



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ÉVALUER

LES TECHNOLOGIES DE SANTÉ

**RAPPORT
D'ÉVALUATION**

Annexes : Définition des conditions de réalisation des tests de détection des mutations activatrices de l'EGFR et des mutations BRAF, NRAS, et KRAS

Validé par le Collège le 9 septembre 2021

Descriptif de la publication

Titre	Annexes : Définition des conditions de réalisation des tests de détection des mutations activatrices de l'EGFR et des mutations BRAF, NRAS, et KRAS
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Objectif(s)	Définir la population cible et les conditions de réalisation des tests de détection des mutations activatrices de l'EGFR et des mutations BRAF, NRAS, et KRAS
Cibles concernées	Oncologues, médecins spécialisés en anatomo-cytopathologie, médecins spécialisés en biologie moléculaire, patients concernés par les indications du test compagnon
Demandeur	Union Nationale des Caisse d'assurance maladie (UNCAM)
Promoteur(s)	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Sébastien Bine et Nassima Yahiaoui, chefs de projet SEAP (chef de service : Cédric Carbonneil, adjointe au chef de service : Nadia Squalli) Secrétariat : Lina Biscosi, assistante, SEAP
Recherche documentaire	Stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 1. Réalisée par Emmanuelle Blondet documentaliste, et de Sylvie Lascols, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique Pagès, cheffe du service documentation - veille, et Christine Devaud, adjointe à la cheffe de service
Auteurs	Sébastien Bine et Nassima Yahiaoui, chefs de projet SEAP, sous la responsabilité de Nadia SQUALLI, adjointe au chef de service SEAP
Validation	Version du 9 septembre 2021
Actualisation	
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr

Ce document ainsi que sa référence bibliographique sont téléchargeables sur www.has-sante.fr 

Haute Autorité de santé – Service communication information

5 avenue du Stade de France – 93218 Saint-Denis la Plaine Cedex. Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00

© Haute Autorité de santé – septembre 2021 – ISBN : 978-2-11-162675-1

Table des annexes

Annexe 1.	Avis de la HAS relatif au test de détection des mutations activatrices de l'EGFR-TK dans le cancer du poumon	4
Annexe 2.	Avis de la HAS relatif au test de détection d'une mutation BRAF dans le mélanome cutané	5
Annexe 3.	Avis de la HAS relatif au test de détection d'une mutation KRAS dans le cancer colorectal	6
Annexe 4.	Avis de la HAS relatif au test de détection d'une mutation NRAS dans le cancer colorectal	7
Annexe 5.	Stratégie de recherche bibliographique	8
Annexe 6.	Références bibliographiques sélectionnées	10
Annexe 7.	Modèle de compte-rendu de génétique moléculaire (CR-GM) pour la recherche de mutations somatiques mis à disposition sur le site de l'INCa	11
Annexe 8.	Formulaire COFRAC SH FORM 43 : vérification / validation d'une méthode de biologie médicale	13
Annexe 9.	Réponses des parties prenantes	21

Annexe 1. Avis de la HAS relatif au test de détection des mutations activatrices de l'EGFR-TK dans le cancer du poumon

REPUBLIQUE FRANCAISE



AVIS N° 2014.0117/AC/SEAP du 17 décembre 2014 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au « Test de détection des mutations activatrices du domaine tyrosine kinase du récepteur EGFR dans le cancer du poumon »

Le collège de la Haute Autorité de santé, ayant valablement délibéré en sa séance du 17 décembre 2014,

Vu l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale,
Vu la saisine de l'assurance maladie en date du 29 avril 2011,

Considérant les autorisations de mise sur le marché des spécialités IRESSA, TARCEVA et GIOTRIF dont les indications prévoient la réalisation du test de détection des mutations activatrices du domaine tyrosine kinase du récepteur EGFR dans le cancer du poumon,

Considérant l'avis de la Commission de la transparence du 4 novembre 2009 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau IV (mineur) dans cette indication pour la spécialité IRESSA,

Considérant l'avis de la Commission de la transparence du 6 juin 2012 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau IV (mineur) dans cette indication pour la spécialité TARCEVA,

Considérant l'avis de la Commission de la transparence du 23 juillet 2014 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau V (absence d'amélioration) dans cette indication pour la spécialité GIOTRIF,

ADOpte L'AVIS SUIVANT :

Le service attendu du test de détection des mutations activatrices du domaine tyrosine kinase du récepteur EGFR dans le cancer du poumon est suffisant dans les indications des spécialités IRESSA, TARCEVA et GIOTRIF prévoyant un tel acte.

Le niveau de l'amélioration du service attendu de cet acte correspond au niveau le plus élevé de l'amélioration du service rendu des spécialités IRESSA, TARCEVA et GIOTRIF soit niveau IV (mineure).

Le collège est favorable à l'inscription du test de détection des mutations activatrices du domaine tyrosine kinase du récepteur EGFR dans le cancer du poumon sur la liste mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale.

Fait le 17 décembre 2014

Pour le collège :
Le président,
PR J.-L. HAROUSSEAU
signé

Annexe 2. Avis de la HAS relatif au test de détection d'une mutation BRAF dans le mélanome cutané

REPUBLIQUE FRANCAISE



AVIS N° 2014.0118/AC/SEAP du 17 décembre 2014 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au « Test de détection d'une mutation BRAF V600 dans le mélanome »

Le collège de la Haute Autorité de santé, ayant valablement délibéré en sa séance du 17 décembre 2014,

Vu l'article L.162-1-7 du code de la sécurité sociale,
Vu la saisine de l'assurance maladie en date du 29 avril 2011,

Considérant les autorisations de mise sur le marché des spécialités ZELBORAF et TAFINLAR dont les indications prévoient la réalisation de la détection d'une mutation du gène BRAF V600,

Considérant l'avis de la Commission de la transparence du 3 octobre 2012 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau III (modéré) dans la stratégie de traitement du mélanome non résecable ou métastatique et porteur d'une mutation BRAF V600 pour la spécialité ZELBORAF,

Considérant l'avis de la Commission de la transparence du 7 mai 2014 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau V (absence d'amélioration) dans la stratégie de traitement du mélanome non résecable ou métastatique et porteur d'une mutation BRAF V600 pour la spécialité TAFINLAR,

ADOpte L'AVIS SUIVANT :

Le service attendu du test de détection des mutations V600 du gène BRAF dans le mélanome est suffisant dans les indications des spécialités ZELBORAF et TAFINLAR.

Le niveau de l'amélioration du service attendu de cet acte correspond au niveau le plus élevé de l'amélioration du service médical rendu des spécialités ZELBORAF et TAFINLAR soit niveau III (modéré).

Le collège est favorable à l'inscription du test de détection des mutations V600 du gène BRAF dans le mélanome sur la liste mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale.

Fait le 17 décembre 2014

Pour le collège :
Le président,
PR J.-L. HAROUSSEAU
signé

Annexe 3. Avis de la HAS relatif au test de détection d'une mutation KRAS dans le cancer colorectal

REPUBLIQUE FRANCAISE



Avis n°2015.0014/AC/SEAP 12 février 2015 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au « Test de détection des mutations du gène *KRAS* dans le cancer colorectal »

Le collège de la Haute Autorité de santé, ayant valablement délibéré en sa séance du 12 février 2015,

Vu l'article L.162-1-7 du code de la sécurité sociale,
Vu la saisine de l'Assurance maladie en date du 29 avril 2011,

Considérant les autorisations de mise sur le marché des spécialités VECTIBIX et ERBITUX dont les indications prévoient la détection des mutations du gène *KRAS* dans le cancer colorectal,

Considérant les avis de la Commission de la transparence des 30 avril 2008 et 17 octobre 2012 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau V (absence d'amélioration) dans cette indication pour la spécialité VECTIBIX,

Considérant les avis de la Commission de la transparence du 13 mai 2009 concluant dans cette indication, à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau IV (mineur) et de niveau V (absence d'amélioration) pour la spécialité ERBITUX,

ADOpte L'AVIS SUIVANT :

Le service attendu du test de détection des mutations du gène *KRAS* dans le cancer colorectal est suffisant dans les indications des spécialités VECTIBIX et ERBITUX prévoyant un tel acte.
Le niveau de l'amélioration du service attendu de cet acte correspond au niveau le plus élevé de l'amélioration du service rendu des spécialités VECTIBIX et ERBITUX soit niveau IV (mineure).

Le collège est favorable à l'inscription du test de détection des mutations du gène *KRAS* dans le cancer colorectal sur la liste mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale.

Fait le 12 février 2015

Pour le collège :
Le président,
PR J.-L. HAROUSSEAU
signé

Annexe 4. Avis de la HAS relatif au test de détection d'une mutation NRAS dans le cancer colorectal

REPUBLIQUE FRANCAISE



Avis n°2015.0013/AC/SEAP 12 février 2015 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au « Test de détection des mutations du gène NRAS dans le cancer colorectal »

Le collège de la Haute Autorité de santé, ayant valablement délibéré en sa séance du 12 février 2015,

Vu l'article L.162-1-7 du code de la sécurité sociale,
Vu la saisine de l'Assurance maladie en date du 29 avril 2011,

Considérant l'autorisation de mise sur le marché de la spécialité VECTIBIX dont les indications prévoient la détection des mutations du gène NRAS dans le cancer colorectal,

Considérant les avis de la Commission de la transparence du 3 septembre 2014 concluant à un service médical rendu important et à une amélioration du service médical rendu de niveau V (absence d'amélioration) dans cette indication pour la spécialité VECTIBIX,

ADOpte L'AVIS SUIVANT :

Le service attendu du test de détection des mutations du gène NRAS dans le cancer colorectal est suffisant dans l'indication de la spécialité VECTIBIX prévoyant un tel acte.

Le niveau de l'amélioration du service attendu de cet acte correspond au niveau de l'amélioration du service rendu de la spécialité VECTIBIX soit niveau V (absence).

Le collège est favorable à l'inscription du test de détection des mutations du gène NRAS dans le cancer colorectal sur la liste mentionnée à l'article L.162-1-7 du code de la sécurité sociale.

Fait le 12 février 2015

Pour le collège :
Le président,
PR J.-L. HAROUSSEAU
signé

Annexe 5. Stratégie de recherche bibliographique

Bases de données bibliographiques automatisées interrogées :

- ➔ *Medline (National Library of Medicine, Etats-Unis);*
- ➔ *The Cochrane Library (Wiley Interscience, Etats-Unis) ;*
- ➔ *Science Direct (Elsevier) ;*
- ➔ *Lissa.*

Sujet	Termes utilisés dans la base de données	Période
Test de recherche de mutation en génétique somatique		01/2018 - 02/2020
	Méta-analyse, revues systématiques	
Etape 1	(EGFR OR BRAF OR KRAS OR NRAS) [title]	
AND		
Etape 3	"Meta-Analysis as Topic"[Mesh] OR "Meta-Analysis "[Publication Type] OR "Review Literature as Topic"[Mesh] OR "Meta-Analysis" OR "systematic Review" OR "Literature review" OR "Quantitative Review" OR "pooled analysis" [title/abstract]	

Les recommandations de bonnes pratiques ont été recherchées sur les sites des agences de cancérologie nationales et internationales.

Les sites Internet internationaux des sociétés pertinentes cités ci-dessous ont été explorés en complément des sources interrogées systématiquement :

- *Adelaide Health Technology Assessment*
- *Agencia de Evaluación de Tecnología e Investigación Médicas de Cataluña*
- *Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia*
- *Agency for Healthcare Research and Quality*
- *Alberta Heritage Foundation for Medical Research*
- *Alberta Health Services,*
- *American Society of Clinical Oncology*
- *American College of Physicians*
- *American Medical Association*
- *Australian Government - Department of Health and Ageing*
- *Blue Cross Blue Shield Association - Technology Evaluation Center*
- *Bibliothèque médicale Lemanissier*
- *Bristish Columbia Cancer Agency*
- *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health*
- *Centers for Disease Control and Prevention*
- *California Technology Assessment Forum*

- *Cancer Care Ontario*
- *Cancer Guidelines Database*
- *Centre fédéral d'expertise des soins de santé*
- *CISMeF*
- *CMAInfobase*
- *Collège des Médecins du Québec*
- *Cochrane Library Database*
- *Centre for Review and Dissemination databases*
- *Department of Health (UK)*
- *ECRI Institute*
- *Evaluation des Technologies de Santé pour l'Aide à la Décision*
- *Euroscan*
- *GIN (Guidelines International Network)*
- *Haute Autorité de santé*
- *Horizon Scanning*
- *Institut national du cancer,*
- *Institute for Clinical Systems Improvement*
- *Institut National d'Excellence en Santé et en Services Sociaux*
- *Institut national de veille sanitaire*
- *International Agency for Research on Cancer (IARC)*
- *Iowa Healthcare collaborative*
- *National Comprehensive Cancer Network*
- *National Coordinating Centre for Health Technology Assessment*
- *National Horizon Scanning Centre*
- *National Health and Medical Research Council*
- *National Health committee*
- *National Institute for Health and Clinical Excellence*
- *National Institutes of Health*
- *New Zealand Guidelines Group*
- *Société européenne d'oncologie médicale ESMO*
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network*
- *Singapore Ministry of Health*
- *Société française de dermatologie*
- *West Midlands Health Technology Assessment Collaboration*
- *World Health Organization*

Annexe 6. Références bibliographiques sélectionnées

Tableau 1 : Références bibliographiques sélectionnées

Nature du document	Auteur	Titre	Référence
Rapport d'évaluation technologique	HAS	Évaluation des actes de préparation, qualification et sélection d'un échantillon tissulaire ou cellulaire pour analyse de génétique somatique des cancers	Haute Autorité de Santé, 2019 (1)
Guide de bonne pratique	INCa	Bonnes pratiques pour la recherche à visée théragnostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides	Institut national du cancer, 2010 (28)
Guide méthodologique	INCa	Validation de méthodes pour la recherche de mutations en génétique somatique. Document destiné aux laboratoires de biologie moléculaire pour accompagner la démarche de validation des techniques d'analyse.	Institut national du cancer, 2014 (29)
Référentiel	Agence du numérique en santé / INCa	Compte rendu de génétique moléculaire (CANCER-CR-GM V2021.01) Spécifications fonctionnelles	Agence du numérique en santé, 2021 (31)
Référentiel régional	Onco-occitanie réseau régional de cancérologie	Référentiel de biologie moléculaire 2020	Onco-Occitanie réseau régional de cancérologie, 2020 (30)
Référentiel	COFRAC	Exigences pour l'accréditation selon les normes NF EN ISO 15189 et NF EN ISO 22870 – SH-REF-02	Comité français d'accréditation, 2019 (32)
Référentiel	COFRAC	Expression et évaluation des portées d'accréditation - SH REF 08 COFRAC	Comité français d'accréditation, 2019 (33)
Référentiel	COFRAC	Guide technique d'accréditation de vérification (portée a) / Validation (portée b) des méthodes en biologie médicale - document SH-GTA- 04	Comité français d'accréditation, 2015 (34)
Article scientifique	Blons et Laurent-Puig	Aspect technique de la détermination du statut KRAS dans le cancer colorectal et mise en place en France	Blons et Laurent-Puig, 2009 (36)
Article scientifique	van Krieken <i>et al.</i>	<i>RAS testing in metastatic colorectal cancer: advances in Europe</i>	van Krieken <i>et al.</i> , 2016 (25)
Article scientifique	SRLF	Nouvelles techniques de biologie moléculaire	Société de réanimation de langue française, 2019 (37)
Recommandations	ASCP/CAP/AMP/ASCO	<i>Molecular biomarkers for the evaluation of colorectal cancer</i>	<i>American Society for Clinical Pathology</i> , 2017 (35)

Annexe 7. Modèle de compte-rendu de génétique moléculaire (CR-GM) pour la recherche de mutations somatiques mis à disposition sur le site de l'INCa

I. MODÈLE DE COMPTE RENDU DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE POUR LA RECHERCHE DE MUTATIONS SOMATIQUES

IDENTIFICATION DU LABORATOIRE			
Titre de l'examen			
EXAMEN N° : [code ou identifiant unique de l'échantillon par le laboratoire de génétique somatique]			
▪ Patient :	Nom	Prénom	Nom de naissance
	Né(e) le	Sexe : F/H	
▪ Réalisé à partir du prélèvement référence	[n° identification du bloc dans le laboratoire pathologie d'origine]		
	datant du [date du prélèvement]		
▪ Reçu le	[date d'arrivée du prélèvement sur la plateforme]		
▪ Prescrit par :	[nom, prénom et coordonnées du prescripteur]		le [date de la prescription]
▪ Motif de l'analyse demandée :	[préciser ici le contexte clinique de la demande]		
RENSEIGNEMENTS ANATOMO-CYTO-PATHOLOGIQUES :			
▪ Type de prélèvement [pièce opératoire, biopsie, cytologie...] et organe :			
▪ Type histologique et état tumoral (primitif, métastase et origine) :			
▪ Pathologiste responsable du diagnostic : [nom, prénom et coordonnées du pathologiste responsable du diagnostic initial]			
▪ Type de matériel tumoral : [FFPE, matériel congelé] et type de prélèvement [fragment, ponction, cDNA...]			
▪ Analyse réalisée sur une zone sélectionnée par le Dr [pathologiste de la plateforme] comportant [x] % de cellules tumorales.			
RÉSULTATS			
▪ Variants dont l'impact clinique est connu classe 3, avec AMM dans la pathologie, à décrire selon la nomenclature HGVS			
Gène	Séquence de référence	Variant	Altération protéique
Ex : EGFR	NM_005228.3	c.2573T>G	p.Leu584Arg
▪ Variants à discuter en RCP moléculaire classes 4 et 5 sans AMM dans la pathologie, à décrire selon la nomenclature HGVS			
Gène	Séquence de référence	Variant	Altération protéique
Ex : MET	NM_001127508.1	c.2942-2A>G	variant d'épissage
▪ Autres variants dont la valeur prédictive est inconnue classe 3, à décrire selon la nomenclature HGVS			
Gène	Séquence de référence	Variant	Altération protéique
▪ Gènes pour lesquels aucune anomalie n'a été retrouvée [les lister, selon la nomenclature HGVS]			
▪ Résultat non interprétable pour les gènes [les lister, en raison d'une profondeur de séquençage insuffisante]			
▪ Résultat non interprétable [préciser la raison]			
▪ Analyse non réalisable [préciser la raison]			
		Fait à [lieu]	le [date du compte rendu]
		Signature	


CONCLUSION / INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS EN L'ÉTAT ACTUEL DES CONNAISSANCES :

- Dans la limite des techniques utilisées, aucune mutation n'a été détectée dans le(s) exon(s) X du gène X.
Commentaire éventuel pour un patient ayant un cancer colorectal et sans mutation de KRAS : Il n'est pas détecté de mutations de résistance aux traitements par des anticorps anti-EGFR.
- Présence de la mutation [nom usuel, par exemple L858R] du gène X conférant une sensibilité à [nom de la classe de thérapie ciblée].
- Présence de la mutation [nom usuel] du gène X conférant une résistance à [nom de la classe de thérapie ciblée].
- Présence d'une mutation du gène X de valeur prédictive indéterminée de réponse à [nom de la classe de thérapie ciblée].
- Dans la limite des techniques utilisées, aucune mutation n'a été détectée dans le(s) exon(s) X du gène X. Étant donné le faible % (< X %) de cellules tumorales présentes dans l'échantillon analysé, ce résultat est non contributif : il est donc recommandé d'effectuer un contrôle sur un prélèvement plus riche en cellules tumorales.
- Étant donnée la qualité et/ou [ou choix] quantité de l'ADN extrait du prélèvement transmis, l'analyse n'est pas réalisable et/ou [ou choix] interprétable. Un nouveau prélèvement serait nécessaire.
- Analyse non réalisable car [tissu nécrosé, bloc épuisé].
- Présence d'une mutation du gène [altération de classe 4 ou 5, nom usuel] à discuter en RCP moléculaire. [possibilité d'ajouter des précisions sur l'existence d'essais cliniques sur ce gène, notamment pour le programme AcSé]
- Détection d'un gain/perte de copies du gène [altération de classe 4 ou 5, nom usuel] suggérant l'existence d'une amplification/délétion du gène. Ce résultat doit impérativement être vérifié par une technique complémentaire validée. L'intérêt clinique de cette altération est à discuter en RCP moléculaire.

MÉTHODE

- Analyse réalisée à partir d'un prélèvement (bloc / nombre de lames blanches / copeaux / tissu congelé) fixé au [si information disponible], après macrodissection [ou selon autre méthode] de la zone d'intérêt.
- Méthode d'extraction de l'ADN génomique tumoral [si un kit commercial est utilisé : nom et version]
- Méthode d'analyse [si un kit commercial est utilisé : nom et version], séquenceur utilisé, sensibilité, profondeur minimale, liste des gènes et des exons analysés, version du génome de référence utilisé, niveau de couverture des exons et séquence de référence [accession number]
- Version du pipeline d'analyse

Annexe 8. Formulaire COFRAC SH FORM 43 : vérification / validation d'une méthode de biologie médicale



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Note : le laboratoire se référera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera une fiche par examen de biologie médicale

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) :
Processus simple <input type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)

DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Sous-processus 1	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation ¹ : <input type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input type="checkbox"/> 5. Exactitude <input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input type="checkbox"/> 10. Interférences <input type="checkbox"/> 11. Contamination <input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence
Sous-processus 2	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation : <input type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input type="checkbox"/> 5. Exactitude <input type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input type="checkbox"/> 10. Interférences <input type="checkbox"/> 11. Contamination <input type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs <input type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence
Sous-processus ...		

Pour chaque étape, le laboratoire procédera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 2 à 8 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un autre élément du processus lui semble critique, il devra vérifier / valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique.

