Location of colon cancer (right-sided versus left-sided) as a prognostic factor and a predictor of benefit from cetuximab in NCIC CO.17. *Eur J Cancer* 2015;51(11):1405-14.
- Ciardiello F, Normanno N, Martinelli E, Troiani T, Piscanti S, Cardone C, et al. Cetuximab continuation after first progression in metastatic colorectal cancer (CAPRI-GOIM): A randomized phase II trial of FOLFOX plus cetuximab versus FOLFOX. *Ann Oncol* 2016;27(6):1055-61.
- Ciardiello F, Normanno N, Maiello E, Martinelli E, Troiani T, Piscanti S, et al. Clinical activity of FOLFIRI plus cetuximab according to extended gene mutation status by next-generation sequencing: Findings from the CAPRI-GOIM trial. *Ann Oncol* 2014;25(9):1756-61.

- De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: A retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010;11(8):753-62.
- Dienstmann R et Tabernero J. Spectrum of gene mutations in colorectal cancer: Implications for treatment. *Cancer J* 2016;22(3):149-55.
- Gong J, Cho M, Sy M, Salgia R, Fakih M. Molecular profiling of metastatic colorectal tumors using next-generation sequencing: A single-institution experience. *Oncotarget* 2017;8(26):42198-213.
- Hawkes E et Cunningham D. Relationship between colorectal cancer biomarkers and response to epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies. *J Clin Oncol* 2010;28(28):e529-31; author reply e532-3.
- Hsu H-C, Thiam TK, Lu Y-J, Yeh CY, Tsai W-S, You JF, et al. Mutations of KRAS/NRAS/BRAF predict cetuximab resistance in metastatic colorectal cancer patients. *Oncotarget* 2016;7(16):22257-70.
- Illumina. TruSight^{MC} Tumor 15. Reference guide. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2016. Disponible à : https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/trusight/trusight-tumor-15-reference-guide-1000000001245-05.pdf.
- Illumina. Quality scores for next-generation sequencing: Assessing sequencing accuracy using Phred quality scoring. San Diego, CA : Illumina Inc.; 2011. Disponible à : https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf.
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Vectibix^{MC} – Cancer colorectal métastatique. Québec, Qc : INESSS; 2017. Disponible à : http://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Inscription_medicaments/Avis_au_ministre/Juillet_2017/Vectibix_publication_2017_07.pdf.
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Recherche de mutations ciblées dans les exons 2, 3 et 4 du gène NRAS dans les tumeurs colorectales métastatiques (Référence - 2014.03.007R). Québec, Qc : INESSS; 2016. Disponible à : https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse_biomedicale/Juin_2016/INESSS-Avis_analyses_bm-juin16_1_mutations_exons2_3_4_genes_NRAS_tumeurs_colorectales_metastatiques.pdf.
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) et Groupe d'étude en oncologie du Québec (GÉOQ). Algorithmes d'investigation de traitement et de suivi – Cancer du côlon (mise à jour). Québec, Qc : INESSS et GÉOQ; 2016. Disponible à : https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Rapports/Oncologie/INESSS_Algorithme_traitement_cancer_colon.pdf.

- Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). Colorectal cancer: Overview [site Web]. Informed Health Online. Cologne, Allemagne : IQWiG; 2017. Disponible à : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0072382/>.
- Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, Zalcberg JR, Tu D, Au HJ, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007;357(20):2040-8.
- Krahn M, Lévy N, Bartoli M. Le séquençage de nouvelle génération (Next-Generation Sequencing, ou NGS) appliqué au diagnostic de maladies monogéniques hétérogènes. *Cah Myol* 2016;(13):31-3.
- Malapelle U, Vigliar E, Sgariglia R, Bellevicine C, Colarossi L, Vitale D, et al. Ion Torrent next-generation sequencing for routine identification of clinically relevant mutations in colorectal cancer patients. *J Clin Pathol* 2015;68(1):64-8.
- Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: Results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011;377(9783):2103-14.
- Meric-Bernstam F, Brusco L, Shaw K, Horombe C, Kopetz S, Davies MA, et al. Feasibility of large-scale genomic testing to facilitate enrollment onto genomically matched clinical trials. *J Clin Oncol* 2015;33(25):2753-62.
- Messersmith WA. Systemic management of colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2017;15(5S):699-702.
- Moretto R, Cremolini C, Rossini D, Pietrantonio F, Battaglin F, Mennitto A, et al. Location of primary tumor and benefit from anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in patients with RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer. *Oncologist* 2016;21(8):988-94.
- Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ). Liste des médicaments – Établissements. 15 décembre 2017. Québec, Qc : RAMQ; 2017. Disponible à : http://www.ramq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/liste_med/2017/liste_med_etab_2017_12_15_fr.pdf.
- Rowland A, Dias MM, Wiese MD, Kichenadasse G, McKinnon RA, Karapetis CS, Sorich MJ. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2015;112(12):1888-94.
- Sakai K, Tsurutani J, Yamanaka T, Yoneshige A, Ito A, Togashi Y, et al. Extended RAS and BRAF mutation analysis using next-generation sequencing. *PLoS One* 2015;10(5):e0121891.
- Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, et al. Molecular biomarkers for the evaluation of colorectal cancer: Guideline from the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *J Mol Diagn* 2017;19(2):187-225.

- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2017. Sujet particulier : le cancer du pancréas. Toronto, ON : SCC; 2017.
Disponible à :
<http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/publications/Canadian%20Cancer%20Statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2017-FR.pdf>.
- Summers MG, Smith CG, Maughan TS, Kaplan R, Escott-Price V, Cheadle JP. BRAF and NRAS locus-specific variants have different outcomes on survival to colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(11):2742-9.
- Tack V, Ligtenberg MJL, Tembuysen L, Normanno N, Vander Borght S, Han van Krieken J, Dequeker EM. External quality assessment unravels interlaboratory differences in quality of RAS testing for anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Oncologist* 2015;20(3):257-62.
- Tremblay L. Intérêt de la thérapie ciblée pour le cancer du poumon non à petites cellules de stade avancé. *Pharmactuel* 2014;47(1):9-10.
- Van Brummelen EM, de Boer A, Beijnen JH, Schellens JH. BRAF mutations as predictive biomarker for response to anti-EGFR monoclonal antibodies. *Oncologist* 2017;22(7):864-72.
- Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016;27(8):1386-422.
- Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F, Fruth B, Greene C, O'Neil BH, et al. Impact of primary (1^o) tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol* 2016;34(15 Suppl):3504.
- Wasan H, Meade AM, Adams R, Wilson R, Pugh C, Fisher D, et al. Intermittent chemotherapy plus either intermittent or continuous cetuximab for first-line treatment of patients with KRAS wild-type advanced colorectal cancer (COIN-B): A randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(6):631-9.

Siège social

2535, boulevard Laurier, 5^e étage
Québec (Québec) G1V 4M3
418 643-1339

Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12^e étage, bureau 1200
Montréal (Québec) H3A 2S9
514 873-2563
inesss.qc.ca

