

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
FACULTE DE PHARMACIE DE LYON
8, avenue Rockefeller – 69373 LYON Cedex 08

Année 2015THESE n° 31-2015

MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIE INDUSTRIELLE ET BIOMEDICALE

Soutenu devant le jury interrégional le 23 octobre 2015
Par Mme. **CHOMETTE Pauline**
Née le 18 juin 1988, à Saint-Etienne
Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**ETUDE OBSERVATIONNELLE RETROSPECTIVE FAISANT ETAT DES LIEUX DES
PRATIQUES DE PRESCRIPTION ET DE REALISATION DES TESTS KRAS ET NRAS EN
2014 CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE CANCER COLORECTAL METASTATIQUE**

PRESIDENT : Mr Gilles AULAGNER, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

DIRECTEUR : Mr Jean Louis MERLIN, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

MEMBRES : Mr Jean Christophe SOUQUET, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Mme Valentine BREANT, Praticien Hospitalier

Mr François AUDHUY, Ingénieur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

| | |
|---|------------------------|
| Président de l'Université | M. François-Noël GILLY |
| Vice-Président du Conseil d'Administration | M. Hamda BEN HADID |
| Vice-Président du Conseil Scientifique | M. Germain GILLET |
| Vice-Président du Conseil des Études et de la Vie Universitaire | M. Philippe LALLE |

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

| | |
|---|--|
| UFR de Médecine Lyon Est | Directeur : M. Jérôme ETIENNE |
| UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux | Directrice: Mme Carole BURILLON |
| Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques | Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA |
| UFR d'Odontologie | Directeur : M. Denis BOURGEOIS |
| Institut des Techniques de Réadaptation | Directeur : M. Yves MATILLON |
| Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine | Directrice: Mme Anne-Marie SCHOTT |

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

| | |
|--|----------------------------------|
| Faculté des Sciences et Technologies | Directeur : M. Fabien DE MARCHI |
| UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) | Directeur : M. Yannick VANPOULLE |
| Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) | Directeur : M. Pascal FOURNIER |
| I.U.T. LYON 1 | Directeur : Christophe VITON |
| Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) | Directeur : M. Nicolas LEBOISNE |
| ESPE | Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE |

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ISPB-Faculté de Pharmacie Lyon

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE

CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU)
Madame Christelle MACHON (AHU)

PHARMACIE GALENIQUE-COSMETOLOGIE

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (MCU - HDR)
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Monsieur Fabrice PIROT (MCU - PH - HDR)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU - HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Monsieur Damien SALMON (AHU)

BIOPHYSIQUE

Monsieur Richard COHEN (PU - PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU - PH)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU - HDR)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

DROIT DE LA SANTE

Monsieur François LOCHER (PU - PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

ECONOMIE DE LA SANTE

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)
Madame Carole SIANI (MCU - HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

INFORMATION ET DOCUMENTATION

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT

Madame Joëlle GOUDABLE (PU - PH)

INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX

Monsieur Gilles AULAGNER (PU - PH)

Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

QUALITOLOGIE - MANAGEMENT DE LA QUALITE

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBault (MCU)

Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)

Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)

Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

MATHEMATIQUES - STATISTIQUES

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)

Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)

Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

CHIMIE ORGANIQUE

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)

Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)

Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)

Madame Christelle MARMINON (MCU)

Madame Sylvie RADIX (MCU - HDR)

Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Monsieur Roland BARRET (Pr)

Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)

Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)

Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)

Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)

Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)

Madame Isabelle KERZAON (MCU)

Monsieur Serge MICHALET (MCU)

PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT

Madame Roselyne BOULIEU (PU - PH)

Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)

Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU-PH)

Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)

Madame Catherine RIOUFOL (MCU - PH - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

TOXICOLOGIE

Monsieur Jérôme GUITTON (PU - PH)
Madame Léa PAYEN (MCU - HDR)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU - PH)

PHYSIOLOGIE

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

PHARMACOLOGIE

Monsieur Michel TOD (PU - PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU - PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)
Madame Corinne FEUTRIER (MCU - PAST)
Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

IMMUNOLOGIE

Monsieur Jacques BIENVENU (PU - PH)
Monsieur Guillaume MONNERET (PU - PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)
Monsieur Sébastien VIEL (AHU)

HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLES

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Monsieur Jean FRENEY (PU - PH)
Madame Florence MORFIN (PU - PH)
Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU)
Madame Émilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Veronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU)

PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)

Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)

Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE

Madame Pascale COHEN (Pr)

Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)

Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)

Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH)

Monsieur Boyan GRIGORVO (MCU)

Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)

Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)

Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU - HDR)

Madame Angélique MULARONI (MCU)

Madame Stéphanie SENTIS (MCU)

Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)

Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)

Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

Monsieur Philippe LAWTON (Pr)

Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)

Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)

Madame Angélique MULARONI (MCU)

Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)

Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques

Madame Emilie BLOND

Madame Florence RANCHON

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Madame Sophie ASSANT 85^{ème} section

Monsieur Benoît BESTGEN 85^{ème} section

Madame Marine CROZE 85^{ème} section

Madame Mylène HONORAT MEYER 85^{ème} section

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

REMERCIEMENTS

A **Mr le professeur Gilles AULAGNER**, je vous remercie de me faire l'honneur et le plaisir d'être le président de ce jury. Veuillez recevoir ici ma sincère reconnaissance.

A **Mr le Professeur Jean Louis MERLIN**, je vous remercie d'avoir dirigé ma thèse et d'avoir pris le temps de vous déplacer à Lyon pour juger de mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

A **François AUDHUY**, je te remercie de m'avoir encadré pour cette thèse et d'avoir accordé du temps pour la relecture de mon travail. Tes conseils et ton soutien pendant mes deux ans de stage chez Merck Serono m'ont beaucoup aidé à construire mon avenir professionnel. Trouve ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

A **Mr le professeur Jean-Christophe SOUQUET**, je vous remercie d'avoir eu l'amabilité d'accepter de juger ce travail. Veuillez recevoir ici ma sincère reconnaissance.

A **Mme le docteur Valentine BREANT**, je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et pour le temps que vous avez accordé à la lecture et à la critique de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

Aux équipes qui ont contribué à ma formation :

A **mes collègues de Merck Serono France** qui m'ont aidé à mener à bien le projet Flash RAS et qui m'ont accueilli chaleureusement dans leur équipe: Audrey, Maurice, Frédéric, Roselyne, Leila, Corinne, Téofil, Claudine, Marie Noëlle, Laurent, Isabelle, Olivia, Sylvie, Christine. Je garde un très bon souvenir de mon passage aux Affaires Médicales.

A **mes collègues de MerckSerono à Darmstadt**, Jeltje et Laurence, qui m'ont permis de passer un dernier stage d'internat très enrichissant et aidé à décrocher une très belle opportunité professionnelle. Une pensée également pour Hubert, Regina, Philippe, Silke, Michaela, Jean François et Barbara.

Aux pharmaciens et aux préparateurs du CH de Givors, merci de m'avoir accueilli avec simplicité dans votre équipe. Merci en particulier à Sylvie pour tes conseils et la confiance que tu m'as accordé pendant mon stage. Je garde un très bon souvenir de mon passage à Givors.

Merci à **l'équipe de pharmacovigilance de Sanofi Pasteur MSD, à la pharmacie des dispositifs médicaux de Saint-Etienne et à l'équipe pharmaceutique de Lyon Sud** pour avoir contribué à ma formation et aidé à mener à bien tous les projets qui m'ont été confiés.

A ma famille,

A mes parents, merci pour m'avoir toujours encouragé dans mes choix professionnels et pour m'avoir offert ces très belles études.

A mes frères, Vincent, Pierre et Éric ainsi qu'à Guilaine et Chloé, ma chère cousine Florence et ma grand-mère, pour m'avoir soutenu pendant ces très longues années d'études. Elles sont enfin terminées !

A mes amis,

A Faustine, pour avoir été une amie si attentionnée depuis que l'on a démarré notre vie étudiante à Lyon.

A Justine, pour avoir été une amie précieuse pendant ces quatre années d'internat et pour m'avoir guidé dans mes choix professionnels.

A mes amies de Saint-Etienne, Flo, Clarisse, Sonia, Olivia et Anne Laure, pour ces belles années passées ensemble depuis la 6^{ème} et les bons moments qui nous attendent encore !

A mes amis de la fac, Chloé, Estelle, Carine, Lucy, Marion, Michael et Gaëlle, en nostalgie de nos belles années d'étudiants.