Argumentaire (le cas échéant) :

¹ Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu a minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, a minima.

Le types de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer.
L'absence d'applicabilité de certains items (NA) doit être justifiée dans le corps du document.



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

SOUS-PROCESSUS 1 : titre

Portée A ; Portée B (à justifier)

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Cf. §G.2.2. du SH GTA 04
Principe de la Méthode :	Cette information est retrouvée sous le terme de « principe général des techniques » dans le SH INF 50 (colonne « principe de la méthode »)
Type d'échantillon primaire :	Préciser la matrice : urine, sang total, sérum, plasma, ADN, tissu congelé/fixé ...
Type de récipient, additifs :	Préciser le type de contenant : tube/additif/présence ou non d'un séparateur, flacon/milleux de transport, écouvillon...
Prétraitement de l'échantillon :	Modalités de prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, acidification, alcalinisation, extraction ...)
Unités :	Mode d'expression du résultat (unités, ratio, ...)
Critères d'interprétation ² :	Intervalles de référence : origine et définition par critères démographiques ; valeurs seuils, ...
Marquage CE (Oui/Non) :	Marquage CE (Oui/Non)
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	Consulter le site de l'ANSM
Équipement (instrument, analyseur, etc.) :	marque, modèle, référence
Référence du réactif :	référence fournisseur, version notice
Matériau d'étalonnage (références) :	Raccordement métrologique
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Type d'étalonnage (linéaire, non linéaire), préciser le nombre de niveaux et les valeurs des niveaux

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	identité de l'opérateur
Procédure de validation/mode opératoire :	référence et version de la procédure utilisée
Procédure de gestion de la portée flexible :	référence et version de la procédure utilisée
Période d'étude :	Préciser Du : xx/xx/xx au xx/xx/xx Préciser si reprise des résultats antérieurs
Date de 1 ^{ère} utilisation :	préciser xx/xx/xx (mise en route de l'automate)

² Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité³	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Identité		Formation et information du personnel	Procédure d'identitovigilance du laboratoire
	Préparation du patient		Information des patients et préleveurs	Instructions de prélèvement
	Type de contenants		Formation des préleveurs	Instructions de prélèvement Critères d'acceptation/de refus
	Nature et volume de l'échantillon		Contrôle à réception	
	Délai et température avant traitement analytique		Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	
	Prétraitement : centrifugation, ...		Conditions de centrifugation, ...	Critères de centrifugation
	Interférences		Formation des préleveurs Contrôle à réception	Instruction de formation du personnel
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)		Métrologie/suivi des enceintes	Instructions de conservation Enregistrements métrologiques
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)			
	Exigences environnementales pour le matériel ou l'opérateur		Conditions environnementales (statiques et/ou dynamiques dans le temps) Lecture à la lumière du jour	Exigences / manuel d'utilisation du fournisseur Enregistrements des conditions environnementales
Matériel (équipements)	Qualité de l'eau		Mesure de la résistivité / stérilité	Traçabilité des vérifications
	Surveillance des dérives		Périodicité des maintenances Maîtrise des équipements (suivi métrologique, raccordement, ...)	Enregistrements des maintenances Traçabilité métrologique, CIQ/EEQ
	Contamination		Respect des conditions opératoires du fournisseur	Bibliographie et/ou enregistrement de l'essai sur site
	Informatique embarquée		Paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données, ...	Enregistrements des jeux d'essai

³ A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ³	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation		Métrie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiches fournisseur Traçabilité métrologique
	Gestion des stocks		Acceptation à réception des réactifs Gestion des stocks	Procédure de gestion des stocks (y compris acceptation à chaque livraison)
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles		Métrie des pipettes Respect du mode opératoire de reconstitution et gestion des stocks (y compris acceptation)	Traçabilité métrologique Instructions de reconstitution
Méthode	Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, ...)		Limite de détection, limite de quantification, linéarité, interférences, ... Sensibilité, spécificité	Voir SH GTA 04 §9.6.1.7
	Causes d'incertitude de mesure		Calcul des incertitudes de mesure (non quantifiable pour les méthodes qualitatives)	Voir SH GTA 04 §9.6.1.5
Main d'œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel		Formation et évaluation des compétences du personnel, plan de formation Disponibilité du personnel pour assurer le respect de la procédure (par exemple tests à lecture subjective)	Enregistrements des compétences du personnel Traçabilité de l'occupation des postes de travail



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) :

REPETABILITE

Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source ⁴)	Conclusion ⁵
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion :

FIDELITE INTERMEDIAIRE

Applicable ; non applicable (à justifier)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source ⁴)	Conclusion ⁵
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux...)							

Argumentaire de la conclusion :

VARIABILITE INTER-OPERATEURS

Applicable ; non applicable

Opérateur évalué 1	Essai sur site – résultats de la variabilité
Opérateur évalué 2	
...	

Argumentaire de la conclusion :

⁴ Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA...). Préciser la référence utilisée.

⁵ Conforme/non conforme



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) Limite ⁴	Conclusion ⁵
Echantillon CIQ niveau 1								
Echantillon CIQ niveau 2								

Argumentaire de la conclusion :

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
				A renseigner pour les contrôles quantitatifs			

Argumentaire de la conclusion :

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Vrais positifs	Spécificité, sensibilité, VPN, VPP
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion :

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	Formule utilisée	Référence
Quantification de l'incertitude (niveau 1) :	Niveau 1 en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau 1 en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau 2) :	Niveau 2 en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau 2 en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude
Quantification de l'incertitude (niveau xxx) :	Niveau xxx en valeur absolue $\pm U$ ou Niveau xxx en valeur absolue $\pm U\%$	Exigences en fidélité, justesse et incertitude

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) :



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable ; non applicable

Limite de détection :	LD trouvée ou référence bibliographique
-----------------------	---

Argumentaire de la conclusion :

COMPARAISON DE METHODES : Applicable ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Références méthodes
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Appareils en miroir : préciser les références des appareils comparés
Nombre de mesures :	30
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	Préciser les valeurs minimum et maximum de l'étendue des mesures
Méthode d'exploitation des résultats :	Droite des moindres rectangles, moindres carrés, passing et bablok ...
Equation de la droite de régression :	$Y = ax + b$
Diagramme des différences et/ou des rapports :	Indiquer le nombre de déviants après les avoir vérifiés et documentés

Argumentaire de la conclusion :

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...) Applicable ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite de quantification :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)
Limite supérieure de linéarité :	Etude bibliographique (sources et valeurs)	Etude expérimentale (valeurs)

Argumentaire de la conclusion :

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) Applicable ; non applicable (à justifier)

Hémolyse	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)
Turbidité	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)
Bilirubine, ictère	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge (module LIH)
Médicaments	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge
...	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge

Argumentaire de la conclusion :



Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, β HCG, ...) :	Préciser les données fournisseur ou essai de surcharge
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...) :	Préciser les données fournisseur ou essai sur site

Argumentaire de la conclusion :

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS
(étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t° , pH, position sur un support, ...)	Préciser les données fournisseur ou essai sur site
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	Préciser les données fournisseur ou essai sur site

Argumentaire de la conclusion :

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)
Applicable ; non applicable

Valeurs de référence	Préciser les données fournisseur ou essai sur site
----------------------	--

Argumentaire de la conclusion :

DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du ..J..J....

Autorisée par :
Signature

Annexe 9. Réponses des parties prenantes

REPONSE DU CNPAtH : TEST EGFR-TK

HAS

HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ANNEXE DU DOSSIER TYPE

Test associé à une thérapie
(test compagnon) : EGFR
annexe du dossier type

Préambule

Cette annexe du dossier type pharmaceutique identifie l'ensemble des informations à transmettre lorsqu'un médicament est associé à test compagnon. Le test compagnon a pour objectif d'identifier la population qui bénéficie le plus du médicament, de par une efficacité augmentée ou une tolérance meilleure.

Cette annexe comprend les informations à compléter *a maxima*, afin de permettre l'évaluation technologique du médicament avec son test compagnon. Elle est à renseigner par le ou les industriels qui commercialisent le test éventuellement complété par celui qui commercialise le médicament. Les items présentés ci-après sont à compléter prenant en compte chaque situation, certains items peuvent donc être sans objet. Dans l'autre sens, des items nécessaires à des situations particulières peuvent être nécessaires à renseigner, sans pour autant être cités dans ce document.

Selon le règlement européens relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*¹ un « diagnostic compagnon », tout dispositif essentiel pour une utilisation sûre et efficace d'un médicament donné visant à :

- a) identifier, avant et/ou pendant le traitement, les patients les plus susceptibles de bénéficier du médicament en question ; ou
- b) identifier, avant et/ou pendant le traitement, les patients susceptibles de présenter un risque accru d'effets indésirables graves en réaction au traitement par le médicament en question ;

Les tests compagnons permettent donc d'identifier les populations de patients pouvant bénéficier ou bénéficier le plus d'un médicament, en termes d'efficacité et de tolérance.

Ces tests déterminent, quantitativement et/ou qualitativement les marqueurs prédictifs d'une réponse ou réaction particulière au médicament. Ces tests sont le plus souvent des biomarqueurs qui peuvent être présents chez des personnes en bonne santé et/ou chez des patients.

La HAS a publié un guide méthodologique pour l'évaluation des tests compagnons associés à des thérapies ciblées. Ce guide, intitulé « Test compagnon associé à une thérapie ciblée : définitions et méthode d'évaluation », publié en février 2014, est disponible sur le site internet de la HAS². Les recommandations figurant dans ce rapport représentent la méthode idéale vers laquelle le développement d'un test compagnon devra tendre. Le rapport présente également des méthodes alternatives. Les écarts à la mise en œuvre de cette méthode idéale seront justifiés.

¹ <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0746&from=EN>

² https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1735034/fr/test-compagnon-associe-a-une-therapie-ciblee-definitions-et-methode-d-evaluation-guide-methodologique

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):
 Recherche des mutations du gène EGFR exons 18,19, 20 et 21 par PCR ciblée
 Indication dans les carcinomes non épidermoïdes et non à petites cellules, métastatiques du poumon : AMM en première ligne pour toute tumeur (non à petites cellules) présentant une mutation activatrice de EGFR et également en autre ligne de traitement

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via d'autres modalités RIHN Liste Complémentaire

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM ?

Non Oui Précisez :

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV ?

Non Oui Précisez : selon les laboratoires, la technique de PCR en temps réel peut s'effectuer à l'aide d'un DMDIV (liste non exhaustive : Biocartis, Idylla CEIVD, Cobas Ampliprep Taqman CEIVD, Argene Biomérieux CEIVD, ...)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...) ?

Non Oui Précisez :

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée ? Hors compétence CNPath

Non Oui

Si oui précisez les référence les références de cette évaluation :

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directives 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission et règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
- Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
- Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

- Non Oui

Une mutation activatrice de l'*EGFR* (codons 18-19-20 ou 21) entraîne une activation constitutive du domaine tyrosine kinase de la protéine *EGFR* hautement oncogénique. Elle est présente dans 10 à 15 % des adénocarcinomes du poumon.

Les inhibiteurs de la fonction tyrosine kinase de l'*EGFR* (TKI) sont très spécifiques des formes mutées et sont très efficaces chez les patients atteints d'une tumeur *EGFR* mutée. Il est aujourd'hui indispensable de rechercher ces mutations chez les patients atteints d'une tumeur non opérables (hors CBNPC).

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

- Non Oui

Il est nécessaire d'avoir le statut *EGFR* dès la prise en charge d'un patient non opérable. Dans le suivi des patients traités par TKI de l'*EGFR*, il est maintenant nécessaire de rechercher des mutations de résistance qui surviennent après traitement par TKI de première, deuxième ou troisième générations

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

- Non Oui

Dans le suivi des patients traités par TKI de l'*EGFR*, il est maintenant nécessaire de rechercher des mutations de résistance qui surviennent après traitement par TKI de première, deuxième ou troisième générations.

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés?

- Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament? Hors compétence CNPath

- Oui Non précisez

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ? Hors compétence CNPath

- Non Oui Précisez

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament?

- Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication Hors compétence CNPath

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication Hors compétence CNPath

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication Hors compétence CNPath

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication Hors compétence CNPath

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication : 28 plateformes labellisées INCa, plateformes du secteur libéral et de certains CHG
 Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication : cf ci-dessous
 Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement : en se basant sur l'épidémiologie des cancers (données INCa), 28151 patients avec un cancers broncho-pulmonaire ont été testés en France en 2017

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) : Hors compétence CNPath
 Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?
 Non Oui
 ESMO, ASCO, référentiels des sociétés savantes françaises de pneumologie et de cancérologie
 L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ?
 Non Oui Précisez : Hors compétence CNPath

Eléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test: critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... : Hors compétence CNPath
 Principales comorbidités admises : Hors compétence CNPath
 Principales comorbidités exclues : Hors compétence CNPath
 Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test) ? Hors compétence CNPath
 Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ? Hors compétence CNPath

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

1. Introduction

La PCR ciblée permet l'étude des mutations et duplications des gènes. La méthode consiste à quantifier le nombre d'amplicon correspondant à une portion d'ADN définie par un couple d'amorces sur

un gène cible. Cette quantification est permise par le suivi quantitatif d'ADN cible synthétisé au cours de la réaction de PCR.

Elle permet une détection sélective des mutations. La liste des mutations détectables est connue a priori, dépendant de la cible et du design des amorces. Le panel des amorces peut donc varier d'un laboratoire à un autre.

L'ensemble des techniques de PCR ciblées offrent un temps de manipulation relativement réduit. L'interprétation du résultat est univoque et fiable lorsque les contraintes de qualité pré-analytiques sont respectées.

2. Pré-requis - Conditions de réalisation

Types de tissus concernés :

Sont concernés, tous les tissus humains, les liquides biologiques comportant des cellules tumorales, les échantillons cellulaires obtenus par ponction, aspiration ou frottis.

Bonnes pratiques de laboratoire

Des règles strictes doivent être établies concernant l'organisation des locaux, le matériel et ses modalités d'utilisation, le personnel, les procédures techniques, la mise en place d'un contrôle de qualité, des procédures et des résultats obtenus.

Le personnel de laboratoire doit recevoir une formation spécifique à ce type de technique. La décontamination du poste de travail et du matériel nécessaire avant chaque technique et le suivi des procédures de test et de préparation des échantillons selon les manuels et recommandations est indispensable.

Les laboratoires remplissent les exigences liées à l'accréditation selon la norme internationale ISO 15189, celle-ci étant obligatoire dans le cadre de la Liste Complémentaire.

La validation de méthode comporte des modalités de vérification sur la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la variabilité inter-opérateurs, l'exactitude, la sensibilité et la spécificité analytiques, la comparaison de méthodes et les interférences.

Sensibilité et spécificité analytiques :

Etude de réactivité croisée à l'aide de différents échantillons dont le statut mutationnel est connu.

Le LoD est défini comme le niveau d'apport le plus bas (copies/PCR) où la probabilité moyenne estimée de détection est, avec un niveau de confiance de 95 %, d'au moins 95 %.

Répétabilité : Validée via des échantillons étalons de référence.

Fidélité intermédiaire : A l'aide de tests de reproductibilité dans le temps et dans l'espace.

Variabilité inter-observateurs : Tests de discordance entre opérateurs.

Comparaison de méthodes : A l'aide de techniques de PCR différentes.

Interférences :

Etude de l'effet de certaines conditions (nécrose, pigments externes ou internes, etc....) sur la validité des résultats.

Personnel responsable du test :

Réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste.

La formation du personnel concerné et la diffusion des informations sont un point crucial dans l'organisation de la procédure du test.

Principes de préparation d'échantillons

Les laboratoires suivent les principes de sélection et de préparation d'échantillons pour analyse de génétique somatique des cancers (cf rapport d'évaluation technologique de l'HAS paru en décembre 2019) et de recommandations et évaluations externes de qualité par des organismes certifiés (AFAQAP, Gen&Tiss, UKNEQAS, etc...).

Au niveau préanalytique, seules les conditions de transport peuvent être contrôlées. Des informations et des consignes sous forme de manuels de prélèvements et manuels de qualité sont diffusées largement auprès des préleveurs pour que ceux-ci puissent gérer leurs risques.

La préparation de l'échantillon avec évaluation de la cellularité tumorale au sein de la zone d'intérêt choisie uniquement par le médecin pathologiste, après avoir vérifié l'indication. Une macro ou microdissection est possible afin d'optimiser la cellularité tumorale sur la zone d'intérêt.

Pour la phase analytique, il s'agit de bien maîtriser l'échantillon, le stockage des réactifs et le suivi en continu des performances de la méthode.

Pour la phase post-analytique, il s'agit de maîtriser l'archivage et l'élimination des déchets. Un calendrier de maintenance est défini au préalable. Une solution de back-up interne ou externe à la structure est prévue en amont.

La fiabilité des résultats est liée aux respects de l'ensemble de ces conditions et aux contrôles internes témoins d'amplification, témoins positifs, témoins négatifs.

3. Différentes techniques de PCR

Il existe des méthodes manuelles mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique et des méthodes plus ou moins automatisées à l'aide de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) couvrant le processus entier de la préparation de l'échantillon au résultat.

a. Pré-requis : Extraction ADN à partir de matériel tissulaire fixé au formol inclus en paraffine

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse, d'élimination des protéines et de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Cette étape peut être manuelle par des techniques d'extraction par solvant organique phénol-chloroforme ou par séparation en phase solide sur colonne.

Elle peut être réalisée à l'aide d'automates utilisant des réactifs commerciaux (ex : Maxwell Promega ; kits Macherey-Nagel sur automate IDEAL 32) dont certains disposent d'un marquage CE IVD.

b. Méthodes manuelles

Il existe des méthodes développées en interne mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique.

La technique de PCR nécessite un thermocycleur permettant d'amplifier l'ADN (production d'amplicons) en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection.

La détection des amplicons fait intervenir une phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

c. Méthodes partiellement ou totalement automatisées - Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Il existe de nombreuses méthodes commerciales ayant recours à des automates développés spécifiquement pour l'amplification génique in vitro. Ces automates peuvent prendre en charge l'amplification et la détection des amplicons et pour certains également l'extraction.

a. Test Cobas®

Le test Cobas® est une PCR en temps réel spécifique d'allèles pour la détection qualitative et l'identification de mutations. Il s'agit d'un test partiellement automatisé dont le kit est conçu pour la préparation manuelle des échantillons et l'analyse sur le système Cobas z 480.

Il repose sur deux étapes : une préparation manuelle des échantillons pour extraction de l'ADN à partir de matériel fixé au formol et inclus en paraffine puis amplification par PCR et détection de l'ADN cible à l'aide de paires d'amorces complémentaires et de sondes oligonucléotidiques marquées par des fluorophores.

L'ADN est fixé sur filtre de verre, soumis à des lavages puis une élution dans un tampon. La quantité d'ADN génomique est déterminée par spectrophotomètre et ajustée
Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.
La sensibilité du test est < 5% pour les kits dédiés aux gènes d'intérêts.
Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes KRAS NRAS BRAF et EGFR.

b. Idylla Biocartis

Il s'agit d'un test totalement automatisé pour l'ensemble des étapes du processus.

Le Système Idylla™ est un dispositif médical de diagnostic in vitro (IVD) constitué de la Console Idylla™ et de l'instrument Idylla™.

Le système est conçu pour détecter des cibles d'acides nucléiques dans différents types d'échantillons humains, à l'aide de cartouches de Test Idylla™ spécifiques jetables.

Les cartouches sont des conteneurs à usage unique qui renferment les réactifs nécessaires à la réalisation des tests.

Idylla™ couvre le processus entier de l'échantillon au résultat, y compris la liquéfaction, la lyse cellulaire, l'extraction d'ADN/ARN, l'amplification/détection en temps réel, l'analyse de données et la génération de rapports.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS NRAS BRAF et EGFR.

c. Test Qiagen

Le test Therascreen PCR Kit est un test marqué CE de PCR en temps réel pour la détection d'un panel de mutations spécifiques validé pour KRAS BRAF et EGFR.

La procédure nécessite un matériel spécifique de PCR (instrument Rotor-Gene Q Splex HRM) pour l'amplification et la détection de la fluorescence.

Les kits proposés par Qiagen de PCR en temps-réel permettent de façon robuste de détecter de faibles niveaux d'ADN mutant.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS BRAF et EGFR.

4. Différentes étapes du test

Extraction permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse des cellules, d'élimination des protéines, de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Les secteurs pré amplification et post amplification doivent être définis.

Amplification de l'ADN avec un thermocycleur en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection. Contrôle interne.

Détection des amplicons : phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

5. Durée des étapes du test :

Les durées sont variables d'une technique à l'autre en fonction des procédés utilisés.

Elles varient approximativement de 2h30 à 24h.

6. Interprétation et résultat

a. Données de traçabilité

- L'identification du patient ;
- La description du prélèvement (nature, site, latéralité de l'échantillon, numéro du système de gestion informatique du laboratoire) ;

7. Données cliniques :

- Le contexte clinique ; diagnostic histologique

8. Données anatomopathologiques pré-analytiques :

- Fixateur
- Cellularité tumorale
- Présence de facteurs confondants éventuels (nécrose, etc....)

9. Résultat du test :

- Détection ou non de la mutation recherchée
- Description de la mutation notée selon la nomenclature HGVS au niveau de l'exon X du gène X.
- En cas de faible cellularité (limites de cellularité définies avant réalisation du test, par les fournisseurs des tests commerciaux ou au sein des laboratoires ayant mis au point le test), une absence de mutation doit conduire à considérer le résultat comme non interprétable avec certitude et une nouvelle technique doit être réalisée (cf section suivante).

10. Si matériel insuffisant :

- Vérification du matériel sur le bloc préalablement utilisé
- Si suffisant : réalisation d'une deuxième technique avec ajout de matériel supplémentaire
- Si insuffisant : réalisation de la technique sur un autre bloc sélectionné ou résultat invalide par manque de matériel.

11. Validation

Obligatoirement par un médecin pathologiste ou biologiste.

12. Sauvegarde des résultats

Via un système sécurisé par le service informatique de la structure.

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte :

Technicien/assistant ingénieur/ingénieur/biologiste moléculaire pour la partie technique et un médecin pathologiste/biologiste pour la partie interprétation

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? non

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ?

Test réalisé dans le cadre d'une plateforme de biologie moléculaire intégrée au CHU, centre anti-cancéreux, cabinet médical de pathologie privé ou laboratoire de biologie médicale privé

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA bloc de tumeur épuisé

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle....) et les équipements techniques requis : cf ci-dessus

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test : cf ci-dessus

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage : cf ci-dessus

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique ?

Non Oui NA accréditation par le COFRAC selon la norme ISO 15189

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Non Oui NA réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ?

Non Oui NA seulement par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié?

Non Oui NA cf ci-dessus

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires?

Il s'agit de la description détaillée du type de mutation avec le variant sur le gène recherché

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Hors compétence CNPath

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ? Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils :

Hors compétence CNPath

Quelles sont les circonstances et la fréquence des résultats non interprétables : matériel tumoral épuisé ou dégradé. La fréquence est difficile à évaluer tout d'abord en raison des différentes techniques utilisées et surtout parce que le médecin s'efforcera de rechercher un autre prélèvement tumoral disponible pour refaire le test.

Démarche attendue en cas de résultat positif :

Si mutation activatrice située dans les exons 18-19-20 ou 21 de l'EGFR, traitement par TKI de l'EGFR

Si mutation de résistance de l'EGFR après traitement par TKI de 1ère ou 2ème génération, proposition de traitement par un TKI de 3ème génération

Si mutation de résistance après TKI de 3ème génération, proposition de changement de stratégie thérapeutique

Démarche attendue en cas de résultat négatif : Hors compétence CNPath

Démarche attendue en cas de résultat non interprétable : refaire le test sur un autre prélèvement.

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux négatif : Hors compétence CNPath

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux positif : Hors compétence CNPath

D'autres tests et/ou paramètres sont-ils pris en compte dans l'interprétation ?

Non Oui Explicitiez le raisonnement attendu

► Comparateur

Existe-t-il un comparateur ? oui

Quels sont les comparateurs du test dans l'indication revendiquée ? la technique NGS

Citez le plus pertinent, justifiant ce choix : couverture complète des exons et possibilité de multiplexage avec d'autres gènes

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Décrivez les avantages organisationnels de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) : technique plus rapide +++++, plus simple +++ et moins chère +++

Décrivez les limites organisationnelles de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) : les types de variants sont plus limités.

► Critères de jugement

Critère principal de performance du test (validité clinique prédictive du test compagnon sur l'efficacité ou la sécurité thérapeutique)⁴ : Hors compétence CNPath

Critère(s) secondaire(s) de performance du test (validité analytique du test sur la cible) : Hors compétence CNPath

Justifiez le choix de ces critères de performance (avec citation bibliographique) : Hors compétence CNPath

Indiquez les références bibliographiques démontrant l'efficacité du test par rapport au comparateur sur la base des critères de jugement choisis: Hors compétence CNPath

Principales méta-analyses ou revues systématiques : Hors compétence CNPath

Principales études contrôlées randomisées: Hors compétence CNPath

Principales études comparatives autres que susmentionnées : Hors compétence CNPath

Dans le cas des tests également utilisés dans le cadre du suivi thérapeutique, précisez si une corrélation a été établie entre le résultat du test et les critères cliniques : Hors compétence CNPath

Indiquez les références bibliographiques permettant d'établir cette corrélation : Hors compétence CNPath

► Place de l'acte dans la stratégie de prise en charge

Description de la stratégie de prise en charge actuellement recommandée en France dans l'indication revendiquée : dès le diagnostic

Recommandations professionnelles (française ou européenne de préférence) sur lesquelles sont basées cette stratégie de prise en charge : recommandations ASCO, ESMO, nationales et régionales

Description de la place du test dans la stratégie de prise en charge. Préciser notamment le moment de réalisation du test par rapport à la prise en charge de la pathologie cible (dépistage, diagnostic initial, diagnostic de suivi...) : diagnostic initial

La mise en œuvre de l'intervention diagnostique sera-t-elle conditionnée à des résultats de tests préalables ? Hors compétence CNPath

⁴ Il est à noter que l'utilité clinique du test compagnon sera évaluée dans le cadre de l'évaluation du médicament ou de la classe de médicament.

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):

Recherche des mutations du gène BRAF V600 par PCR ciblée

Indication dans l'adénocarcinome du côlon :

Cancer avancé (localement avancé et/ou métastatique)

Si BRAF muté, chimiothérapie intensifiée dès la 1^{ère} ligne ou orientation vers des essais thérapeutiques visant à évaluer des thérapies ciblées anti BRAf.

Indication dans le mélanome :

Mélanome cutané métastatique :

stade IV : si BRAFV600 (E ou K) muté, indication d'une association anti-BRAF/anti-MEK.

stade III (métastases ganglionnaires / cutanées) : à partir de IIIA (micrométastase ganglion sentinelle > 1mm), AMM association anti-BRAF/anti-MEK en adjuvant si BRAFV600 (E ou K) muté

stade IIB (T3b : mélanome d'épaisseur ≥ 2 mm et ulcéré) : association anti-BRAF/antiMEK uniquement en essai thérapeutique. Recherche mutation BRAF V600 non systématique mais réalisée dans le cadre de cet essai.

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via d'autres modalités RIHN Liste Complémentaire

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM?

Non Oui Précisez :

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV?

Non Oui Précisez : selon les laboratoires, la technique de PCR en temps réel peut s'effectuer à l'aide d'un DMDIV (liste non exhaustive : Biocartis, Idylla CEIVD, Cobas, QIAGEN, Ampliprep Taqman CEIVD, Argene Biomérieux CEIVD, ...)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...)?

Non Oui Précisez :

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée? Hors compétence CNPath

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE](#) et la [décision 2010/227/UE de la Commission et règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

Non Oui

Si oui précisez les référence les références de cette évaluation :

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
 Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
 Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

Non Oui

Dans le cancer colo-rectal :

Les protéines RAF sont des protéines sérine/thréonine-kinases. Il en existe 3 isoformes codées par trois gènes différents : *A-RAF*, *B-RAF* et *C-RAF*.

La protéine BRAF appartient à la voie de signalisation RAS/RAF/MEK/MAPK mise en jeu lors de l'activation de l'EGF-R. Son rôle est bien établi dans la carcinogénèse colorectale : située en aval de RAS, la protéine BRAF activée par RAS active à son tour MEK, elle même activant ERK qui induit, après translocation, l'expression des gènes impliqués dans la prolifération et l'apoptose.

Les mutations du gène BRAF sont retrouvées dans 5 à 10 % des cancers colo-rectaux. Dans plus de 95 % des cas, il s'agit d'une mutation à type de transversion T>A appelée communément BRAFV600E. Cette mutation est activatrice : elle mène à une forme activée de la protéine BRAF. Elle induit donc une activation de la voie RAS/MAPK similaire à l'activation provoquée par les mutations de gènes RAS.

La mutation BRAFV600E est mutuellement exclusive de mutations du gène RAS ; ceci pourrait s'expliquer par l'implication de chacune d'elle comme mutation driver activatrice de la même voie de signalisation.

La valeur pronostique de la mutation BRAFV600E dans les cancers colo-rectaux métastatiques est bien établie au travers de nombreuses études. Il incite donc à l'instauration d'une chimiothérapie plus agressive dès la 1^{ère} ligne.

De plus la présence de cette mutation incite à adresser précocement les patients vers des essais évaluant des thérapies ciblées anti-BRAF.

Dans le mélanome :

Les altérations des oncogènes BRAF et NRAS et du suppresseur de tumeur NF1 sont fréquentes dans le mélanome, elles sont à l'origine d'une activation constitutive de la voie des MAPK qui participe à la prolifération cellulaire. Le gène BRAF est muté dans 50 % des mélanomes. La mutation BRAF V600E est rencontrée dans 39 % des cas, la mutation BRAF V600K dans 15 % des cas, les mutations BRAF V600R et BRAF K601E étant plus rares.

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

Non Oui

Dans le cancer colo-rectal : En cas de stade localement avancé ou métastatique pour le choix du type de chimiothérapie.

Dans le mélanome : Mélanome cutané métastatique stade IV ou stade III pour décision d'un traitement anti-BRAF/anti-MEK.

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

Non Oui

Dans le cancer colo-rectal :

Lors d'apparition de résistance au traitement anti-EGFR même si cela n'est pas encore clairement démontrée. Lors d'évolution locale avancée ou métastatique pour le choix du type de chimiothérapie. Lors d'évolution sous thérapie en 1^è ligne, pour une éventuelle inclusion dans des essais évaluant des thérapies anti-BRAF.

Dans le mélanome :

Mélanome cutané métastatique a posteriori, métastase d'un mélanome pour décision d'un traitement anti-BRAF/anti-MEK

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés?

Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament? Hors compétence CNPath

Oui Non précisez

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ? Hors compétence CNPath

Non Oui Précisez

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament?

Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication
Hors compétence CNPath

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication
Hors compétence CNPath

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication
Hors compétence CNPath

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication
Hors compétence CNPath

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication :

Les 28 plateformes labélisées INCa comprenant CHU et CRLCC ont centralisé l'activité les années antérieures.
Aujourd'hui l'activité se partage avec des plateformes libérales et certains centres hospitaliers généraux.

Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication :

Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement : en se basant sur l'épidémiologie des cancers soit 41 558 nouveaux cas en 2018 pour le cancer colo-rectal (dont le tiers à un stade avancé) et 15 404 nouveaux cas en 2017 pour le mélanome

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) : Hors compétence CNPath

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?

Non Oui

Recommandations ESMO pour le cancer colo-rectal et le mélanome

L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ? Hors compétence CNPath

Non Oui Précisez :

Éléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test: critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... : Hors compétence CNPath

Principales comorbidités admises : Hors compétence CNPath

Principales comorbidités exclues : Hors compétence CNPath

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test) ? Hors compétence CNPath

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ? Hors compétence CNPath

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

1. Introduction

La PCR ciblée permet l'étude des mutations et duplications des gènes. La méthode consiste à quantifier le nombre d'amplicon correspondant à une portion d'ADN définie par un couple d'amorces sur un gène cible. Cette quantification est permise par le suivi quantitatif d'ADN cible synthétisé au cours de la réaction de PCR.

Elle permet une détection sélective des mutations. La liste des mutations détectables est connue a priori, dépendant de la cible et du design des amorces. Le panel des amorces peut donc varier d'un laboratoire à un autre.

L'ensemble des techniques de PCR ciblées offrent un temps de manipulation relativement réduit. L'interprétation du résultat est univoque et fiable lorsque les contraintes de qualité pré-analytiques sont respectées.

2. Pré-requis - Conditions de réalisation

Types de tissus concernés :

Sont concernés, tous les tissus humains, les liquides biologiques comportant des cellules tumorales, les échantillons cellulaires obtenus par ponction, aspiration ou frottis.

Bonnes pratiques de laboratoire

Des règles strictes doivent être établies concernant l'organisation des locaux, le matériel et ses modalités d'utilisation, le personnel, les procédures techniques, la mise en place d'un contrôle de qualité, des procédures et des résultats obtenus.

Le personnel de laboratoire doit recevoir une formation spécifique à ce type de technique. La décontamination du poste de travail et du matériel nécessaire avant chaque technique et le suivi des procédures de test et de préparation des échantillons selon les manuels et recommandations est indispensable.

Les laboratoires remplissent les exigences liées à l'accréditation selon la norme internationale ISO 15189, celle-ci étant obligatoire dans le cadre de la Liste Complémentaire.

La validation de méthode comporte des modalités de vérification sur la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la variabilité inter-opérateurs, l'exactitude, la sensibilité et la spécificité analytiques, la comparaison de méthodes et les interférences.

Sensibilité et spécificité analytiques :

Etude de réactivité croisée à l'aide de différents échantillons dont le statut mutationnel est connu.

Le LoD est défini comme le niveau d'apport le plus bas (copies/PCR) où la probabilité moyenne estimée de détection est, avec un niveau de confiance de 95 %, d'au moins 95 %.

Répétabilité : Validée via des échantillons étalons de référence.

Fidélité intermédiaire : A l'aide de tests de reproductibilité dans le temps et dans l'espace.

Variabilité inter-observateurs : Tests de discordance entre opérateurs.

Comparaison de méthodes : A l'aide de techniques de PCR différentes.

Interférences : Etude de l'effet de certaines conditions (nécrose, pigments externes ou internes, etc....) sur la validité des résultats.

Personnel responsable du test :

Réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste.

La formation du personnel concerné et la diffusion des informations sont un point crucial dans l'organisation de la procédure du test.

Principes de préparation d'échantillons

Les laboratoires suivent les principes de sélection et de préparation d'échantillons pour analyse de génétique somatique des cancers (cf rapport d'évaluation technologique de l'HAS paru en décembre 2019) et de recommandations et évaluations externes de qualité par des organismes certifiés (AFAQAP, Gen&Tiss, UKNEQAS, etc...).

Au niveau préanalytique, seules les conditions de transport peuvent être contrôlées. Des informations et des consignes sous forme de manuels de prélèvements et manuels de qualité sont diffusées largement auprès des préleveurs pour que ceux-ci puissent gérer leurs risques.

La préparation de l'échantillon avec évaluation de la cellularité tumorale au sein de la zone d'intérêt choisie uniquement par le médecin pathologiste, après avoir vérifié l'indication. Une macro ou microdissection est possible afin d'optimiser la cellularité tumorale sur la zone d'intérêt.

Pour la phase analytique, il s'agit de bien maîtriser l'échantillon, le stockage des réactifs et le suivi en continu des performances de la méthode.

Pour la phase post-analytique, il s'agit de maîtriser l'archivage et l'élimination des déchets. Un calendrier de maintenance est défini au préalable. Une solution de back-up interne ou externe à la structure est prévue en amont.

La fiabilité des résultats est liée aux respects de l'ensemble de ces conditions et aux contrôles internes témoins d'amplification, témoins positifs, témoins négatifs.

3. Différentes techniques de PCR

Il existe des méthodes manuelles mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique et des méthodes plus ou moins automatisées à l'aide de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) couvrant le processus entier de la préparation de l'échantillon au résultat.

a. Pré-requis : Extraction ADN à partir de matériel tissulaire fixé au formol inclus en paraffine

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse, d'élimination des protéines et de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Cette étape peut être manuelle par des techniques d'extraction par solvant organique phénol-chloroforme ou par séparation en phase solide sur colonne.

Elle peut être réalisée à l'aide d'automates utilisant des réactifs commerciaux (ex : Maxwell Promega ; kits Macherey-Nagel sur automate IDEAL 32) dont certains disposent d'un marquage CE IVD.

b. Méthodes manuelles

Il existe des méthodes développées en interne mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique.

La technique de PCR nécessite un thermocycleur permettant d'amplifier l'ADN (production d'amplicons) en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection.

La détection des amplicons fait intervenir une phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

c. Méthodes partiellement ou totalement automatisées - Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Il existe de nombreuses méthodes commerciales ayant recours à des automates développés spécifiquement pour l'amplification génique in vitro. Ces automates peuvent prendre en charge l'amplification et la détection des amplicons et pour certains également l'extraction.

a. Test Cobas®

Le test Cobas® est une PCR en temps réel spécifique d'allèles pour la détection qualitative et l'identification de mutations. Il s'agit d'un test partiellement automatisé dont le kit est conçu pour la préparation manuelle des échantillons et l'analyse sur le système Cobas z 480.

Il repose sur deux étapes : une préparation manuelle des échantillons pour extraction de l'ADN à partir de matériel fixé au formol et inclus en paraffine puis amplification par PCR et détection de l'ADN cible à l'aide de paires d'amorces complémentaires et de sondes oligonucléotidiques marquées par des fluorophores.

L'ADN est fixé sur filtre de verre, soumis à des lavages puis une élution dans un tampon. La quantité d'ADN génomique est déterminée par spectrophotomètre et ajustée

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

La sensibilité du test est < 5% pour les kits dédiés aux gènes d'intérêts.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes KRAS NRAS BRAF et EGFR.

b. Idylla Biocartis

Il s'agit d'un test totalement automatisé pour l'ensemble des étapes du processus.

Le Système Idylla™ est un dispositif médical de diagnostic in vitro (IVD) constitué de la Console Idylla™ et de l'Instrument Idylla™.

Le système est conçu pour détecter des cibles d'acides nucléiques dans différents types d'échantillons humains, à l'aide de cartouches de Test Idylla™ spécifiques jetables.

Les cartouches sont des conteneurs à usage unique qui renferment les réactifs nécessaires à la réalisation des tests.

Idylla™ couvre le processus entier de l'échantillon au résultat, y compris la liquéfaction, la lyse cellulaire, l'extraction d'ADN/ARN, l'amplification/détection en temps réel, l'analyse de données et la génération de rapports.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS NRAS BRAF et EGFR.

c. Test Qiagen

Le test Therascreen PCR Kit est un test marqué CE de PCR en temps réel pour la détection d'un panel de mutations spécifiques validé pour KRAS BRAF et EGFR.

La procédure nécessite un matériel spécifique de PCR (instrument Rotor-Gene Q 5plex HRM) pour l'amplification et la détection de la fluorescence.

Les kits proposés par Qiagen de PCR en temps-réel permettent de façon robuste de détecter de faibles niveaux d'ADN mutant.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS BRAF et EGFR.

4. Différentes étapes du test

Extraction permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse des cellules, d'élimination des protéines, de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Les secteurs pré amplification et post amplification doivent être définis.

Amplification de l'ADN avec un thermocycleur en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection. Contrôle interne.

Détection des amplicons : phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

5. Durée des étapes du test :

Les durées sont variables d'une technique à l'autre en fonction des procédés utilisés.

Elles varient approximativement de 2h30 à 24h.

6. Interprétation et résultat

a. Données de traçabilité

- L'identification du patient ;
- La description du prélèvement (nature, site, latéralité de l'échantillon, numéro du système de gestion informatique du laboratoire) ;

7. Données cliniques :

- Le contexte clinique ; diagnostic histologique

8. Données anatomopathologiques pré-analytiques :

-
- Fixateur
 - Cellularité tumorale
 - Présence de facteurs confondants éventuels (nécrose, etc....)

9. Résultat du test :

- Détection ou non de la mutation recherchée
- Description de la mutation notée selon la nomenclature HGVS au niveau de l'exon X du gène X.
- En cas de faible cellularité (limites de cellularité définies avant réalisation du test, par les fournisseurs des tests commerciaux ou au sein des laboratoires ayant mis au point le test), une absence de mutation doit conduire à considérer le résultat comme non interprétable avec certitude et une nouvelle technique doit être réalisée (cf section suivante).

10. Si matériel insuffisant :

- Vérification du matériel sur le bloc préalablement utilisé
- Si suffisant : réalisation d'une deuxième technique avec ajout de matériel supplémentaire
- Si insuffisant : réalisation de la technique sur un autre bloc sélectionné ou résultat invalide par manque de matériel.

11. Validation

Obligatoirement par un médecin pathologiste ou biologiste.

12. Sauvegarde des résultats

Via un système sécurisé par le service informatique de la structure.

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte :

Technicien/assistant ingénieur/ingénieur/biologiste moléculaire pour la partie technique et un médecin pathologiste/biologiste pour la partie interprétation

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? non

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ?

Test réalisé dans le cadre d'une plateforme de pathologie moléculaire intégrée au CHU, CH, centre de lutte contre le cancer, ESPIC, cabinet médical de pathologie privé ou laboratoire de biologie médicale privé

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA bloc de tumeur épuisé

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle....) et les équipements techniques requis : cf ci-dessus

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test : cf ci-dessus

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage : cf ci-dessus

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique?

Non Oui NA accréditation par le COFRAC selon la norme ISO 15189

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Non Oui NA réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ?

Non Oui NA seulement par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié?

Non Oui NA cf ci-dessus

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires?

Il s'agit de la description détaillée du type de mutation avec le variant sur le gène recherché

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Hors compétence CNPath

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ? Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils :

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):

Recherche des mutations du gène KRAS exons 2 exon 3 exon 4, par PCR ciblée
Indication dans les adénocarcinomes du colon et du rectum

Au stade métastatique.

Les mutations du gène KRAS sont associées à une inefficacité des traitements anti-EGFR (cetuximab, panitumumab) contre-indiquant leur recours.

Les mutations de NRAS sont également associées à une inefficacité.

La recherche de ces mutations est donc devenue nécessaire avant la prescription d'un anti-EGFR et a été intégrée dans l'AMM.

Les gènes KRAS et NRAS peuvent être explorés de façon séquentielle ; les mutations sur ces deux gènes étant exclusives. La plus grande prévalence des mutations KRAS (44%) incite à débiter par le test KRAS.

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via d'autres modalités RIHN Liste Complémentaire

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM ?

Non Oui Précisez :

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV ?

Non Oui Précisez : selon les laboratoires, la technique de PCR en temps réel peut s'effectuer à l'aide d'un DMDIV (liste non exhaustive : Biocartis, Idylla CEIVD, Cobas QIAGEN, Ampliprep Taqman CEIVD, Argene Biomérieux CEIVD, ...)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...) ?

Non Oui Précisez :

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée ? Hors compétence CNPath

Non Oui

Si oui précisez les référence les références de cette évaluation :

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission](#) et [règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
- Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
- Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

- Non Oui

Les mutations KRAS sont retrouvées chez 44% des patients atteints de cancer colorectal. Une mutation du gène KRAS entraîne une résistance au traitement anti-EGFR Cetuximab et Panitumumab.