Aux très belles rencontres que j'ai faites pendant mon internat à Lyon : **Fio, Aude T, Anne Cécile, Maude, Ségolène, Anne, Teddy, Marie, Juliette, Louise, Mickael, Candice**. Et tout particulièrement **Elodie et Sabine** pour leur constante bonne humeur.

To my flatmates, **Simon & Raphael**, thank you for welcoming me so warmly in Germany!

And the last but not the least, thanks to my **Claudius**, for your support during the hard time I had to write this thesis and for making me feel like home in Darmstadt...

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCTION | 19 |
| 2. CONTEXTE..... | 20 |
| 2.1. LE CANCER COLORECTAL..... | 20 |
| 2.1.1. EPIDEMIOLOGIE | 20 |
| 2.1.2. HISTOIRE DE LA MALADIE..... | 20 |
| 2.1.2.1. Extension tumorale | 20 |
| 2.1.2.2. Le stade métastatique..... | 21 |
| 2.1.3. LES TRAITEMENTS DANS LE CANCER COLORECTAL METASTATIQUE (CCRM)..... | 21 |
| 2.1.3.1. La chirurgie..... | 22 |
| 2.1.3.2. Les traitements systémiques..... | 22 |
| 2.1.3.3. Etat actuel des recommandations et des pratiques | 23 |
| 2.1.4. LES ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-EGFR DANS LE TRAITEMENT DU CANCER COLORECTAL METASTATIQUE | 23 |
| 2.1.4.1. Indications | 23 |
| 2.1.4.2. Mécanisme d'action des traitements anti-EGFR..... | 24 |
| 2.1.4.3. Voie de signalisation de l'EGFR | 25 |
| 2.1.4.3.1. Les protéines RAS..... | 26 |
| 2.1.4.3.2. La protéine BRAF | 27 |
| 2.1.4.4. Recommandation actuelle sur le génotypage RAS des patients atteints de cancer colorectal métastatique | 28 |
| 2.2. LE CIRCUIT D'OBTENTION DU GENOTYPAGE RAS | 28 |
| 2.2.1. LA DEMANDE D'EXAMEN | 29 |
| 2.2.2. PHASE PRE-ANALYTIQUE..... | 29 |
| 2.2.3. LA PHASE ANALYTIQUE | 31 |
| 2.2.3.1. Mutations recherchées | 31 |
| 2.2.3.2. Techniques d'analyse | 31 |
| 2.2.4. COMPTE-RENDU D'ANALYSE MOLECULAIRE | 32 |
| 2.2.5. LES PLATEFORMES DE L'INCA | 32 |
| 2.3. ACTIVITE AU NIVEAU NATIONALE..... | 34 |
| 2.4. IMPORTANCE DU STATUT RAS DANS LA STRATEGIE THERAPEUTIQUE | 34 |
| 2.5. CONDITION D'ACCES AU TEST KRAS EN FRANCE EN 2011 : ETUDE FLASH-KRAS | 37 |
| 2.5.1. DESIGN DE L'ETUDE | 37 |
| 2.5.2. CARACTERISTIQUES DES PATIENTS | 38 |
| 2.5.3. RESULTATS..... | 39 |
| 2.6. MISE EN PLACE DES NOUVEAUX TESTS DE RECHERCHE DE MUTATION SUR LES GENES RAS..... | 40 |
| 2.7. JUSTIFICATION DE L'ETUDE « FLASH RAS »..... | 41 |
| 3. MATERIELS ET METHODES | 43 |