Ces résultats ont été validés par plusieurs études dans le cadre d'essais contrôlés.

L'obtention de l'AMM a été conditionnée par le génotypage KRAS et NRAS, limitant l'indication aux cancers colorectaux sans mutation KRAS et NRAS.

Cette recherche est indispensable afin d'identifier le sous-groupe non muté sensible au traitement.

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

- Non Oui

Le test fait partie des examens réalisés en pratique courante dans le cadre des explorations pré-thérapeutiques.

Il est nécessaire d'avoir le statut KRAS dans le cadre d'adénocarcinomes colorectaux métastatiques (stade M1).

Les métastases sont observées dans environ 50% des cas et sont synchrones dans 25 % des cas.

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

- Non Oui

Ce statut KRAS peut être déterminé soit au diagnostic initial sur prélèvement tissulaire (pièce opératoire ou biopsie) dans le cadre de métastases synchrones, soit a posteriori sur un prélèvement tissulaire tumoral archivé en cas d'évolution métastatique d'un cancer initialement localisé.

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés ?

- Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament ?

- Oui Non précisez Hors compétence CNPath

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ?

- Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament ?

- Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication :

Les 28 plateformes labélisées INCa comprenant CHU et CRLCC ont centralisé l'activité les années antérieures.

Aujourd'hui l'activité se partage avec des plateformes libérales et certains centres hospitaliers généraux.

Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication :

19915 selon les données de l'INCa 2017

Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement :

en se basant sur l'épidémiologie des cancers :

41 558 nouveaux cas en 2018 pour le cancer colorectal,

dont 50% à un stade métastatique (synchrone ou asynchrone) nécessitant donc la réalisation du test à la recherche d'une mutation du gène KRAS soit 20779 tests annuels.

44% de test positifs sont attendus.

La mise en évidence d'une mutation sur le gène KRAS permet de surseoir à l'exploration du gène NRAS, ces deux mutations étant exclusives.

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) :

Hors compétence CNPath

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?

Non Oui

SNFGE Société Nationale Française de Gastro-entérologie – thésaurus de cancérologie digestive.

Recommandation européenne ESMO guidelines

Recommandation britannique NICE

Recommandation américaine CAP/AMP/ASCO – NCCN

L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ?

Hors compétence CNPath

Non Oui Précisez :

Eléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test : critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... : Hors compétence CNPath

Principales comorbidités admises : Hors compétence CNPath

Principales comorbidités exclues : Hors compétence CNPath

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test) ? Hors compétence CNPath

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ?

Hors compétence CNPath

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

1. Introduction

La PCR ciblée permet l'étude des mutations et duplications des gènes. La méthode consiste à quantifier le nombre d'amplicon correspondant à une portion d'ADN définie par un couple d'amorces sur un gène cible. Cette quantification est permise par le suivi quantitatif d'ADN cible synthétisé au cours de la réaction de PCR.

Elle permet une détection sélective des mutations. La liste des mutations détectables est connue a priori, dépendant de la cible et du design des amorces. Le panel des amorces peut donc varier d'un laboratoire à un autre.

L'ensemble des techniques de PCR ciblées offrent un temps de manipulation relativement réduit. L'interprétation du résultat est univoque et fiable lorsque les contraintes de qualité pré-analytiques sont respectées.

2. Pré-requis - Conditions de réalisation

Types de tissus concernés :

Sont concernés, tous les tissus humains, les liquides biologiques comportant des cellules tumorales, les échantillons cellulaires obtenus par ponction, aspiration ou frottis.

Bonnes pratiques de laboratoire

Des règles strictes doivent être établies concernant l'organisation des locaux, le matériel et ses modalités d'utilisation, le personnel, les procédures techniques, la mise en place d'un contrôle de qualité, des procédures et des résultats obtenus.

Le personnel de laboratoire doit recevoir une formation spécifique à ce type de technique. La décontamination du poste de travail et du matériel nécessaire avant chaque technique et le suivi des procédures de test et de préparation des échantillons selon les manuels et recommandations est indispensable.

Les laboratoires remplissent les exigences liées à l'accréditation selon la norme internationale ISO 15189, celle-ci étant obligatoire dans le cadre de la Liste Complémentaire.

La validation de méthode comporte des modalités de vérification sur la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la variabilité inter-opérateurs, l'exactitude, la sensibilité et la spécificité analytiques, la comparaison de méthodes et les interférences.

Sensibilité et spécificité analytiques :

Etude de réactivité croisée à l'aide de différents échantillons dont le statut mutationnel est connu.

Le LoD est défini comme le niveau d'apport le plus bas (copies/PCR) où la probabilité moyenne estimée de détection est, avec un niveau de confiance de 95 %, d'au moins 95 %.

Répétabilité : Validée via des échantillons étalons de référence.

Fidélité intermédiaire : A l'aide de tests de reproductibilité dans le temps et dans l'espace.

Variabilité inter-observateurs : Tests de discordance entre opérateurs.

Comparaison de méthodes : A l'aide de techniques de PCR différentes.

Interférences : Etude de l'effet de certaines conditions (nécrose, pigments externes ou internes, etc....) sur la validité des résultats.

Personnel responsable du test :

Réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste.

La formation du personnel concerné et la diffusion des informations sont un point crucial dans l'organisation de la procédure du test.

Principes de préparation d'échantillons

Les laboratoires suivent les principes de sélection et de préparation d'échantillons pour analyse de génétique somatique des cancers (cf rapport d'évaluation technologique de l'HAS paru en décembre 2019) et de recommandations et évaluations externes de qualité par des organismes certifiés (AFAQAP, Gen&Tiss, UKNEQAS, etc....).

Au niveau pré-analytique, seules les conditions de transport peuvent être contrôlées. Des informations et des consignes sous forme de manuels de prélèvements et manuels de qualité sont diffusées largement auprès des préleveurs pour que ceux-ci puissent gérer leurs risques.

La préparation de l'échantillon avec évaluation de la cellularité tumorale au sein de la zone d'intérêt choisie uniquement par le médecin pathologiste, après avoir vérifié l'indication. Une macro ou microdissection est possible afin d'optimiser la cellularité tumorale sur la zone d'intérêt.

Pour la phase analytique, il s'agit de bien maîtriser l'échantillon, le stockage des réactifs et le suivi en continu des performances de la méthode.

Pour la phase post-analytique, il s'agit de maîtriser l'archivage et l'élimination des déchets. Un calendrier de maintenance est défini au préalable. Une solution de back-up interne ou externe à la structure est prévue en amont.

La fiabilité des résultats est liée aux respects de l'ensemble de ces conditions et aux contrôles internes témoins d'amplification, témoins positifs, témoins négatifs.

3. Différentes techniques de PCR

Il existe des méthodes manuelles mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique et des méthodes plus ou moins automatisées à l'aide de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) couvrant le processus entier de la préparation de l'échantillon au résultat.

a. Pré-requis : Extraction ADN à partir de matériel tissulaire fixé au formol inclus en paraffine

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse, d'élimination des protéines et de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Cette étape peut être manuelle par des techniques d'extraction par solvant organique phénol-chloroforme ou par séparation en phase solide sur colonne.

Elle peut être réalisée à l'aide d'automates utilisant des réactifs commerciaux (ex : Maxwell Promega ; kits Macherey-Nagel sur automate IDEAL 32) dont certains disposent d'un marquage CE IVD.

b. Méthodes manuelles

Il existe des méthodes développées en interne mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique.

La technique de PCR nécessite un thermocycleur permettant d'amplifier l'ADN (production d'amplicons) en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection.

La détection des amplicons fait intervenir une phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

c. Méthodes partiellement ou totalement automatisées - Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Il existe de nombreuses méthodes commerciales ayant recours à des automates développés spécifiquement pour l'amplification génique in vitro. Ces automates peuvent prendre en charge l'amplification et la détection des amplicons et pour certains également l'extraction.

a. Test Cobas®

Le test Cobas® est une PCR en temps réel spécifique d'allèles pour la détection qualitative et l'identification de mutations. Il s'agit d'un test partiellement automatisé dont le kit est conçu pour la préparation manuelle des échantillons et l'analyse sur le système Cobas z 480.

Il repose sur deux étapes : une préparation manuelle des échantillons pour extraction de l'ADN à partir de matériel fixé au formol et inclus en paraffine puis amplification par PCR et détection de l'ADN cible à l'aide de paires d'amorces complémentaires et de sondes oligonucléotidiques marquées par des fluorophores.

L'ADN est fixé sur filtre de verre, soumis à des lavages puis une élution dans un tampon. La quantité d'ADN génomique est déterminée par spectrophotomètre et ajustée
Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.
La sensibilité du test est < 5% pour les kits dédiés aux gènes d'intérêts.
Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes KRAS NRAS BRAF et EGFR.

b. Idylla Biocartis

Il s'agit d'un test totalement automatisé pour l'ensemble des étapes du processus.

Le Système Idylla™ est un dispositif médical de diagnostic in vitro (IVD) constitué de la Console Idylla™ et de l'Instrument Idylla™.

Le système est conçu pour détecter des cibles d'acides nucléiques dans différents types d'échantillons humains, à l'aide de cartouches de Test Idylla™ spécifiques jetables.

Les cartouches sont des conteneurs à usage unique qui renferment les réactifs nécessaires à la réalisation des tests.

Idylla™ couvre le processus entier de l'échantillon au résultat, y compris la liquéfaction, la lyse cellulaire, l'extraction d'ADN/ARN, l'amplification/détection en temps réel, l'analyse de données et la génération de rapports.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS NRAS BRAF et EGFR.

c. Test Qiagen

Le test Therascreen PCR Kit est un test marqué CE de PCR en temps réel pour la détection d'un panel de mutations spécifiques validé pour KRAS BRAF et EGFR.

La procédure nécessite un matériel spécifique de PCR (instrument Rotor-Gene Q Splex HRM) pour l'amplification et la détection de la fluorescence.

Les kits proposés par Qiagen de PCR en temps-réel permettent de façon robuste de détecter de faibles niveaux d'ADN mutant.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS BRAF et EGFR.

4. Différentes étapes du test

Extraction permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse des cellules, d'élimination des protéines, de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Les secteurs pré amplification et post amplification doivent être définis.

Amplification de l'ADN avec un thermocycleur en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection. Contrôle interne.

Détection des amplicons : phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

5. Durée des étapes du test :

Les durées sont variables d'une technique à l'autre en fonction des procédés utilisés.

Elles varient approximativement de 2h30 à 24h.

6. Interprétation et résultat

a. Données de traçabilité

- L'identification du patient ;
- La description du prélèvement (nature, site, latéralité de l'échantillon, numéro du système de gestion informatique du laboratoire) ;

7. Données cliniques :

- Le contexte clinique ; diagnostic histologique

8. Données anatomopathologiques pré-analytiques :

- Fixateur
- Cellularité tumorale
- Présence de facteurs confondants éventuels (nécrose, etc...)

9. Résultat du test :

- Détection ou non de la mutation recherchée
- Description de la mutation notée selon la nomenclature HGVS au niveau de l'exon X du gène X.
- En cas de faible cellularité (limites de cellularité définies avant réalisation du test, par les fournisseurs des tests commerciaux ou au sein des laboratoires ayant mis au point le test), une absence de mutation doit conduire à considérer le résultat comme non interprétable avec certitude et une nouvelle technique doit être réalisée (cf section suivante).

10. Si matériel insuffisant :

- Vérification du matériel sur le bloc préalablement utilisé
- Si suffisant : réalisation d'une deuxième technique avec ajout de matériel supplémentaire
- Si insuffisant : réalisation de la technique sur un autre bloc sélectionné ou résultat invalide par manque de matériel.

11. Validation

Obligatoirement par un médecin pathologiste ou biologiste.

12. Sauvegarde des résultats

Via un système sécurisé par le service informatique de la structure.

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte :

Technicien/assistant ingénieur/ingénieur/biologiste moléculaire pour la partie technique et un médecin pathologiste/biologiste pour la partie interprétation

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? non

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ?

Test réalisé dans le cadre d'une plateforme de pathologie moléculaire intégrée au CHU, CH, centre de lutte contre le cancer, ESPIC, cabinet médical de pathologie privé ou laboratoire de biologie médicale privé

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA bloc de tumeur épuisé

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle...) et les équipements techniques requis : cf ci-dessus

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test : cf ci-dessus

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage : cf ci-dessus

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique ?

Non Oui NA accréditation par le COFRAC selon la norme ISO 15189

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Non Oui NA

réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ?

Non Oui NA

seulement par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié ?

Non Oui NA cf ci-dessus

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires ?

Il s'agit de la description détaillée du type de mutation avec le variant sur le gène recherché

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Hors compétence CNPath

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ?

Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils :

Hors compétence CNPath

Quelles sont les circonstances et la fréquence des résultats non interprétables :

Matériel tumoral épuisé ou cellularité insuffisante pour conclure avec certitude en cas de résultat négatif ou dégradation de l'ADN.

Selon les données de l'INCa en 2017, 2,7% des tests étaient non interprétables.

La fréquence reste difficile à évaluer tout d'abord en raison des différentes techniques utilisées et surtout parce que le médecin s'efforcera de rechercher un autre prélèvement tumoral disponible pour refaire le test.

Démarche attendue en cas de résultat positif :

Dans le cancer colo-rectal :

Contre-Indication d'une thérapie ciblée par anti-EGFR Cetuximab ou Panitumumab.

Pas d'indication à une poursuite des explorations par un test NRAS.

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux négatif :

Hors compétence CNPath

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux positif :

Hors compétence CNPath

D'autres tests et/ou paramètres sont-ils pris en compte dans l'interprétation ?

Non Oui Explicitiez le raisonnement attendu

► Comparateur

Existe-t-il un comparateur ? oui

Quels sont les comparateurs du test dans l'indication revendiquée ? la technique NGS

Citez le plus pertinent, justifiant ce choix : couverture complète des exons et possibilité de multiplexage avec d'autres gènes.

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Décrivez les avantages organisationnels de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Il s'agit d'une technique plus rapide, plus simple à mettre en œuvre sur le plan logistique et dont le coût est comparativement réduit.

Rendu du résultat dans un temps court de l'ordre de 48h, idéalement concomitant au diagnostic histologique permettant une discussion du dossier en RCP avec l'ensemble des éléments nécessaires pour décider de la prise en charge thérapeutique.
Initiation sans retard du traitement ciblé.

Décrivez les limites organisationnelles de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Le panel est ciblé permet une détection sélective des mutations.

► Critères de jugement

Critère principal de performance du test (validité clinique prédictive du test compagnon sur l'efficacité ou la sécurité thérapeutique)⁴ : Hors compétence CNPath

Critère(s) secondaire(s) de performance du test (validité analytique du test sur la cible) :

⁴ Il est à noter que l'utilité clinique du test compagnon sera évaluée dans le cadre de l'évaluation du médicament ou de la classe de médicament.

Hors compétence CNPath

Justifiez le choix de ces critères de performance (avec citation bibliographique) :

Hors compétence CNPath

Indiquez les références bibliographiques démontrant l'efficacité du test par rapport au comparateur sur la base des critères de jugement choisis :

Hors compétence CNPath

Principales méta-analyses ou revues systématiques :

Hors compétence CNPath

Principales études contrôlées randomisées : Hors compétence CNPath

Principales études comparatives autres que susmentionnées : Hors compétence CNPath

Dans le cas des tests également utilisés dans le cadre du suivi thérapeutique, précisez si une corrélation a été établie entre le résultat du test et les critères cliniques : Hors compétence CNPath

Indiquez les références bibliographiques permettant d'établir cette corrélation : Hors compétence CNPath

► Place de l'acte dans la stratégie de prise en charge

Description de la stratégie de prise en charge actuellement recommandée en France dans l'indication revendiquée :

Dès le diagnostic en cas d'adénocarcinome colorectal au stade métastatique

En cas d'évolution métastatique secondaire, le test peut être réalisé sur la tumeur initiale ou sur un nouveau prélèvement

Recommandations professionnelles (française ou européenne de préférence) sur lesquelles sont basées cette stratégie de prise en charge :

SNFGE Société Nationale Française de Gastro-entérologie – thésaurus de cancérologie digestive.

Recommandation européenne ESMO guidelines

Recommandation britannique NICE

Recommandation américaine CAP/AMP/ASCO – NCCN

Description de la place du test dans la stratégie de prise en charge. Préciser notamment le moment de réalisation du test par rapport à la prise en charge de la pathologie cible (dépistage, diagnostic initial, diagnostic de suivi...) :

Au diagnostic de l'évolution métastatique d'un cancer initialement localisé,

ou au diagnostic d'un cancer métastatique d'emblée

La mise en œuvre de l'intervention diagnostique sera-t-elle conditionnée à des résultats de tests préalables ? Hors compétence CNPath

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):
 Recherche des mutations du gène NRAS exons 2 exon 3 exon 4, par PCR ciblée.
 Indication dans les adénocarcinomes du côlon et du rectum.
 Au stade métastatique.
 Les mutations du gène NRAS sont associées à une inefficacité des traitements anti-EGFR (cetuximab, panitumumab), elles peuvent être recherchées de façon séquentielle par rapport aux mutations de KRAS exons, 2, 3 et 4 en raison de leur moindre prévalence (7,5 % versus 42 %).

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via d'autres modalités RIHN Liste Complémentaire

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez Hors compétence CNPath

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM ?

Non Oui Précisez :

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV ?

Non Oui Précisez : selon les laboratoires, la technique de PCR en temps réel peut s'effectuer à l'aide d'un DMDIV (liste non exhaustive : Biocartis, Idylla CEIVD, Cobas, QIAGEN, Ampliprep Taqman CEIVD, Argene Biomérieux CEIVD, ...)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...) ?

Non Oui Précisez :

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée ? Hors compétence CNPath

Non Oui

Si oui précisez les référence les références de cette évaluation :

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission](#) et [règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
- Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
- Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

- Non Oui

Les mutations NRAS sont retrouvées chez 7,5% des patients atteints de cancer colorectal. Une mutation du gène NRAS entraîne une résistance au traitement anti-EGFR Cetuximab et Panitumumab, comme celles du gène KRAS.

Ces résultats ont été validés par plusieurs études dans le cadre d'essais contrôlés.

L'obtention de l'AMM a été conditionnée par le génotypage KRAS et NRAS, limitant l'indication aux cancers colorectaux sans mutation KRAS ou NRAS.

Cette recherche est indispensable afin d'identifier le sous-groupe non muté sensible au traitement.

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

- Non Oui

Le test fait partie des examens réalisés en pratique courante dans le cadre des explorations pré-thérapeutiques.

Il est nécessaire d'avoir le statut NRAS dans le cadre d'adénocarcinomes colorectaux métastatiques KRAS sauvages (non mutés) (stade M1).

Les métastases sont observées dans environ 50% des cas et sont synchrones dans 25 % des cas.

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

- Non Oui

Ce statut NRAS peut être déterminé soit au diagnostic initial sur prélèvement tissulaire (pièce opératoire ou biopsie) dans le cadre de métastases synchrones, soit a posteriori sur un prélèvement tissulaire tumoral archivé en cas d'évolution métastatique d'un cancer initialement localisé.

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés ?

- Non Oui Précisez

Hors compétence CNPath

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament ?

Hors compétence CNPath

- Oui Non précisez

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ?

Non Oui Précisez

Hors compétence CNPath

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament ?

Non Oui Précisez

Hors compétence CNPath

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication

Hors compétence CNPath

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication :

Les 28 plateformes labellisées INCa comprenant CHU et CRLCC ont centralisé l'activité les années antérieures.

Aujourd'hui l'activité se partage avec les plateformes libérales et certains centres hospitaliers généraux.

Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication :

19915 selon les données de l'INCa 2017

Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement :

en se basant sur l'épidémiologie des cancers :

41 558 nouveaux cas en 2018 pour le cancer colorectal,

dont 50% à un stade métastatique (synchrone ou asynchrone) nécessitant donc la réalisation du test à la recherche d'une mutation du gène NRAS soit 20779 tests annuels si réalisé de façon synchrone ou 12052 tests annuels si réalisé de façon séquentielle.

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) :

Hors compétence CNPath

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?

Non Oui

SNFGE Société Nationale Française de Gastro-entérologie – thésaurus de cancérologie digestive.

Recommandation européenne ESMO guidelines
 Recommandation britannique NICE
 Recommandation américaine CAP/AMP/ASCO – NCCN

L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ?

Hors compétence CNPath

Non Oui Précisez :

Éléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test: critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... : Hors compétence CNPath

Principales comorbidités admises : Hors compétence CNPath

Principales comorbidités exclues : Hors compétence CNPath

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test) ? Hors compétence CNPath

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ?

Hors compétence CNPath

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

1. Introduction

La PCR ciblée permet l'étude des mutations et duplications des gènes. La méthode consiste à quantifier le nombre d'amplicon correspondant à une portion d'ADN définie par un couple d'amorces sur un gène cible. Cette quantification est permise par le suivi quantitatif d'ADN cible synthétisé au cours de la réaction de PCR.

Elle permet une détection sélective des mutations. La liste des mutations détectables est connue a priori, dépendant de la cible et du design des amorces. Le panel des amorces peut donc varier d'un laboratoire à un autre.

L'ensemble des techniques de PCR ciblées offrent un temps de manipulation relativement réduit. L'interprétation du résultat est univoque et fiable lorsque les contraintes de qualité pré-analytiques sont respectées.

2. Pré-requis - Conditions de réalisation

Types de tissus concernés :

Sont concernés, tous les tissus humains, les liquides biologiques comportant des cellules tumorales, les échantillons cellulaires obtenus par ponction, aspiration ou frottis.

Bonnes pratiques de laboratoire

Des règles strictes doivent être établies concernant l'organisation des locaux, le matériel et ses modalités d'utilisation, le personnel, les procédures techniques, la mise en place d'un contrôle de qualité, des procédures et des résultats obtenus.

Le personnel de laboratoire doit recevoir une formation spécifique à ce type de technique. La décontamination du poste de travail et du matériel nécessaire avant chaque technique et le suivi des procédures de test et de préparation des échantillons selon les manuels et recommandations est indispensable.

Les laboratoires remplissent les exigences liées à l'accréditation selon la norme internationale ISO 15189, celle-ci étant obligatoire dans le cadre de la Liste Complémentaire.

La validation de méthode comporte des modalités de vérification sur la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la variabilité inter-opérateurs, l'exactitude, la sensibilité et la spécificité analytiques, la comparaison de méthodes et les interférences.

Sensibilité et spécificité analytiques :

Etude de réactivité croisée à l'aide de différents échantillons dont le statut mutationnel est connu.

Le LoD est défini comme le niveau d'apport le plus bas (copies/PCR) où la probabilité moyenne estimée de détection est, avec un niveau de confiance de 95 %, d'au moins 95 %.

Répétabilité : Validée via des échantillons étalons de référence.

Fidélité intermédiaire : A l'aide de tests de reproductibilité dans le temps et dans l'espace.

Variabilité inter-observateurs : Tests de discordance entre opérateurs.

Comparaison de méthodes : A l'aide de techniques de PCR différentes.

Interférences : Etude de l'effet de certaines conditions (nécrose, pigments externes ou internes, etc....) sur la validité des résultats.

Personnel responsable du test :

Réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste.

La formation du personnel concerné et la diffusion des informations sont un point crucial dans l'organisation de la procédure du test.

Principes de préparation d'échantillons

Les laboratoires suivent les principes de sélection et de préparation d'échantillons pour analyse de génétique somatique des cancers (cf rapport d'évaluation technologique de l'HAS paru en décembre 2019) et de recommandations et évaluations externes de qualité par des organismes certifiés (AFAQAP, Gen&Tiss, UKNEQAS, etc...).

Au niveau pré-analytique, seules les conditions de transport peuvent être contrôlées. Des informations et des consignes sous forme de manuels de prélèvements et manuels de qualité sont diffusées largement auprès des préleveurs pour que ceux-ci puissent gérer leurs risques.

La préparation de l'échantillon avec évaluation de la cellularité tumorale au sein de la zone d'intérêt choisie uniquement par le médecin pathologiste, après avoir vérifié l'indication. Une macro ou microdissection est possible afin d'optimiser la cellularité tumorale sur la zone d'intérêt.

Pour la phase analytique, il s'agit de bien maîtriser l'échantillon, le stockage des réactifs et le suivi en continu des performances de la méthode.

Pour la phase post-analytique, il s'agit de maîtriser l'archivage et l'élimination des déchets. Un calendrier de maintenance est défini au préalable. Une solution de back-up interne ou externe à la structure est prévue en amont.

La fiabilité des résultats est liée aux respects de l'ensemble de ces conditions et aux contrôles internes témoins d'amplification, témoins positifs, témoins négatifs.

3. Différentes techniques de PCR

Il existe des méthodes manuelles mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique et des méthodes plus ou moins automatisées à l'aide de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) couvrant le processus entier de la préparation de l'échantillon au résultat.

a. Pré-requis : Extraction ADN à partir de matériel tissulaire fixé au formol inclus en paraffine

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse, d'élimination des protéines et de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Cette étape peut être manuelle par des techniques d'extraction par solvant organique phénol-chloroforme ou par séparation en phase solide sur colonne.

Elle peut être réalisée à l'aide d'automates utilisant des réactifs commerciaux (ex : Maxwell Promega ; kits Macherey-Nagel sur automate IDEAL 32) dont certains disposent d'un marquage CE IVD.

b. Méthodes manuelles

Il existe des méthodes développées en interne mises au point au sein des laboratoires de génétique somatique.

La technique de PCR nécessite un thermocycleur permettant d'amplifier l'ADN (production d'amplicons) en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection.

La détection des amplicons fait intervenir une phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

c. Méthodes partiellement ou totalement automatisées - Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Il existe de nombreuses méthodes commerciales ayant recours à des automates développés spécifiquement pour l'amplification génique in vitro. Ces automates peuvent prendre en charge l'amplification et la détection des amplicons et pour certains également l'extraction.

a. Test Cobas®

Le test Cobas® est une PCR en temps réel spécifique d'allèles pour la détection qualitative et l'identification de mutations. Il s'agit d'un test partiellement automatisé dont le kit est conçu pour la préparation manuelle des échantillons et l'analyse sur le système Cobas z 480.

Il repose sur deux étapes : une préparation manuelle des échantillons pour extraction de l'ADN à partir de matériel fixé au formol et inclus en paraffine puis amplification par PCR et détection de

l'ADN cible à l'aide de paires d'amorces complémentaires et de sondes oligonucléotidiques marquées par des fluorophores.

L'ADN est fixé sur filtre de verre, soumis à des lavages puis une élution dans un tampon. La quantité d'ADN génomique est déterminée par spectrophotomètre et ajustée
Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.
La sensibilité du test est < 5% pour les kits dédiés aux gènes d'intérêts.
Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes KRAS NRAS BRAF et EGFR.

b. Idylla Biocartis

Il s'agit d'un test totalement automatisé pour l'ensemble des étapes du processus.

Le Système Idylla™ est un dispositif médical de diagnostic in vitro (IVD) constitué de la Console Idylla™ et de l'Instrument Idylla™.

Le système est conçu pour détecter des cibles d'acides nucléiques dans différents types d'échantillons humains, à l'aide de cartouches de Test Idylla™ spécifiques jetables.

Les cartouches sont des conteneurs à usage unique qui renferment les réactifs nécessaires à la réalisation des tests.

Idylla™ couvre le processus entier de l'échantillon au résultat, y compris la liquéfaction, la lyse cellulaire, l'extraction d'ADN/ARN, l'amplification/détection en temps réel, l'analyse de données et la génération de rapports.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS NRAS BRAF et EGFR.

c. Test Qiagen

Le test Therascreen PCR Kit est un test marqué CE de PCR en temps réel pour la détection d'un panel de mutations spécifiques validé pour KRAS BRAF et EGFR.

La procédure nécessite un matériel spécifique de PCR (instrument Rotor-Gene Q 5plex HRM) pour l'amplification et la détection de la fluorescence.

Les kits proposés par Qiagen de PCR en temps-réel permettent de façon robuste de détecter de faibles niveaux d'ADN mutant.

Un contrôle mutant et un contrôle sauvage sont inclus dans chaque série.

Des tests marqués CE sont validés pour l'exploration des gènes pour KRAS BRAF et EGFR.

4. Différentes étapes du test

Extraction permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Cette procédure passe par des étapes de lyse des cellules, d'élimination des protéines, de certains acides nucléiques et de concentration de l'ADN.

Les secteurs pré amplification et post amplification doivent être définis.

Amplification de l'ADN avec un thermocycleur en faisant varier la température de façon précise selon des cycles itératifs et d'un système de mesure / détection. Contrôle interne.

Détection des amplicons : phase de capture des amplicons puis une hybridation avec une sonde spécifique marquée (avidine/biotine, phosphatase alcaline, peroxydase) avec séparation des sondes liées et libres.

5. Durée des étapes du test :

Les durées sont variables d'une technique à l'autre en fonction des procédés utilisés.
Elles varient approximativement de 2h30 à 24h.

6. Interprétation et résultat

a. Données de traçabilité

- L'identification du patient ;
- La description du prélèvement (nature, site, latéralité de l'échantillon, numéro du système de gestion informatique du laboratoire) ;

7. Données cliniques :

- Le contexte clinique ; diagnostic histologique

8. Données anatomopathologiques pré-analytiques :

- Fixateur
- Cellularité tumorale
- Présence de facteurs confondants éventuels (nécrose, etc....)

9. Résultat du test :

- Détection ou non de la mutation recherchée
- Description de la mutation notée selon la nomenclature HGVS au niveau de l'exon X du gène X.
- En cas de faible cellularité (limites de cellularité définies avant réalisation du test, par les fournisseurs des tests commerciaux ou au sein des laboratoires ayant mis au point le test), une absence de mutation doit conduire à considérer le résultat comme non interprétable avec certitude et une nouvelle technique doit être réalisée (cf section suivante).

10. Si matériel insuffisant :

- Vérification du matériel sur le bloc préalablement utilisé
- Si suffisant : réalisation d'une deuxième technique avec ajout de matériel supplémentaire
- Si insuffisant : réalisation de la technique sur un autre bloc sélectionné ou résultat invalide par manque de matériel.

11. Validation

Obligatoirement par un médecin pathologiste ou biologiste.

12. Sauvegarde des résultats

Via un système sécurisé par le service informatique de la structure.

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte :

Technicien/assistant ingénieur/ingénieur/biologiste moléculaire pour la partie technique et un médecin pathologiste/biologiste pour la partie interprétation

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? non

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ?

Test réalisé dans le cadre d'une plateforme de pathologie moléculaire intégrée au CHU, CH, centre de lutte contre le cancer, ESPIC, cabinet médical de pathologie privé ou laboratoire de biologie médicale privé

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA bloc de tumeur épuisé

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle...) et les équipements techniques requis : cf ci-dessus

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test : cf ci-dessus

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage : cf ci-dessus

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique ?

Non Oui NA accréditation par le COFRAC selon la norme ISO 15189

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Non Oui NA

réalisé par un technicien/assistant-ingénieur/ingénieur/biologiste et interprété par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ?

Non Oui NA

seulement par un médecin pathologiste ou un biologiste

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié ?

Non Oui NA cf ci-dessus

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires ?

Il s'agit de la description détaillée du type de mutation avec le variant sur le gène recherché.

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Hors compétence CNPath

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ?

Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils :

Hors compétence CNPath

Quelles sont les circonstances et la fréquence des résultats non interprétables :

Matériel tumoral épuisé ou cellularité insuffisante pour conclure avec certitude en cas de résultat négatif et dégradation de l'ADN.

Selon les données de l'INCa en 2017, 2,7% des tests étaient non interprétable

La fréquence reste difficile à évaluer tout d'abord en raison des différentes techniques utilisées et surtout parce que le médecin s'efforcera de rechercher un autre prélèvement tumoral disponible pour refaire le test.

Démarche attendue en cas de résultat positif :

Dans le cancer colo-rectal *KRAS* wild type, contre-indication d'une thérapie ciblée par anti-EGFR Cetuximab ou Panitumumab (AMM).

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux négatif :

Hors compétence CNPath

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux positif :

Hors compétence CNPath

D'autres tests et/ou paramètres sont-ils pris en compte dans l'interprétation ?

Non Oui Explicitiez le raisonnement attendu

Le statut mutationnel de *KRAS*. En cas de mutation *KRAS*, l'absence de mutation de *NRAS* ne permet pas de poser une indication d'une thérapie ciblée par anti-EGFR Cetuximab ou Panitumumab (AMM).

► Comparateur

Existe-t-il un comparateur ? oui

Quels sont les comparateurs du test dans l'indication revendiquée ? la technique NGS

Citez le plus pertinent, justifiant ce choix : couverture complète des exons et possibilité de multiplexage avec d'autres gènes

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Décrivez les avantages organisationnels de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Il s'agit d'une technique plus rapide, plus simple à mettre en œuvre sur le plan logistique et dont le coût est comparativement réduit.

Rendu du résultat dans un temps court de l'ordre de 48h, possibilité de recherche séquentielle des altérations géniques permettant des économies en termes de tests, les altérations *KRAS* et *NRAS* étant mutuellement exclusives, idéalement concomitant au diagnostic histologique permettant une discussion du dossier en RCP avec l'ensemble des éléments nécessaires pour décider de la prise en charge thérapeutique. Initiation sans retard du traitement ciblé.

Décrivez les limites organisationnelles de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Le panel est ciblé permet une détection sélective et prédéterminée des mutations.

► Critères de jugement

Critère principal de performance du test (validité clinique prédictive du test compagnon sur l'efficacité ou la sécurité thérapeutique)⁴ : Hors compétence CNPath

Critère(s) secondaire(s) de performance du test (validité analytique du test sur la cible) :

Hors compétence CNPath

Justifiez le choix de ces critères de performance (avec citation bibliographique) :

Hors compétence CNPath

Indiquez les références bibliographiques démontrant l'efficacité du test par rapport au comparateur sur la base des critères de jugement choisis :

Hors compétence CNPath

Principales méta-analyses ou revues systématiques :

Hors compétence CNPath

Principales études contrôlées randomisées : Hors compétence CNPath

Principales études comparatives autres que susmentionnées : Hors compétence CNPath

Dans le cas des tests également utilisés dans le cadre du suivi thérapeutique, précisez si une corrélation a été établie entre le résultat du test et les critères cliniques : Hors compétence CNPath

Indiquez les références bibliographiques permettant d'établir cette corrélation : Hors compétence CNPath

► Place de l'acte dans la stratégie de prise en charge

Description de la stratégie de prise en charge actuellement recommandée en France dans l'indication revendiquée :

Dès le diagnostic, en cas d'adénocarcinome colorectal au stade métastatique

En cas d'évolution métastatique secondaire, le test peut être réalisé sur la tumeur initiale ou sur un nouveau prélèvement

Recommandations professionnelles (française ou européenne de préférence) sur lesquelles sont basées cette stratégie de prise en charge :

SNFGE Société Nationale Française de Gastro-entérologie – thésaurus de cancérologie digestive.

Recommandation européenne ESMO guidelines

Recommandation britannique NICE

Recommandation américaine CAP/AMP/ASCO – NCCN

Description de la place du test dans la stratégie de prise en charge. Préciser notamment le moment de réalisation du test par rapport à la prise en charge de la pathologie cible (dépistage, diagnostic initial, diagnostic de suivi...) :

Au diagnostic de l'évolution métastatique d'un cancer initialement localisé, ou au diagnostic d'un cancer métastatique d'emblée.

La mise en œuvre de l'intervention diagnostique sera-t-elle conditionnée à des résultats de tests préalables ? Hors compétence CNPath

⁴ Il est à noter que l'utilité clinique du test compagnon sera évaluée dans le cadre de l'évaluation du médicament ou de la classe de médicament.

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):
 Recherche de mutations activatrices (oncogéniques) des exons 18,19,20,21 du gène *EGFR* pour la prise en charge théranostique des carcinomes bronchiques non à petites cellules localement avancés ou métastatiques

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via d'autres modalités : liste complémentaire du RIHN : séquençage EGFR 2 exons (N503) et séquençage EGFR 4 exons (N504)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez

Une étude à l'échelle européenne, réalisée en 2015, indiquait que les tests EGFR étaient disponibles dans 24 pays et pris en charge par le système de soin dans 11 d'entre eux (*M Carbonnaux et al, European mapping of EGFR mutation test and EGFR tyrosine kinase inhibitors availability in thoracic oncology Eur Resp J 2015 46: PA4225; DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4225*).

Une étude à l'échelle mondiale, réalisée par la même équipe, indiquait que les tests EGFR étaient disponibles en routine dans 57 pays (70% de la population mondiale), pris en charge dans 18 pays et coûtant moins de 500 USD dans 31 pays (*Carbonnaux M, et al. Inequalities in lung cancer: a world of EGFR. Eur Respir J. 2016 May;47(5):1502-9*). La plupart des polices d'assurance couvrent les tests EGFR aux USA (*Nellesen D, et al. Reimbursement landscape for molecular testing in non-small cell lung cancer (NSCLC). Am J Manag Care. 2018 Feb;24(2 Spec No.):SP37-SP42*). Le test EGFR est complètement pris en charge par le système de santé en Autriche et en Slovaquie et pris en charge pour un nombre limité de patients dans 5 autres pays d'Europe Centrale (*Ryska A, et al. Non-Small Cell Lung Cancer in Countries of Central and Southeastern Europe: Diagnostic Procedures and Treatment Reimbursement Surveyed by the Central European Cooperative Oncology Group. Oncologist. 2018 Dec;23(12):e152-e158*).

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM?

Non Oui Précisez : cf ci-dessous DMIVD

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE. L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV?

Non Oui Précisez :

Description des DMDIV commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

Il existe de très nombreux DMDIV commercialisés avec ou sans marquage CE, et de nombreux tests « maison », basés sur des techniques de biologie moléculaire standard (PCR en temps réel, SnaPSHOT, HRM, analyse de fragments, séquençage, spectrométrie de

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directives 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission et règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

masse...) développés et validés par les laboratoires des plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers. Malgré la diversité des technologies employées, il faut noter que 1) la plupart des laboratoires réalisant ces tests ont porté cet examen à l'accréditation COFRAC et 2) les contrôles externes de qualité nationaux montrent des performances satisfaisantes à l'échelle du territoire (contrôle Gen&Tiss 2018 coordonné par le GFCO et l'AFACAP : 49 laboratoires participants, taux d'erreur des tests EGFR évalué à 4/245, soit 1,6%). Ces éléments indiquent que les performances analytiques des techniques utilisées en France pour la détection des mutations EGFR sont correctes.

Une liste exhaustive de tests utilisés n'est pas disponible et risquerait d'être obsolète rapidement. Quelques exemples de DMDIV (liste non limitative) sont indiqués ci-dessous :
 Therascreen® EGFR Pyro® Kit CE (Qiagen), marquage CE IVD
 Therascreen® EGFR RGQ PCR, (Qiagen), marquage CE IVD
 cobas® EGFR Mutation Test v2, (Roche), marquage CE IVD
 Idylla EGFR Mutation Test (Biocartis), marquage CE IVD
 Oncomine solid Tumor DNA (Thermofisher), marquage CE IVD
 EGFR Mutation Analysis Kit (Entrogen), marquage CE IVD

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...)?

Non Oui Précisez : Selon la technologie utilisée, le DMDIV sera relié à un automate et un logiciel connecté spécifique (Exemple : Therascreen® EGFR Pyro® Kit CE (Qiagen) utilise le pyroséquenceur Qiagen et le logiciel Pyromark). Tous les tests mentionnés ci-dessus et toutes les techniques de PCR en temps réel, analyse de fragments, séquençage, etc, sont associés à des logiciels informatiques permettant de visualiser et d'interpréter les résultats techniques.

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée ?

Non Oui

Si oui précisez les références de cette évaluation :

AVIS N° 2014.0117/AC/SEAP du 17 décembre 2014 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au « Test de détection des mutations activatrices du domaine tyrosine kinase du récepteur EGFR dans le cancer du poumon »

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
 Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
 Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

Non Oui Précisez explicitement le rationnel

Il existe un fort rationnel biologique et médical (Pao W, Chmielecki J. Rational, biologically based treatment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010 Nov;10(11):760-74). La mutation du récepteur à l'EGF constitue un élément oncogénique majeur, activant de nombreux processus cellulaires et les cellules tumorales ayant un récepteur muté sont « dépendantes » de cette signalisation pour leur survie. Les patients dont la tumeur présente une mutation activatrice du gène EGFR (exons 18, 19, et 21) sont ceux qui bénéficient de l'inhibition de l'activité tyrosine kinase de l'EGFR par les inhibiteurs tyrosine

kinase (ITK) de première (gefitinib, erlotinib), deuxième (afatinib) et troisième génération (osimertinib). Les patients dont la tumeur porte une mutation de résistance (exon 20) présentent une résistance à l'inhibition de l'activité tyrosine kinase de l'EGFR muté par les ITK de première ou deuxième génération, mais seront sensibles à l'action des ITK de troisième génération. L'interaction entre le marqueur et le gefitinib a été mise en évidence dès 2009 (Mok TS, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009 Sep 3;361(10):947-57). Les AMM des ITK-EGFR sont toutes conditionnées à la présence de mutation activatrice EGFR. Le bénéfice clinique associé au traitement par ITK-EGFR chez les patients ayant un cancer du poumon muté EGFR est aujourd'hui reconnu et validé par l'ensemble des recommandations nationales ou internationales (GUIDE DU PARCOURS DE SOINS Cancers du poumon, HAS 2013, Référentiels 2019 inter-régionaux en Oncologie Thoracique Auvergne-Rhône-Alpes, Recommandations de l'ESMO, ASCO, NCCN, etc). L'étude Biomarqueurs France, réalisée sous l'égide de l'Intergroupe IFCT, a montré le bénéfice de survie associé à la réalisation du testing moléculaire des cancers du poumon non à petites cellules en France (Barlesi F, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet.* 2016 Apr 2;387(10026):1415-1426.).

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

Non Oui Précisez

Ce test est mis en œuvre pour les patients ayant un carcinome bronchique non à petites cellules localement avancé ou métastatique dès le diagnostic pour permettre aux patients ayant une mutation activatrice de l'EGFR de bénéficier d'un traitement avec des ITK de l'EGFR dès la 1^{re} ligne de traitement. Il est réalisé sur la tumeur ou en cas d'absence de tissu analysable sur l'ADN circulant.

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

Non Oui Précisez les modalités de suivi.

Les patients qui progressent sous traitement par ITK de l'EGFR sont re-testés pour la recherche de mutation de résistance de l'EGFR. Sous traitement par ITK de première / deuxième génération, on recherchera notamment la mutation T790M (exon 20). Si cette mutation est présente, les patients pourront bénéficier d'un ITK de l'EGFR de 3^e génération. D'autres mutations de résistance sont observées lors de la progression sous ITK de 3^{ème} génération (mutation C797S, etc). La recherche de mutation de résistance aux ITK-EGFR peut être réalisée en biopsie liquide (EGFR muté circulant) ou sur biopsie tissulaire. Cette dernière analyse est indispensable en cas d'absence de détection d'ADN tumoral circulant.

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés?