| | |
|---|-----------|
| 3.1. METHODOLOGIE | 43 |
| 3.2. OBJECTIFS DE L'ETUDE | 43 |
| 3.3. CRITERES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION | 44 |
| 3.4. PERIODES DE L'ETUDE..... | 45 |
| 3.5. CRITERES DE JUGEMENT | 46 |
| 3.6. METHODOLOGIE STATISTIQUE | 46 |
| 3.6.1. NOMBRE DE SUJETS NECESSAIRES | 46 |
| 3.6.2. ANALYSES STATISTIQUES..... | 47 |
| 3.7. DONNEES RECUEILLIES | 47 |
| 3.8. ROLES ET RESPONSABILITES DES DIFFERENTS ACTEURS DE L'ETUDE | 49 |
| 3.8.1. LE PROMOTEUR : MERCK SERONO | 49 |
| 3.8.2. LE PRESTATAIRE | 49 |
| 3.8.3. LE COMITE SCIENTIFIQUE | 49 |
| 3.8.4. LES MEDECINS INVESTIGATEURS..... | 50 |
| 3.1. DEROULEMENT DE L'ETUDE..... | 50 |
| 3.1.1. RECRUTEMENT DES CENTRES..... | 50 |
| 3.1.2. MISE EN PLACE | 51 |
| 3.1.3. RECUEIL, MONITORING, SAISIE ET VERIFICATION DES DONNEES D'ETUDE | 51 |
| 3.2. ASPECTS REGLEMENTAIRES | 52 |
| 3.2.1. INFORMATION DES PATIENTS ET CONSENTEMENT | 52 |
| 3.2.2. REMUNERATION DES MEDECINS PARTICIPANTS ET DECLARATION AU CONSEIL NATIONAL DE L'ORDRE DES MEDECINS (CNOM) | 52 |
| 3.2.3. LOI INFORMATIQUE ET LIBERTE | 53 |
| 3.2.4. COMITE DE PROTECTION DES PERSONNES (CPP)..... | 53 |
| 4. RESULTATS..... | 54 |
| 4.1. POPULATION DE L'ETUDE | 54 |
| 4.2. DESCRIPTION DES CENTRES | 54 |
| 4.3. CARACTERISTIQUES DES PATIENTS | 56 |
| 4.4. OBJECTIF PRINCIPAL : TAUX DE PRESCRIPTION ET DE REALISATION DES TESTS DE RECHERCHE DE MUTATION RAS | 57 |
| 4.5. ANALYSE DES OBJECTIFS SECONDAIRES..... | 60 |
| 4.5.1. EVOLUTION DU TAUX DE PRESCRIPTION DU TEST KRAS ENTRE 2011 ET 2014..... | 60 |
| 4.5.2. DESCRIPTION DES MOTIFS DE NON PRESCRIPTION DU TEST DE GENOTYPAGE | 61 |
| 4.5.3. DESCRIPTION ET ANALYSE DU DELAI D'OBTENTION DU RESULTAT DES TESTS ET DU CIRCUIT | 61 |
| 4.5.3.1. Modalités de prescription du test..... | 61 |
| 4.5.3.2. Délais | 63 |
| 4.5.3.3. Compte-rendu de génotypage | 65 |
| 4.5.4. ANALYSE DE L'IMPACT DE LA DISPONIBILITE DES TESTS ET DE SON RESULTAT SUR LE CHOIX THERAPEUTIQUE DU MEDECIN | 67 |
| 5. DISCUSSION | 69 |

| | |
|--|---------------|
| 5.1. LA REPRESENTATIVITE DES DONNEES DE L'ETUDE | 69 |
| 5.1.1. LA SELECTION DES MEDECINS | 69 |
| 5.1.2. SELECTION DES PATIENTS..... | 70 |
| 5.1.3. OBSERVATION | 70 |
| 5.2. LES PRATIQUES DE PRESCRIPTION DU TEST RAS EN FRANCE EN 2014 | 70 |
| 5.2.1. LES PARAMETRES INFLUENÇANT LA PRESCRIPTION DU TEST..... | 71 |
| 5.2.2. LES RAISONS DE NON PRESCRIPTION DU TEST RAS | 72 |
| 5.3. QUAND PRESCRIRE LE TEST DANS LA PRISE EN CHARGE DU PATIENT ?..... | 72 |
| 5.1. LES ANALYSES MEDICO-ECONOMIQUES RELATIVES AU TEST RAS..... | 75 |
| 5.2. LA DETERMINATION DES MUTATIONS SUR LES GENES RAS | 76 |
| 5.2.1. TECHNIQUES UTILISEES EN 2014 | 76 |
| 5.2.1. QUALITE DES ANALYSES ET DES COMPTES RENDU | 76 |
| 5.2.1. LES FUTURES TECHNOLOGIES POUR LA RECHERCHE DE BIOMARQUEUR..... | 77 |
| 5.2.1.1. Le programme NGS de l'INCA | 77 |
| 5.2.1.2. Les tests sanguins | 77 |
| 5.3. LES MUTATIONS RAS POURRAIENT-ELLES AVOIR UNE VALEUR PRONOSTIQUE ?..... | 78 |
| 5.4. MUTATIONS BRAF, PTEN, PI3KCA : VERS DE NOUVEAUX BIOMARQUEURS ? | 78 |
| 5.4.1. LES MUTATIONS BRAF DANS LE CANCER COLORECTAL METASTATIQUE | 78 |
| 5.4.2. PTEN ET PI3KCA | 80 |
| 5.5. LES TESTS BIOMARQUEUR : LA PERSPECTIVE DU PATIENT | 81 |
| ANNEXES | 84 |
| BIBLIOGRAPHIE | 99 |