Non Oui Précisez

Les ITK de l'EGFR de première (gefitinib, erlotinib), deuxième (afatinib) et troisième génération (osimertinib) ont tous une AMM conditionnée à la présence du biomarqueur, le lien étant établi par de multiples essais cliniques. Ces médicaments sont utilisés actuellement après le testing de l'EGFR.

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament?

Oui Non précisez

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans le cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ?

Non Oui Précisez

Les essais cliniques ont conduit à l'obtention de l'AMM des ITK de l'EGFR de première (gefitinib, erlotinib), deuxième (afatinib) et troisième génération (osimertinib)

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament?

Non Oui Précisez

Les AMM ont été obtenues. il s'agit de médicaments de la liste 1 : Médicament soumis à prescription hospitalière. Prescription réservée aux spécialistes en oncologie ou en hématologie ou aux médecins compétents en cancérologie. Médicament nécessitant une surveillance particulière pendant le traitement

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication

La réalisation des recherches de mutations de l'EGFR fait partie des tests indispensables au diagnostic des carcinomes bronchiques non à petites cellules de stade avancé ou métastatique, car la présence ou l'absence de mutation conditionne la stratégie thérapeutique mise en œuvre par les oncologues thoraciques (cf référentiels). Le suivi du statut EGFR de la tumeur est également nécessaire en cas de progression sous ITK-EGFR.

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication

L'organisation nécessaire à la réalisation des tests et le circuit des prélèvements sont en place depuis 2008 pour la prise en charge des patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules, dans le cadre des AMM des ITK-EGFR . Les plateformes de Génétique moléculaire des cancers soutenues par l'INCa ont mis en place et validé les techniques nécessaires et leurs performances techniques. L'examen est accrédité par le COFRAC dans de nombreux laboratoires publics et privés et tous participent au contrôle de qualité annuel Gen&Tiss piloté par le GFCO et l'AFAQAP.

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication

L'identification des patients porteurs de mutations activatrices susceptibles de répondre au TKI-EGFR répond à l'exigence de l'AMM de ces médicaments et permet une économie de santé en n'exposant pas inutilement des patients non susceptibles de répondre à des thérapeutiques coûteuses et susceptibles de provoquer des effets secondaires. Le remboursement du test permettra une égalité de traitement des patients sur l'ensemble du territoire quel que soit son lieu de prise en charge.

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication

L'accréditation des examens (validation des performances techniques des tests utilisés pour la recherche des mutations de l'EGFR et mise en place d'un système qualité efficient) est obligatoire dans le cadre de l'inscription de l'acte à la liste complémentaire du RIHN ou à la NABM.

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication : 28 plateformes de génétique moléculaires du cancer, soit au minimum 49 laboratoires + 4 nouveaux participants (données du contrôle de qualité Gen&Tiss 2018).

Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication : 28000 (Données INCa 2016 recherche mutations EGFR = 28 563)

Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement : environ 28000

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) :

[Avis no2014.0117/AC/SEAP du 17 décembre 2014](#)

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?

Non Oui Précisez (référence des documents et retranscription in extenso des préconisations concernant l'acte en question dans l'indication revendiquée) :

Société de pneumologie de langue française (SPLF) : Cancer du poumon, bilan initial 2011 (<http://splf.fr/reco/cancer-du-poumon-bilan-initial/>)

Référentiels 2019 inter-régionaux en Oncologie Thoracique Auvergne-Rhône-Alpes (<http://oncologik.fr/referentiels/aura/cancer-bronchique-non-a-petites-cellules-referentiel-aura-2019>)

Référentiel ESMO (Planchard D, et al; ESMO Guidelines Committee. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018 Oct 1;29(Suppl 4):iv192-iv237)

L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ?

Non Oui Précisez :

Éléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test: critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... :

Principales comorbidités admises :

Principales comorbidités exclues :

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test) ?

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ?

La population éligible au test est au minimum la population de patients atteints d'un carcinome bronchique non à petites cellules (CBNPC) non épidermoïde à un stade métastatique. La recherche de mutation EGFR est également recommandée dans le cas d'un carcinome épidermoïde chez le non fumeur et chez des patients ayant un stade localement avancé pour lequel un traitement systémique est envisagé à court terme. Les tests doivent être répétés pour les patients ayant une tumeur mutée EGFR, progressant sous ITK-EGFR. Le nombre de décès annuels par cancer du poumon est actuellement en France d'environ 33000. Si on considère que 60% des patients décédés sont porteurs d'une tumeur de type CBNPC non épidermoïde, le nombre de tests annuels à réaliser est au minimum de 20000/an. Les données d'activité recueillies par l'INCa font état de 28000 tests/an et d'une stabilité du nombre des analyses au cours des dernières années ; ce qui correspond probablement à la population cible, additionnée des indications annexes et du suivi des patients ayant une tumeur mutée sous ITK.

La proportion de patients ayant une tumeur mutée EGFR est en moyenne de 11% des patients testés selon l'étude Biomarqueurs France (cf Barlesi et al, Lancet 2016)

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte : Biologie Médicale et/ou Anato-Pathologie

A. La phase préanalytique :

1. Prélèvement tissulaire (exérèse ou biopsie) (chirurgien/oncologue/pneumologue). Fixation et inclusion des prélèvements en paraffine, diagnostic histologique, préparation du matériel (copeaux) (Pathologiste) pour l'envoi dans les laboratoires ayant la compétence d'exécution des tests moléculaires (Biologiste Médical ou Pathologiste moléculaire)

2 Prélèvement sanguin (biologiste médicale/infirmiers/technicien ayant la compétence de prélèvement sanguin). Envoi des tubes de sang total ou du plasma après centrifugation et congélation dans les laboratoires ayant la compétence d'exécution des tests moléculaires (préciser une compétence pour l'ADNtc ?) Biologiste Médical ou Pathologiste moléculaire)

B. La phase analytique : extraction d'acides nucléiques et mise en œuvre des méthodes de biologie moléculaire permettant la recherche des mutations de l'EGFR sur tissu ou en biopsie liquide (Biologiste Médicale ou Pathologiste moléculaire)

C. La phase post-analytique : Interprétation des résultats validation biologique et envoi du Compte-Rendu (Biologiste Médicale (ADN tissulaire ou circulant) ou Pathologiste moléculaire (ADN tissulaire)

Acte de prélèvement + réalisation test biologique : biologiste médical et/ou pathologiste

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? Chirurgien/oncologue /pneumologue/radiologue pour le prélèvement tissulaire (biopsie ou exérèse)

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ? Le prélèvement tissulaire est fait en milieu hospitalier (public ou privé) et les prélèvements sanguins peuvent être fait soit en milieu hospitalier soit en laboratoire de ville en utilisant soit des tubes EDTA qui devront être traités dans les 3h, soit des tubes spécifiques permettant de stabiliser l'ADN, l'ARN ou l'ADN circulant libre acellulaire (ccfDNA) dès le prélèvement (PAXgene® Blood ,Cell-Free DNA Collection Tube Roche®.etc)... .

Hospitalisation complète, hospitalisation de jour, hospitalisation à domicile...

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle....) et les équipements techniques requis :

Laboratoire de biologie médicale (LBM) ou de pathologie ayant les compétences et équipements nécessaires pour mettre en œuvre des méthodes de biologie moléculaire (BM).

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test :

- enregistrement (secrétariat de laboratoire)
- technique (techniciens de laboratoire, ingénieurs, bio-informaticien)
- interprétation résultats (biologiste médical ou pathologiste moléculaire)

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage :

ce sont ceux du personnel d'un LBM ou Labo pathologie ayant la formation nécessaire pour des actes de biologie moléculaire

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique?

Non Oui NA

La méthode utilisée pour le test doit être vérifiée et/ou validée ensuite soumise à l'Accréditation COFRAC ISO 15189. Le Laboratoire exécutant le test doit participer à des CQE nationales et/ou internationales.

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Le test est effectué par un technicien de laboratoire puis validé par un biologiste ou un pathologiste moléculaire

Non Oui NA

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ? non

Non Oui NA

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié?

Non Oui NA plusieurs équipements de BM et informatiques possibles pour la détermination du statut mutationnel du gène EGFR de la tumeur

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires?

Binaire (+ information qualitative type de mutation)

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Seuil défini en fonction de la technique (et précisé dans le Compte-Rendu)

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ? Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils :

NA

Quelles sont les circonstances et la fréquence des résultats non interprétables :
 Fixation, décalcification ; quantité ou concentration ADN insuffisante, cellularité tumorale insuffisante dans le fragment tissulaire utilisé pour l'extraction d'acides nucléiques (étapes pré-analytiques). Des recommandations spécifiques ont été établies par l'INCa pour limiter ces risques. Selon les données recueillies par l'INCa, il reste, malgré toutes les précautions mises en œuvre, environ 5% de cas non contributifs .

Démarche attendue en cas de résultat positif : **traitement avec des ITK de l'EGFR**

Démarche attendue en cas de résultat négatif : choix d'un autre type de **traitement**

Démarche attendue en cas de résultat non interprétable : **nouveau prélèvement tissulaire ou sanguin**

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux négatif :

Perte de chance pour le patient

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux positif :

Perte de chance pour le patient

D'autres tests et/ou paramètres sont-ils pris en compte dans l'interprétation ?

Non Oui Explicitiez le raisonnement attendu

Un résultat négatif pour la recherche de mutation EGFR devra être interprété en fonction de la cellularité tumorale du fragment tissulaire analysé et/ou de la détection d'autres mutations indiquant la validité technique de l'analyse.

Dans le cas d'une analyse sur ADN plasmatique, la technique utilisée devra avoir une sensibilité suffisante pour détecter la présence de mutations activatrices et de mutations de résistance. L'absence de détection de mutations dans cette matrice doit être interprétée comme non contributive d'un point de vue clinique et conduire à l'analyse d'un nouveau prélèvement (tissulaire de préférence).

► **Comparateur : NA**

Existe-t-il un comparateur ?

Quels sont les comparateurs du test dans l'indication revendiquée ?

Citez le plus pertinent, justifiant ce choix :

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Décrivez les avantages organisationnels de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Décrivez les limites organisationnelles de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

► **Critères de jugement**

Avis de la HAS pour l'utilisation des médicaments avec le préalable de la recherche de mutation de l'EGFR :

IRESSA - CT-6839

IRESSA_PIS_EPI_CT15320_Avis 2

TARCEVA-PIS-RI-Avis2-CT10237

GIROTRIF Sapub2-CT13272

Tagrisso-Pic-REEV-Avis3-CT15966

Critère principal de performance du test (validité clinique prédictive du test compagnon sur l'efficacité ou la sécurité thérapeutique)⁴ :

Critère(s) secondaire(s) de performance du test (validité analytique du test sur la cible) :

Justifiez le choix de ces critères de performance (avec citation bibliographique) :

Indiquez les références bibliographiques démontrant l'efficacité du test par rapport au comparateur sur la base des critères de jugement choisis:

Principales méta-analyses ou revues systématiques :

Principales études contrôlées randomisées:

Principales études comparatives autres que susmentionnées :

Dans le cas des tests également utilisés dans le cadre du suivi thérapeutique, précisez si une corrélation a été établie entre le résultat du test et les critères cliniques :

Indiquez les références bibliographiques permettant d'établir cette corrélation :

► Place de l'acte dans la stratégie de prise en charge

Description de la stratégie de prise en charge actuellement recommandée en France dans l'indication revendiquée :

Recommandations professionnelles (française ou européenne de préférence) sur lesquelles sont basées cette stratégie de prise en charge :

Description de la place du test dans la stratégie de prise en charge. Préciser notamment le moment de réalisation du test par rapport à la prise en charge de la pathologie cible (dépistage, diagnostic initial, diagnostic de suivi...) :

La mise en œuvre de l'intervention diagnostique sera-t-elle conditionnée à des résultats de tests préalables ?

[Intervention thérapeutique \(cf réponses aux questions précédentes\)](#)

⁴ Il est à noter que l'utilité clinique du test compagnon sera évaluée dans le cadre de l'évaluation du médicament ou de la classe de médicament.

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):

Recherche des mutations activatrices dans le gène BRAF codon V600 pour les mélanomes non résecables métastatiques et cancer bronchique non à petites cellules avancé pour une thérapie ciblée

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via la d'autres modalités précisez (RIHN, liste complémentaire, programmes de recherche ministériels : PRME, PHRC...)

Liste complémentaire du RIHN : Recherche de la mutation BRAF V600 par technique moléculaire (N501) Forfait mutationnel mélanome (BRAF V600/NRAS) (N525)

Liste principale du RIHN : Mutation BRAF (hors mutation V600) – (N535)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez

Il y a une prise en charge à l'étranger. Quelques données de la littérature : étude de données réelles en Australie, Allemagne, Italie, Espagne (Mohr, P., P. Ascierto, A. Arance, G. McArthur, A. Hernaez, P. Kaskel, R. Shinde, et K. Stevinson. « Real-World Treatment Patterns and Outcomes among Metastatic Cutaneous Melanoma Patients Treated with Ipilimumab ». *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 32, no 6 (2018): 962 71.), Etats-Unis (indication poumon : Derm Dalal, Anand A., Annie Guerin, Alex Mutebi, et Kenneth W. Culver. « Economic analysis of BRAF gene mutation testing in real world practice using claims data: costs of single gene versus panel tests in patients with lung cancer ». *Journal of Medical Economics* 21, no 7 (3 juillet 2018): 649 55.), Brésil, Royaume-Unis, Canada, (Tadeu dos Santos, Marcos, Neil Atkey, Eloise Aita, et Jordan Clark. « International comparison of BRAF testing in melanoma. » *Journal of Clinical Oncology* 34, no 15_suppl (20 mai 2016).).

Il y a des recommandations ESMO pour l'utilisation de ces tests (Michielin, O., A. C. J. van Akkooi, P. A. Ascierto, R. Dummer, U. Keilholz, et ESMO Guidelines Committee. « Cutaneous Melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up† ». *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 30, no 12 (1 décembre 2019): 1884 1901.)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM ?

Non Oui Précisez : DM1VD

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission](#) et [règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le](#)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV?

Non Oui Précisez :

Description des DMDIV commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE4.

Liste non exhaustive des cas DMDIV

BRAF Therascreen Pyro kit (Qiagen)

Cobas® 4800 BRAF V600 Mutation Test (Roche)

Tissu Idylla™ BRAF Mutation Test ((Biocartis)

Idylla™ NRAS-BRAF Mutation Test (Biocartis)MelaCarta (Sequenom)

ADPS BRAF Mutation Test kit (Genecast)

ThxID BRAF (Biomerieux)

QClamp® BRAF Mutation Detection Tests (DiaCarta)

SensiScreen® BRAF V600 FFPE assays (Pentabase)

gbONCO BRAF (V600E) (generi Biotech)

plus panel NsGS CE-IVD (Illumina/Multiplicom/SophiaGenetics /Thermofisher Scientific/VelaDiagnostics/ etc.)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...)?

Non Oui Précisez :

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée ?

Non Oui

Si oui précisez les référence les références de cette évaluation :

Avis du 17 décembre 2014

Le service attendu du test de détection des mutations V600 du gène BRAF dans le mélanome est suffisant dans les indications des spécialités ZELBORAF et TAFINLAR.

Le niveau de l'amélioration du service attendu de cet acte correspond au niveau le plus élevé de l'amélioration du service médical rendu des spécialités ZELBORAF et TAFINLAR soit niveau III (modéré).

Le collège est favorable à l'inscription du test de détection des mutations V600 du gène BRAF dans le mélanome sur la liste mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale.

Cet avis émis en 2014 n'inclut pas les combinaisons actuellement sur le marché (MEKINIST – COTELLIC)

[règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

⁴ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission](#) et [règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
 Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
 Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

- Non Oui Précisez explicitement le rationnel

Mélanome stade III et métastatique

Essais cliniques randomisés et avis EMEA pour chacun des médicaments

Il existe des recommandations de thérapie ciblée en fonction du résultat du test compagnon :

2011 Vemurafenib (ZELBORAF) - mélanome

2013 dabrafenib (TAFINLAR) - mélanome

2014 trametinib+dabrafenib (MEKINIST+ TAFINLAR) – mélanome + poumon

2015 cobimetinib+vemurafenib (COTELLIC+ZELBORAF) - mélanome

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

- Non Oui Précisez

Pour le choix thérapeutique des mélanomes stade III métastatique

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

- Non Oui Précisez les modalités de suivi

Actuellement, le niveau de preuve est insuffisant pour l'utilisation en suivi sur ADN circulant.

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés ?

- Non Oui Précisez

Résultats des essais cliniques associés

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament ?

- Oui Non précisez

Il existe d'autres applications diagnostiques

Adénocarcinome

- papillaire de la thyroïde (50% - diagnostic et pronostic / absence de médicament ciblé –

essais cliniques positifs de phase 1 et 2) [Kim, Tae Hyuk, et al. « The Association of the BRAF(V600E) Mutation with Prognostic Factors and Poor Clinical Outcome in Papillary Thyroid Cancer: A Meta-Analysis ». Cancer 118, no 7 (1 avril 2012): 1764 73.]

- colorectal (8% - uniquement pronostic et différenciation des syndromes de Lynch – nombreuses recommandations) [Sepulveda, et al. « Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer ». Archives of Pathology & Laboratory Medicine 141, no 5 (mai 2017): 625 57.] [ESMO guidelines: Annals of Oncology 27: 1386–1422, 2016

Recommendation 5: BRAF testing. Tumour BRAF mutation status should be assessed alongside the assessment of tumour RAS mutational status for prognostic assessment (and/or potential selection for clinical trials)]

- poumon (3% - résultats d'essais cliniques pour la mise sous traitement - recommandation

ESMO : dabrafenib+trametinib) [Planchard, D., et al. « Metastatic Non-Small Cell Lung

Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up ». *Annals of Oncology* 29, no Supplement_4 (1 octobre 2018): iv192-237.]
 - tumeur séreuse borderline de l'ovaire (30% - diagnostic – aucune recommandation spécifique) [Ho CL, et al. Mutations of BRAF and KRAS precede the development of ovarian serous borderline tumors. *Cancer Res.* 2004; 64:6915–8.]

Cancers non épithéliaux

- GIST (2-3% diagnostic - GIST non KIT/PDGFRα mutés) [Nishida, Toshiro, et al. « The Standard Diagnosis, Treatment, and Follow-up of Gastrointestinal Stromal Tumors Based on Guidelines ». *Gastric Cancer* ; 19, no 1 (janvier 2016): 3-14.]
 - Tumeurs du SNC à but diagnostic - xanthoastrocytome pléomorphe (66%) - gangliogliome (18%) [Schindler G, et al. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2011;121(3):397-405.]

Hémopathies :

- leucémie à tricholeucocytes (diagnostic car présent à 100% - recommandations) [Troussard, Xavier, et al. « Hairy cell leukemia 2018: Update on diagnosis, risk-stratification, and treatment ». *American Journal of Hematology* 92, no 12 (décembre 2017): 1382-90.]
 - histiocytose à cellules de Langerhans (57% diagnostic) [Badalian-Verly G, Vergilio JA, Degar BA et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2010 ;116(11):1919-23.]
 - myélome (4% diagnostic - pas de recommandation – résultats cliniques prometteurs) [Ribas, Antoni, et al. « Combined BRAF and MEK Inhibition with PD-1 Blockade Immunotherapy in BRAF-Mutant Melanoma ». *Nature Medicine* 25, no 6 : 936-40.]

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ?

Non Oui Précisez

2011 Vemurafenib (ZELBORAF) - mélanome

2013 dabrafenib (TAFINLAR) - mélanome

2014 trametinib+dabrafenib (MEKINIST+ TAFINLAR) – mélanome + poumon

2015 cobimetinib+vemurafenib (COTELLIC+ZELBORAF) - mélanome

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament ?

Non Oui Précisez

Oui cf liste ci-dessus.

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication

Obligation pour l'accès au médicament.

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication

Possibilité de proposer des traitements par voie orale et un suivi après l'immunothérapie.

L'organisation nécessaire à la réalisation des tests et le circuit des prélèvements sont en place depuis 2008 pour la prise en charge des patients atteints du mélanome et du cancer du poumon. Les plateformes de Génétique moléculaire des cancers soutenues par l'INCa ont mis en place et validé les techniques nécessaires et leurs performances techniques. L'examen est accrédité par le COFRAC dans de nombreux laboratoires publics et privés et tous participent au contrôle de qualité annuel Gen&Tiss piloté par le GFCO et l'AFAQAP.

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication

Obligation pour l'accès au traitement. Réduction à la population pouvant répondre à la thérapeutique.

L'identification des patients porteurs de mutations activatrices susceptibles de répondre au traitement anti-MEK/BRAF répond à l'exigence de l'AMM de ces médicaments et permet une économie de santé en n'exposant pas inutilement des patients non susceptibles de répondre à des thérapeutiques coûteuses et susceptibles de provoquer des effets secondaires. Le remboursement du test permettra une égalité de traitement des patients sur l'ensemble du territoire quel que soit son lieu de prise en charge.

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication

Réduire le nombre de cas non étudiés.

Améliorer la qualité en rendant l'accréditation des examens obligatoire dans le cadre de l'inscription de l'acte à la liste complémentaire du RIHN ou à la NABM.

Table : résumé des indications et RCP EMEA des médicaments avec le biomarqueur BRAF

Médicament	Indications	RCP
Dabrafenib	Mélanome Le dabrafenib est indiqué en monothérapie ou en association au tramétinib dans le traitement des patients adultes atteints d'un mélanome non résectable ou métastatique porteur d'une mutation BRAF V600 (voir rubriques 4.4 et 5.1). Traitement adjuvant du mélanome Le dabrafenib en association avec le tramétinib est indiqué dans le traitement adjuvant des patients adultes atteints d'un mélanome de stade III porteur d'une mutation BRAF V600, après résection complète. Cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) Le dabrafenib est indiqué en association au tramétinib dans le traitement des patients adultes atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules avancé porteur d'une mutation BRAF V600.	Tafinlar, INN-dabrafenib - Europa EU https://www.ema.europa.eu/tafinlar-epar-product-information_fr 26 août 2013
Vemurafenib	Le vemurafenib est indiqué en monothérapie dans le traitement des patients adultes atteints d'un mélanome non résectable ou métastatique porteur d'une mutation BRAF V600	Zelboraf, INN-vemurafenib - Europa EU https://www.ema.europa.eu/zelboraf-epar-product-information_fr 1 févr. 2012
Tramétinib	Le tramétinib est indiqué en monothérapie ou en association au dabrafenib dans le traitement des patients adultes atteints d'un mélanome non résectable ou métastatique porteur d'une mutation BRAF V600 (voir rubriques 4.4 et 5.1). Le tramétinib en monothérapie n'a pas démontré d'activité clinique chez les patients dont la maladie a progressé au cours d'un traitement antérieur par un inhibiteur de BRAF (voir rubrique 5.1).	Mekinist, INN-tramétinib - Europa https://ec.europa.eu/documents/community-register/anx_135479_fr 13 mars 2015

Cobimetinib	Cotellic est indiqué en association au vemurafenib dans le traitement des patients adultes atteints d'un mélanome non résecable ou métastatique porteur d'une mutation BRAF V600	Cotellic, INN-cobimetinib - Europa EU https://www.ema.europa.eu/cotellic-epar-product-information_fr 20 nov. 2015
-------------	--	--

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication : 51 (inscription Gen&tiss 2018)
 Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication : 6045 (mélanome – rapport INCa 2017) + 25713 (poumon – rapport INCa 2017) soit 35 000 cas par an.
 Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement : 35000
 Ce chiffre doit être étendus aux indications avec 45 000 cas de cancer du côlon (7 000 cas si limités aux MSI-H), 10000 cas de cancer de la thyroïde (80% papillaires), 6000 cas de myélomes, moins de 1000 cas pour les autres indications. Il y a donc entre 24 000 et 62 000 cas supplémentaires.

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) :

Avis n°2014.0118/AC/SEAP du 17 décembre 2014 du collège de la HAS relatif au « Test de détection d'une mutation BRAF V600 dans le mélanome »

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?

Non Oui Précisez (référence des documents et retranscription in extenso des préconisations concernant l'acte en question dans l'indication revendiquée) :

« Overview | Melanoma: Assessment and Management | Guidance | NICE ». Consulté le 6 janvier 2020. <https://www.nice.org.uk/guidance/ng14>. Overview | Vemurafenib for Treating Locally Advanced or Metastatic BRAF V600 Mutation positive Malignant Melanoma | Guidance | NICE ». Consulté le 6 janvier 2020. <https://www.nice.org.uk/guidance/ta269>. « Overview | Dabrafenib for Treating Unresectable or Metastatic BRAF V600 Mutation positive Melanoma | Guidance | NICE ». Consulté le 6 janvier 2020. <https://www.nice.org.uk/guidance/ta321>.

L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ?

Non Oui Précisez :

Éléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test : critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... :

[Cf indication des médicaments](#)

Principales comorbidités admises : [stade avancé](#)

Principales comorbidités exclues :

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test ?

6045 (mélanome – rapport INCa 2017) + 25713 (poumon – rapport INCa 2017) soit 35 000 cas par an.

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ?

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte : [Biologie Médicale et/ou Anato-mo-Pathologie](#)

A. La phase pré-analytique :

Prélèvement tissulaire (exérèse ou biopsie) (chirurgien/oncologue/pneumologue/radiologue). Fixation et inclusion des prélèvements en paraffine, diagnostic histologique, préparation du matériel (copeaux) (Pathologiste) pour l'envoi dans les laboratoires ayant la compétence d'exécution des tests moléculaires (Biologiste Médical ou Pathologiste moléculaire)

B. La phase analytique : extraction d'acides nucléiques et mise en œuvre des méthodes de biologie moléculaire permettant la recherche des mutations BRAF sur tissu ou liquide de ponction (Biologiste Médicale ou Pathologiste moléculaire)

C. La phase post-analytique : Interprétation des résultats validation biologique et envoi du Compte-Rendu (Biologiste Médicale - Pathologiste moléculaire)

Acte de prélèvement + réalisation test biologique : biologiste médical et/ou pathologiste

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? ?

Chirurgien/oncologue /pneumologue/radiologue pour le prélèvement tissulaire (biopsie ou exérèse)

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ?

Le prélèvement tissulaire est fait en milieu hospitalier (public ou privé)

Hospitalisation complète, hospitalisation de jour, hospitalisation à domicile...

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle...) et les équipements techniques requis :

Laboratoire de biologie médicale (LBM) ou de pathologie ayant les compétences et équipements nécessaires pour mettre en œuvre des méthodes de biologie moléculaire (BM).

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test :

- enregistrement (secrétariat de laboratoire)
- technique (techniciens de laboratoire, ingénieurs, bio-informaticien)
- interprétation résultats (biologiste médical ou pathologiste moléculaire)

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage :

Ce sont ceux du personnel d'un LBM ou d'une structure de pathologie ayant la formation nécessaire pour des actes de biologie moléculaire

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique ?

Non Oui NA

La méthode utilisée pour le test doit être vérifiée et/ou validée ensuite soumise à l'Accréditation COFRAC ISO 15189. Le Laboratoire exécutant le test doit participer à des CQE nationales et/ou internationales.

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Non Oui NA

Le test est effectué par un technicien de laboratoire puis validé par un biologiste ou un pathologiste moléculaire

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ?

Non Oui NA

validé par un biologiste ou un pathologiste moléculaire

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié ?

Non Oui NA plusieurs équipements de biologie moléculaires et informatiques possibles pour la détermination du statut mutationnel du gène BRAF de la tumeur

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires ?

Binaire (mutation V600 muté / non muté) et catégoriel en fonction des autres mutations différentes de V600.

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Seuil défini en fonction de la technique (et précisé dans le Compte-Rendu)

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ? Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils : [NA](#)

Quelles sont les circonstances et la fréquence des résultats non interprétables : [Fixation, décalcification ; quantité ou concentration ADN insuffisante, cellularité tumorale insuffisante dans le fragment tissulaire utilisé pour l'extraction d'acides nucléiques \(étapes pré-analytiques\)](#). Des recommandations spécifiques ont été établies par l'INCa pour limiter ces risques. Selon les données recueillies par l'INCa, il reste, malgré toutes les précautions mises en œuvre, environ 5% de cas non contributifs.

Démarche attendue en cas de résultat positif : [traitement avec les anti-MEK / BRAF](#)

Démarche attendue en cas de résultat négatif : [choix d'un autre type de traitement](#)

Démarche attendue en cas de résultat non interprétable : [nouveau prélèvement tissulaire ou possibilité d'un prélèvement sanguin \(à évaluer\)](#)

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux négatif : [Perte de chance pour le patient](#)

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux positif : [Perte de chance pour le patient](#)

D'autres tests et/ou paramètres sont-ils pris en compte dans l'interprétation ?

Non Oui Explicitiez le raisonnement attendu

[Un résultat négatif pour la recherche de mutation BRAF devra être interprété en fonction de la cellularité tumorale du fragment tissulaire analysé et/ou de la détection d'autres mutations indiquant la validité technique de l'analyse.](#)

► Comparateur NA

Existe-t-il un comparateur ?

[Absence de comparateur pour ce test](#)

Quels sont les comparateurs du test dans l'indication revendiquée ?

Citez le plus pertinent, justifiant ce choix :

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Décrivez les avantages organisationnels de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Décrivez les limites organisationnelles de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

► Critères de jugement

Critère principal de performance du test (validité clinique prédictive du test compagnon sur l'efficacité ou la sécurité thérapeutique)⁵ :

[Cf essais cliniques](#)

Critère(s) secondaire(s) de performance du test (validité analytique du test sur la cible) :

[Validation des méthodes \(CE-IVD ou COFRAC15189\)](#)

Justifiez le choix de ces critères de performance (avec citation bibliographique) :

Indiquez les références bibliographiques démontrant l'efficacité du test par rapport au comparateur sur la base des critères de jugement choisis :

Principales méta-analyses ou revues systématiques :

Principales études contrôlées randomisées :

[Cf essais cliniques](#)

Principales études comparatives autres que susmentionnées :

Dans le cas des tests également utilisés dans le cadre du suivi thérapeutique, précisez si une corrélation a été établie entre le résultat du test et les critères cliniques :

Indiquez les références bibliographiques permettant d'établir cette corrélation :

► Place de l'acte dans la stratégie de prise en charge

Description de la stratégie de prise en charge actuellement recommandée en France dans l'indication revendiquée :

Recommandations professionnelles (française ou européenne de préférence) sur lesquelles sont basées cette stratégie de prise en charge :

Description de la place du test dans la stratégie de prise en charge. Préciser notamment le moment de réalisation du test par rapport à la prise en charge de la pathologie cible (dépistage, diagnostic initial, diagnostic de suivi...) :

La mise en œuvre de l'intervention diagnostique sera-t-elle conditionnée à des résultats de tests préalables ?

[Intervention théragnostique \(cf réponses aux questions précédentes\)](#)

⁵ Il est à noter que l'utilité clinique du test compagnon sera évaluée dans le cadre de l'évaluation du médicament ou de la classe de médicament.

1. INFORMATIONS SUR LE TEST ET SA PRISE EN CHARGE ACTUELLE

Dénomination du test compagnon en décrivant sa finalité (mentionner l'indication):

Recherche des mutations activatrices dans les exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS pour les cancers colorectaux métastatiques pour l'utilisation des anticorps monoclonaux anti-EGFR.

L'acte de réalisation du test compagnon a-t-il déjà été pris en charge en France par l'Assurance maladie ?

NON

OUI via la nomenclature (CCAM/NABM) Précisez le libellé et le code :

OUI via la d'autres modalités précisez (RIHN, liste complémentaire, programmes de recherche ministériels : PRME, PHRC...)

Liste complémentaire du RIHN : N523 Forfait mutationnel cancer colorectal métastatique (KRAS/NRAS) 6 exons. 440.10 €

L'acte de réalisation du test compagnon est-il pris en charge à l'étranger ?

Non Oui Précisez

Le test moléculaire KRAS/NRAS est pris en charge de nombreux pays : Etats-Unis [Kircher, Sheetal M., et al. « Cost Estimates and Economic Implications of Expanded RAS Testing in Metastatic Colorectal Cancer ». *The Oncologist* 20, no 1 (janvier 2015): 14-18.], Japon, Espagne, Italie, Angleterre, Allemagne, Australie [Agashe, V. R., et al. « PMD168 - MARKET ACCESS FOR COMPANION DIAGNOSTICS IN ONCOLOGY IN THE EU5 AND ASIA-PACIFIC REGION ». *Value in Health* 21 (1 octobre 2018): S272.].

Plusieurs recommandations internationales ont inclus le criblage des gènes KRAS et NRAS dans le cancer colorectal métastatique comme l'ESMO dès 2014 [Van Cutsem, E., et al et ESMO Guidelines Working Group. « Metastatic Colorectal Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up ». *Annals of Oncology* 25 Suppl 3 (septembre 2014): iii1-9.].

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DM?

Non Oui Précisez : DMIVD

Description des DM commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE³.

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à un DMDIV?

Non Oui Précisez :

Description des DMDIV commercialisées en France et en Europe : nom, marquage CE⁴.

³ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission](#) et [règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

⁴ Certificat CE en conformité avec les dispositions applicables au [règlement \(UE\) 2017/746 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et abrogeant la directive 98/79/CEE et la décision 2010/227/UE de la Commission](#) et [règlement \(UE\) 2017/745 du Parlement](#)

Liste non exhaustive des cas DMDIV

Cobas® 4800 KRAS Mutation Test (Roche Diagnostics)
 Tissu Idylla™ KRAS et NRAS/BRAF Mutation Test (Biocartis)
 Easy® KRAS et Easy® NRAS (Diatech)
 SensiScreen® FFPE KRAS et SensiScreen® FFPE NRAS (PentaBase)
 plus panel NGS CE-IVD (Illumina/Multiplicom/SophiaGenetics /Thermofisher Scientific/VelaDiagnostics/ etc.)

L'acte de réalisation du test compagnon est-il associé à une autre technologie (logiciel connecté...) ?

Non Oui Précisez :

La HAS a-t-elle déjà réalisé une évaluation technologique de santé (HTA) pour l'acte dans l'indication revendiquée ?

Non Oui

Si oui précisez les référence les références de cette évaluation :

Avis n°2015.0014/AC/SEAP 12 février 2015 du collège de la HAS relatif au « Test de détection des mutations du gène KRAS dans le cancer colorectal »

Avis n°2015.0013/AC/SEAP 12 février 2015 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au « Test de détection des mutations du gène NRAS dans le cancer colorectal »

Avis du 3 Septembre 2014

La modification de l'indication de VECTIBIX restreignant son utilisation aux patients atteints de cancer colorectal métastatique avec un statut RAS (KRAS et N-RAS) non muté dans le cadre d'une stratégie stratifiée, n'est pas de nature à modifier les appréciations précédentes de la Commission de la transparence en l'absence de données comparatives versus les autres biothérapies indiquées chez ces patients dans les différentes lignes de traitement.

Avis du 2 décembre 2015

La modification de l'indication de ERBITUX restreignant son utilisation aux patients atteints de cancer colorectal métastatique avec un statut RAS (KRAS et N-RAS) non muté dans le cadre d'une stratégie stratifiée, n'est pas de nature à modifier les appréciations précédentes de la commission de la Transparence compte tenu des données non concluantes versus bevacizumab et l'absence de données comparatives versus panitumumab. En conséquence et en l'état actuel des données, ERBITUX n'apporte pas d'amélioration du service médicale rendu (ASMR V) dans la prise en charge du cancer colorectal métastatique avec un statut RAS non muté (type sauvage) en première ligne de traitement.

[européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement \(CE\) n°178/2002 et le règlement \(CE\) n°1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE](#)

Enjeux de l'acte à évaluer dans cette indication

Objectif de la stratification (utilisation du test)

- Identifier la sous population susceptible de bénéficier de l'efficacité du médicament
- Identifier une sous population en vue d'améliorer la tolérance du médicament
- Stratification en vue de déterminer la dose de médicament

Existe-t-il un rationnel médical et/ou biologique fort reliant le biomarqueur à la maladie ?

- Non Oui Précisez explicitement le rationnel

Essais thérapeutiques de phase III randomisés.

Etude PRIME (Panitumumab, analyse rétrospective des statuts RAS)

Etude PEAK (Panitumumab)

Etude ASPECCT (Panitumumab)

Etude OPUS (Cetuximab, analyse rétrospective des statuts RAS)

Etude CRYSTAL (Cetuximab, analyse rétrospective des statuts RAS)

Etude FIRE3 (Cetuximab)

Le test fait-il partie des examens diagnostiques et/ou pronostiques réalisés en pratique courante dans le cadre du diagnostic initial de la maladie, et le cas échéant, du suivi du patient ?

- Non Oui Précisez

Pour le choix thérapeutique des cancers colorectaux métastatiques

Le test est-il également utilisé dans le cadre du suivi thérapeutique ?

- Non Oui Précisez les modalités de suivi

Actuellement, le niveau de preuve est insuffisant pour l'utilisation en suivi sur ADN circulant.

Un lien a-t-il été établi entre l'identification du biomarqueur et l'amélioration de l'état de santé (critères cliniques) des sujets testés ?

- Non Oui Précisez

Résultats des essais cliniques associés

Le biomarqueur est-il recherché exclusivement pour ce médicament ou classe de médicament ?

- Oui Non précisez

Actuellement au stade d'essais cliniques avancés dans le cancer du poumon et le mélanome.

Recherche des mutations du gène KRAS dans les cancers bronchiques non à petites cellules et autres tumeurs solides avec indication de l'AMG 510 (inhibiteur KRAS spécifique de la forme G12C, Lanman BA et al. J Med Chem. 2019) – essais cliniques.

Recherche des mutations du gène NRAS dans les mélanomes métastatiques avec option d'utilisation des anti-MEK chez les patients présentant un mélanome NRAS muté (Sarkisian et al. Drug Des Devel Ther. 2018).

Le biomarqueur a-t-il été recherché dans cadre de l'étude pivot du médicament ou classe de médicament ?

- Non Oui Précisez

Voir les essais cliniques associés

Etude PRIME (Panitumumab, analyse rétrospective des statuts RAS)

Etude PEAK (Panitumumab)

Etude ASPECCT (Panitumumab)

Etude OPUS (Cetuximab, analyse rétrospective des statuts RAS)

Etude CRYSTAL (Cetuximab, analyse rétrospective des statuts RAS)

Etude FIRE3 (Cetuximab)

Le biomarqueur est-il inscrit dans le RCP du médicament ou classe de médicament ?

Non Oui Précisez

Oui *cf.* liste ci-dessus.

Enjeux professionnels attendus de l'acte dans cette indication

Obligation pour l'accès au médicament.

Enjeux organisationnels attendus de l'acte dans cette indication

Possibilité de proposer une ligne de traitement supplémentaire pour les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.

L'organisation nécessaire à la réalisation des tests et le circuit des prélèvements sont en place depuis 2008 pour la prise en charge des patients atteints du mélanome et du cancer du poumon. Les plateformes de Génétique moléculaire des cancers soutenues par l'INCa ont mis en place et validé les techniques nécessaires et leurs performances techniques. L'examen est accrédité par le COFRAC dans de nombreux laboratoires publics et privés et tous participent au contrôle de qualité annuel Gen&Tiss piloté par le GFCO et l'AFAQAP.

Enjeux économiques attendus de l'acte dans cette indication

Obligation pour l'accès au traitement. Réduction à la population pouvant répondre à la thérapeutique.

L'identification des patients porteurs de mutations activatrices susceptibles de présenter une résistance au traitement par anticorps monoclonal anti-EGFR répond à l'exigence de l'AMM de ces médicaments et permet une économie de santé en n'exposant pas inutilement des patients non susceptibles de répondre à des thérapeutiques coûteuses et susceptibles de provoquer des effets secondaires. Le remboursement du test permettra une égalité de traitement des patients sur l'ensemble du territoire quel que soit son lieu de prise en charge.

Autres enjeux attendus de l'acte dans cette indication

Réduire le nombre de cas non étudiés.

Améliorer la qualité en rendant l'accréditation des examens obligatoire dans le cadre de l'inscription de l'acte à la liste complémentaire du RIHN ou à la NABM.

Table : résumé des indications et RCP EMEA des médicaments avec le biomarqueur KRAS NRAS

Médicament	Indications	RCP
Cetuximab	<p>Erbix est indiqué dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique avec gène RAS de type sauvage exprimant le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR)</p> <ul style="list-style-type: none"> - en association avec une chimiothérapie à base d'irinotecan, - en association au FOLFOX, en 1re ligne, - en monothérapie après échec d'un traitement à base d'oxaliplatine et d'irinotecan et en cas d'intolérance à l'irinotecan. 	<p>ERBITUX https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/erbitux-epar-product-information_fr.pdf</p>
Panitumumab	<p>Vectibix est indiqué pour le traitement des patients adultes atteints d'un cancer colorectal métastatique (CCRm) avec un statut RAS non muté (type sauvage) :</p> <ul style="list-style-type: none"> - en première ligne en association avec un protocole FOLFOX ou FOLFIRI, - en seconde ligne en association avec un protocole FOLFIRI pour les patients qui ont reçu en première ligne un protocole de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine (excluant l'irinotecan), - en monothérapie après échec des protocoles de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine, oxaliplatine et irinotecan. 	<p>VECTIBIX https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vectibix-epar-product-information_fr.pdf</p>

Volumes de prescription dans cette indication

Nombre de centres en France réalisant actuellement l'acte dans l'indication : 51 ([inscription Gen&tiss 2019](#))
 Volume d'actes actuellement réalisés en France dans l'indication : 21 923 (44% mutés) KRAS réalisées par les plateformes en 2016 et 17 814 (5% mutés) NRAS réalisées par les plateformes
 Volume d'actes prévisionnel dans l'indication en cas de remboursement : 45 000 cas de cancer du côlon – on estime à un volume de 25 000 cas par an.

Evaluation et recherche comparative dans cette indication

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé l'acte dans cette indication ? Non Oui Précisez (référence des documents) :

NICE - Cetuximab and panitumumab for previously untreated metastatic colorectal cancer
 Technology appraisal guidance [TA439] - 29 March 2017

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé l'acte dans cette indication ?

Non Oui Précisez (référence des documents et retranscription in extenso des préconisations concernant l'acte en question dans l'indication revendiquée :

ESMO Consensus Guidelines for the Management of Patients with Metastatic Colorectal Cancer. Published in 2016 - First published online: July 5, 2016
 Authors: E. Van Cutsem, A. Cervantes, R. Adam, A. Sobrero, J. H. Van Krieken, D. Aderka, E. Aranda Aguilar, A. Bardelli, A. Benson, G. Bodoky, F. Ciardiello, A. D'Hoore, E. Diaz-Rubio, J.-Y. Douillard, M. Ducreux, A. Falcone, A. Grothey, T. Gruenberger, K. Haustermans, V. Heinemann, P. Hoff, C.-H. Köhne, R. Labianca, P. Laurent-Puig, B. Ma, T. Maughan, K. Muro, N. Normanno, P. Österlund, W. J. G. Oyen, D. Papamichael, G. Pentheroudakis, P. Pfeiffer, T. J. Price, C. Punt, J. Ricke, A. Roth, R. Salazar, W. Scheithauer, H. J. Schmoll, J. Tabernero, J. Taïeb, S. Tejpar, H. Wasan, T. Yoshino, A. Zaanan and D. Arnold
 "The appropriate molecular analyses are to be carried out at the time of initial diagnosis of mCRC and should comprise a full analysis of tumour RAS mutational status (KRAS: exon 2, 3 and 4 and NRAS: exon 2, 3 and 4) with a simultaneous analysis of tumour BRAF mutational status, conducted in a validated laboratory/testing centre, to facilitate the best diagnostic and prognostic decision making possible. All patients considered for systemic therapy should be stratified according to whether their tumours were RAS wild-type, RAS mutant or BRAF mutant."

L'acte fait-il ou a-t-il fait l'objet d'étude(s) comparative(s) dans cette indication financée(s) par le Ministère de la santé dans le cadre de PHRC, PRME, PREPS ou PHRIP ?

Non Oui Précisez :

Éléments PICO

► Population

Décrivez précisément la population cible du médicament et du test : critères anatomiques, critères de gravité, critères d'âge... :

Cf indication des médicaments

Principales comorbidités admises : *stade avancé*

Principales comorbidités exclues : *Aucune*

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population cible éligible au test) ?

La population éligible au test est la population des cancers colorectaux métastatiques.

Quelles sont les données épidémiologiques clés d'incidence et de prévalence de la population candidate au médicament, du marqueur recherché (test positif) ?

Les données proviennent des essais cliniques. Le test est positif entre 43 et 58%.

Van Krieken, et al. « RAS testing in metastatic colorectal cancer: advances in Europe ». Virchows Archiv 468 (2016): 383-96.

► Intervention

Description du geste technique de l'acte détaillant chaque étape et en précisant pour chaque étape la durée de celle-ci :

Précisez la spécialité médicale réalisant l'acte : *Biologie Médicale et/ou Anatomopathologie*

A. La phase pré-analytique :

Prélèvement tissulaire (exérèse ou biopsie) (chirurgien/oncologue/pneumologue). Fixation et inclusion des prélèvements en paraffine, diagnostic histologique, préparation du matériel (co-peaux) (Pathologiste) pour l'envoi dans les laboratoires ayant la compétence d'exécution des tests moléculaires (Biologiste Médical ou Pathologiste moléculaire)

B. La phase analytique : extraction d'acides nucléiques et mise en œuvre des méthodes de biologie moléculaire permettant la recherche des mutations KRAS et NRAS sur tissu (Biologiste Médicale ou Pathologiste moléculaire)

C. La phase post-analytique : Interprétation des résultats validation biologique et envoi du Compte-Rendu (Biologiste Médicale - Pathologiste moléculaire)

Acte de prélèvement + réalisation test biologique : biologiste médical et/ou pathologiste

Un acte spécifique complémentaire réalisé par une autre spécialité est-il nécessaire ? ?

Chirurgien/oncologue /pneumologue/radiologue pour le prélèvement tissulaire (biopsie ou exérèse)

Quel est l'environnement requis pour la réalisation de l'intervention ?

Le prélèvement tissulaire est fait en milieu hospitalier (public ou privé)

Hospitalisation complète, hospitalisation de jour, hospitalisation à domicile...

L'acte nécessite-t-il un recours à l'anesthésie ?

Non Oui Précisez NA

L'acte nécessite-t-il un guidage par imagerie ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des contre-indications ?

Non Oui NA

L'acte présente-t-il des complications ?

Non Oui NA

Description du plateau technique requis pour chaque étape de la réalisation du test. Cette description précise également l'environnement technique (bloc opératoire, salle interventionnelle...) et les équipements techniques requis :

Laboratoire de biologie médicale (LBM) ou de pathologie ayant les compétences et équipements nécessaires pour mettre en œuvre des méthodes de biologie moléculaire (BM).

Description de la composition de l'équipe médicale et paramédicale (type, spécialité, nombre, rôle) requise pour chaque étape de la réalisation du test :

- enregistrement (secrétariat de laboratoire)
- technique (techniciens de laboratoire, ingénieurs, bio-informaticien)
- interprétation résultats (biologiste médical ou pathologiste moléculaire)

Description de(s) qualification(s) et de(s) formation(s) requise(s) pour l'opérateur du test. Cette description précise également la courbe d'apprentissage :

Ce sont ceux du personnel d'un LBM ou d'une structure de pathologie ayant la formation nécessaire pour des actes de biologie moléculaire

Le test est-il soumis à un cadre réglementaire spécifique ?

Non Oui NA

La méthode utilisée pour le test doit être vérifiée et/ou validée ensuite soumise à l'Accréditation COFRAC ISO 15189. Le Laboratoire exécutant le test doit participer à des CQE nationales et/ou internationales.

Le test est-il mis en œuvre et son résultat interprété par la même personne ?

Non Oui NA

Le test est effectué par un technicien de laboratoire puis validé par un biologiste ou un pathologiste moléculaire

L'interprétation du résultat du test peut-elle exiger plusieurs personnes ?

Non Oui NA

validé par un biologiste ou un pathologiste moléculaire

L'interprétation nécessite-t-elle un équipement spécifique, un logiciel ou un algorithme dédié ?

Non Oui NA plusieurs équipements de biologie moléculaires et informatiques possibles pour la détermination du statut mutationnel des gènes KRAS et NRAS de la tumeur

Le rendu des résultats du test sont-ils des données continues, catégorielles ou binaires ?

Binaire (mutation KRAS ou NRAS muté / non muté) et catégoriel en fonction des autres mutations différentes de KRAS et NRAS (hors hotspots).

Quel sont les seuils permettant de classer les malades ?

Seuil défini en fonction de la technique (et précisé dans le Compte-Rendu)

Quelles sont les modalités de classement des résultats ou seuil décisionnel à privilégier ? Préciser en particulier si plusieurs seuils ou catégories doivent être utilisés ainsi que les modalités de fixation de ces seuils : NA

Quelles sont les circonstances et la fréquence des résultats non interprétables : Fixation, décalcification ; quantité ou concentration ADN insuffisante, cellularité tumorale insuffisante dans le fragment tissulaire utilisé pour l'extraction d'acides nucléiques (étapes pré-analytiques). Des recommandations spécifiques ont été établies par l'INCa pour limiter ces risques. Selon les données recueillies par l'INCa, il reste, malgré toutes les précautions mises en œuvre, environ 5% de cas non contributifs.

Démarche attendue en cas de résultat positif : traitement par anticorps monoclonal anti-EGFR exclu.

Démarche attendue en cas de résultat négatif : traitement par anticorps monoclonal anti-EGFR possible.

Démarche attendue en cas de résultat non interprétable : nouveau prélèvement tissulaire ou possibilité d'un prélèvement sanguin (à évaluer)

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux négatif : Perte de chance pour le patient

Décrire l'analyse de risques et les conséquences en cas de résultats faux positif : Perte de chance pour le patient

D'autres tests et/ou paramètres sont-ils pris en compte dans l'interprétation ?

Non Oui Explicitement le raisonnement attendu

Un résultat négatif pour la recherche de mutation KRAS et NRAS devra être interprété en fonction de la cellularité tumorale du fragment tissulaire analysé et/ou de la détection d'autres mutations indiquant la validité technique de l'analyse.

► Comparateur NA

Existe-t-il un comparateur ?

Absence de comparateur pour ce test

Quels sont les comparateurs du test dans l'indication revendiquée ?

Citez le plus pertinent, justifiant ce choix :

Y a-t-il une évaluation de technologie de santé (HTA) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Y a-t-il une recommandation professionnelle (française ou européenne de préférence) ayant validé le comparateur dans cette indication ?

Non Oui Précisez :

Décrivez les avantages organisationnels de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

Décrivez les limites organisationnelles de l'acte par rapport au(x) comparateur(s) :

► Critères de jugement

Critère principal de performance du test (validité clinique prédictive du test compagnon sur l'efficacité ou la sécurité thérapeutique)⁵ :

Cf essais cliniques

Critère(s) secondaire(s) de performance du test (validité analytique du test sur la cible) :

Validation des méthodes (CE-IVD ou COFRAC15189)

Justifiez le choix de ces critères de performance (avec citation bibliographique) :

Indiquez les références bibliographiques démontrant l'efficacité du test par rapport au comparateur sur la base des critères de jugement choisis :

Principales méta-analyses ou revues systématiques :

Principales études contrôlées randomisées :

Cf essais cliniques

Principales études comparatives autres que susmentionnées :

Dans le cas des tests également utilisés dans le cadre du suivi thérapeutique, précisez si une corrélation a été établie entre le résultat du test et les critères cliniques :

Indiquez les références bibliographiques permettant d'établir cette corrélation :

⁵ Il est à noter que l'utilité clinique du test compagnon sera évaluée dans le cadre de l'évaluation du médicament ou de la classe de médicament.

► **Place de l'acte dans la stratégie de prise en charge**

Description de la stratégie de prise en charge actuellement recommandée en France dans l'indication revendiquée :

Recommandations professionnelles (française ou européenne de préférence) sur lesquelles sont basées cette stratégie de prise en charge :

Description de la place du test dans la stratégie de prise en charge. Préciser notamment le moment de réalisation du test par rapport à la prise en charge de la pathologie cible (dépistage, diagnostic initial, diagnostic de suivi...) :

La mise en œuvre de l'intervention diagnostique sera-t-elle conditionnée à des résultats de tests préalables ?

[Intervention théranostique \(cf réponses aux questions précédentes\)](#)

Références bibliographiques

1. Haute Autorité de Santé. Evaluation des actes de préparation, qualification et sélection d'un échantillon tissulaire ou cellulaire pour analyse de génétique somatique des cancers. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2019. https://has-sante.fr/jcms/p_3080503/fr/evaluation-des-actes-de-preparation-et-de-qualification-d-un-echantillon-tissulaire-ou-cellulaire-en-anatomocytopathologie-pour-l-analyse-en-genetique-somatique-des-cancers-feuille-de-route?portal=p_3058934
2. Haute Autorité de Santé. Définition des conditions de réalisation des tests de détection des mutations activatrices du domaine tyrosine kinase du récepteur EGFR et des mutations BRAF, NRAS, KRAS. Note de cadrage. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2020. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3194755/fr/definition-des-conditions-de-realisation-des-tests-de-detection-des-mutations-activatrices-du-domaine-tyrosine-kinase-du-recepteur-egfr-et-des-mutations-braf-nras-kras-note-de-cadrage
3. Ministère des affaires sociales et de la santé, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. Plan cancer 2009-2013. Rapport final au Président de la République, juin 2013. Paris: Ministère des affaires sociales et de la santé; 2013. <https://www.vie-publique.fr/sites/default/files/rapport/pdf/134000559.pdf>
4. Jackson SE, Chester JD. Personalised cancer medicine. *Int J Cancer* 2015;137(2):262-6. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.28940>
5. Sigismund S, Avanzato D, Lanzetti L. Emerging functions of the EGFR in cancer. *Mol Oncol* 2018;12(1):3-20. <http://dx.doi.org/10.1002/1878-0261.12155>
6. Roskoski R. Targeting oncogenic Raf protein-serine/threonine kinases in human cancers. *Pharmacol Res* 2018;135:239-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.013>
7. Jarry A, Masson D, Cassagnau E, Parois S, Laboisie C, Denis MG. Real-time allele-specific amplification for sensitive detection of the BRAF mutation V600E. *Mol Cell Probes* 2004;18(5):349-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2004.05.004>
8. Mitsutake N, Knauf JA, Mitsutake S, Mesa C, Zhang L, Fagin JA. Conditional BRAF^{V600E} expression induces DNA synthesis, apoptosis, dedifferentiation, and chromosomal instability in thyroid PCCL3 cells. *Cancer Res* 2005;65(6):2465-73. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.Can-04-3314>
9. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, *et al.* Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417(6892):949-54. <http://dx.doi.org/10.1038/nature00766>
10. Brose MS, Volpe P, Feldman M, Kumar M, Rishi I, Gerrero R, *et al.* BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res* 2002;62(23):6997-7000.
11. Andrulelis M, Lehnert N, Capper D, Penzel R, Heining C, Huellein J, *et al.* Targeting the BRAF V600E mutation in multiple myeloma. *Cancer Discov* 2013;3(8):862-9. <http://dx.doi.org/10.1158/2159-8290.Cd-13-0014>
12. Dietrich S, Glimm H, Andrulelis M, von Kalle C, Ho AD, Zenz T. BRAF inhibition in refractory hairy-cell leukemia [letter]. *N Engl J Med* 2012;366(21):2038-40. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc1202124>
13. Willmore-Payne C, Holden JA, Tripp S, Layfield LJ. Human malignant melanoma: detection of BRAF- and c-kit-activating mutations by high-resolution amplicon melting analysis. *Hum Pathol* 2005;36(5):486-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2005.03.015>
14. Lovly CM, Brown Dahlman K, Fohn LE, Su Z, Dias-Santagata D, Hicks DJ, *et al.* Routine multiplex mutational profiling of melanomas enables enrollment in genotype-driven therapeutic trials. *PLoS One* 2012;7(4):e35309. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0035309>
15. Cho NY, Choi M, Kim BH, Cho YM, Moon KC, Kang GH. BRAF and KRAS mutations in prostatic adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2006;119(8):1858-62. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.22071>
16. Shinozaki M, Fujimoto A, Morton DL, Hoon DS. Incidence of BRAF oncogene mutation and clinical relevance for primary cutaneous melanomas. *Clin Cancer Res* 2004;10(5):1753-7. <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-1169-3>
17. Feng YZ, Shiozawa T, Miyamoto T, Kashima H, Kurai M, Suzuki A, *et al.* BRAF mutation in endometrial carcinoma and hyperplasia: correlation with KRAS and p53 mutations and mismatch repair protein expression. *Clin Cancer Res* 2005;11(17):6133-8. <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-04-2670>
18. Trovisco V, Soares P, Soares R, Magalhães J, Sá-Couto P, Sobrinho-Simões M. A new BRAF gene mutation detected in a case of a solid variant of papillary thyroid carcinoma. *Hum Pathol* 2005;36(6):694-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2005.04.011>
19. Reifemberger J, Knobbe CB, Sterzinger AA, Blaschke B, Schulte KW, Ruzicka T, *et al.* Frequent alterations of Ras signaling pathway genes in sporadic malignant melanomas. *Int J Cancer* 2004;109(3):377-84. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.11722>
20. Xiao HD, Yamaguchi H, Dias-Santagata D, Kuboki Y, Akhavanfard S, Hatori T, *et al.* Molecular characteristics and biological behaviours of the oncocytic and pancreatobiliary subtypes of intraductal papillary mucinous neoplasms. *J Pathol* 2011;224(4):508-16. <http://dx.doi.org/10.1002/path.2875>
21. Shah R, Lester JF. Tyrosine kinase inhibitors for the treatment of EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: a clash of the generations. *Clin Lung Cancer* 2020;21(3):e216-e28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clcc.2019.12.003>
22. Ohhara Y, Fukuda N, Takeuchi S, Honma R, Shimizu Y, Kinoshita I, *et al.* Role of targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2016;8(9):642-55. <http://dx.doi.org/10.4251/wjgo.v8.i9.642>
23. Institut national du cancer. Comment se déroule un test moléculaire ? [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2015. <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie>

24. Negura L, Carasevici E, Huma AM, Artenie V. Méthodologie actuelle de la biologie moléculaire pour la détection des mutations. *Anal Sti Univ Sect Genet Biol Mol* 2006;7:13-20.

25. van Krieken JH, Rouleau E, Ligtenberg MJ, Normanno N, Patterson SD, Jung A. RAS testing in metastatic colorectal cancer: advances in Europe. *Virchows Arch* 2016;468(4):383-96.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00428-015-1876-7>

26. Institut national du cancer. Les tests de génétique somatique [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2017.
<http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Les-tests-de-genetique-somatique>

27. Haute Autorité de Santé. Avis n° 2019.0067/AC/SEAP du 18 décembre 2019 du collège de la HAS relatif à l'inscription sur la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale de l'acte de sélection et préparation d'un échantillon tissulaire fixé et inclus en paraffine pour analyse de génétique somatique des cancers. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2019.
https://www.has-sante.fr/jcms/p_3143846/fr/avis-n-2019-0067/ac/seap-du-18-decembre-2019-du-college-de-la-has-relatif-a-l-inscription-sur-la-liste-des-actes-et-prestations-mentionnee-a-l-article-l-162-1-7-du-code-de-la-securite-sociale-de-l-acte-de-selection-et-preparation-d-un-echantillon-tissulaire-fixe-et-inclus-en-paraffine-pour-analyse-de-genetique-somatique-des-cancers

28. Institut national du cancer. Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides. Boulogne-Billancourt: INCa; 2010.
<https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Bonnes-pratiques-pour-la-recherche-a-visee-theranostique-de-mutations-somatiques-dans-les-tumeurs-solides>

29. Institut national du cancer. Validation de méthodes pour la recherche de mutations en génétique somatique. Boulogne-Billancourt: INCa; 2014.
<https://www.e-cancer.fr/content/download/86001/874800/file/Validation-de-methode-en-genetique-Somatique.pdf>

30. Onco-Occitanie réseau régional de cancérologie. Référentiel de biologie moléculaire 2020. Référentiel régional. Toulouse: Onco-Occitanie; 2020.
<https://www.onco-occitanie.fr/oo/download/media/file/419>

31. Agence du numérique en santé, Institut national du cancer. Compte rendu de génétique moléculaire (CANCER-CR-GM V2021.01). Spécifications fonctionnelles. Cadre d'interopérabilité des SIS - Couche Contenus. Référentiels. Version en concertation, 12/05/2021. Paris: ANS; 2021.
https://esante.gouv.fr/sites/default/files/media_entity/documents/CI-SIS_CR-GM_SFD_2021.01_20210512.pdf

32. Comité français d'accréditation. Exigences pour l'accréditation selon les normes NF EN ISO 15189 et NF EN ISO 22870. SH REF 02 - Révision 06. Paris: COFRAC; 2019.
<https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-REF-02>

33. Comité français d'accréditation. Expression et évaluation des portées d'accréditation. SH REF 08 - Révision 06. Paris: COFRAC; 2019.
<https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-REF-08>

34. Comité français d'accréditation. Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale. Document SH GTA 04. Révision 01. Paris: COFRAC; 2015.
<https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-04>

35. American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, Sepulveda AR, Hamilton SR, et al. Molecular biomarkers for the evaluation of colorectal cancer. *Am J Clin Pathol* 2017;147(3):221-60.
<http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/aqw209>

36. Blons H, Laurent-Puig P. Aspect technique de la détermination du statut KRAS dans le cancer colorectal et mise en place en France. Point de vue du biologiste. *Bull Cancer* 2009;96(N° Spec):S47-56.
<http://dx.doi.org/10.1684/bdc.2009.0996>

37. Société de réanimation de langue française, Uhel F, Zafrani L. Nouvelles techniques de biologie moléculaire. *Méd Intensive Réa* 2019;28(6):464-72.
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.3166/rea-2019-0119>

38. Agence européenne des médicaments. IRESSA 250 mg, comprimés pelliculés. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2009.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/iressa-epar-product-information_fr.pdf

39. Agence européenne des médicaments. Tarceva 25 mg comprimés pelliculés. Tarceva 100 mg comprimés pelliculés. Tarceva 150 mg comprimés pelliculés. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2005.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tarceva-epar-product-information_fr.pdf

40. Agence européenne des médicaments. GIOTRIF 20 mg, comprimés pelliculés. GIOTRIF 30 mg, comprimés pelliculés. GIOTRIF 40 mg, comprimés pelliculés. GIOTRIF 50 mg, comprimés pelliculés. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2013.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/giotrif-epar-product-information_fr.pdf

41. Institut national du cancer. Cancer du poumon - les tests de génétique somatique [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2020.
<http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Cancer-du-poumon-les-tests-de-genetique-somatique>

42. Agence européenne des médicaments. Tafinlar 50 mg gélules. Tafinlar 75 mg gélules. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2013.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tafinlar-epar-product-information_fr.pdf

43. Agence européenne des médicaments. Zelboraf 240 mg comprimés pelliculés. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2012.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zelboraf-epar-product-information_fr.pdf

44. Institut national du cancer. Mélanome - les tests de génétique somatique [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2020.
<http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Melanome-les-tests-de-genetique-somatique>

45. Agence européenne des médicaments. Vectibix 20 mg/mL solution à diluer pour perfusion. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2007.

https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vectibix-epar-product-information_fr.pdf

46. Agence européenne des médicaments. Erbitux 5 mg/mL solution pour perfusion. Résumé des caractéristiques du produit. Londres: AEM; 2004.

https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/erbitux-epar-product-information_fr.pdf

47. Institut national du cancer. Cancer colorectal - les tests de génétique somatique [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2020.

<http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Cancer-colorectal-les-tests-de-genetique-somatique>

48. Institut national du cancer. Evolution de l'activité de génétique somatique dans le cancer du poumon : tests

réalisés sur l'ADN circulant [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2020.

<https://lesdonnees.e-cancer.fr/Fiches-Indicateurs/Prise-en-charge/Plateformes/Evolution-de-l-activite-de-genetique-somatique-dans-le-cancer-du-poumon-tests-realises-sur-l-ADN-circulant>

49. Institut national du cancer. Les tests de génétique moléculaire pour l'accès aux thérapies ciblées en France en 2011. Boulogne-Billancourt: INCa; 2011.

50. Institut national du cancer. Le programme d'assurance qualité des plateformes [En ligne]. Boulogne-Billancourt: INCa; 2018.

<https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-therapies-ciblees/Les-plateformes-de-genetique-moleculaire-des-cancers/Le-programme-d-assurance-qualite-des-plateformes>

Retrouvez tous nos travaux sur
www.has-sante.fr