TABLE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 Les stades du cancer colorectal(2) | 21 |
| Figure 2 : Mécanisme d'action des anti-EGFR(10) | 25 |
| Figure 3 : Voies de signalisation de l'EGFR(10) | 26 |
| Figure 4 : Activation de la protéine RAS par phosphorylation(10)..... | 26 |
| Figure 5 : Fréquence des mutations sur les gènes KRAS et NRAS (7)(11)(12)..... | 27 |
| Figure 6 : Rôle des acteurs impliqués dans le circuit d'obtention du statut RAS..... | 29 |
| Figure 7 : Adénocarcinome colique objectivée sur pièce de colectomie. Sélection aisée à partir d'une lame colorée à l'hémalum-éosine d'une zone tumorale densément cellulaire (repérage rouge). Cette zone est isolée du tissu non tumoral périphérique(20) | 30 |
| Figure 8 Phase pré-analytique du circuit d'obtention du test RAS | 31 |
| Figure 9 : Répartition des 28 plateformes de biologie moléculaire de l'INCA sur le territoire français(21)..... | 33 |
| Figure 10 Evolution de la réalisation des tests KRAS, BRAF et NRAS au niveau des plateformes de biologie moléculaire en France entre 2007 et 2013(23)..... | 34 |
| Figure 11 Répartition des délais de rendu des résultats entre laboratoires (jours)(21)..... | 36 |
| Figure 12 : Durée du circuit du test KRAS en 2011(25) | 40 |
| Figure 13 Enquête INCA sur le déploiement de la recherche de mutation aux exons 3 et 4 du gène KRAS et 2,3 et 4 du gène NRAS au niveau des plateformes de biologie moléculaire(23)..... | 41 |
| Figure 14 Périodes de l'étude..... | 45 |
| Figure 15 Process de data-management pour l'étude Flash RAS | 52 |
| Figure 16 Flow-chart des patients de l'étude..... | 54 |
| Figure 17 Répartition des patients par types d'établissement et comparaison aux données PMSI | 55 |
| Figure 18 Représentativité nationale des patients inclus en comparaison aux données PMSI..... | 56 |
| Figure 19 Si prescription d'un test de génotypage, type de test réalisé | 58 |
| Figure 20 Demande de génotypage des biomarqueurs par région | 59 |
| Figure 21 Taux de prescription en fonction de l'établissement..... | 59 |
| Figure 22 Distribution du délai entre la prescription du test et le diagnostic des premières métastases (semaines) | 62 |

| | |
|---|----|
| Figure 23 Prescripteur du test de génotypage | 62 |
| Figure 24 Délai moyen \pm ET de réception du compte rendu en 2011 et 2014 | 63 |
| Figure 25 - Délais médians d'envoi du matériel à la plateforme et de génotypage et délai total de réception des résultats du test en 2011 et 2014 | 63 |
| Figure 26 Distribution du délai de génotypage | 64 |
| Figure 27 Délai moyen \pm ET de génotypage en 2011 et 2014 | 65 |
| Figure 28 Modalités de transmission des résultats au centre | 66 |
| Figure 29 Si compte-rendu disponible, destinataire et modalités de transmission du compte rendu | 67 |
| Figure 30 Proportion de patients pour lequel la mutation a été recherchée sur les exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS | 68 |
| Figure 31 Analyse en sous-groupe de la survie globale du panitumumab versus panitumumab + FOLFOX chez les patients KRAS wt(36)..... | 88 |
| Figure 32 Courbe de la survie sans progression selon le groupe d'âge ($<$ ou \geq 70 ans) chez les patients KRAS wt traités par cetuximab en association à la chimiothérapie en 1 ^{ère} ligne du CCRm(37) | 89 |
| Figure 33 Forest Plot représentant la survie globale chez les patients RAS wt traités par anti-EGFR + CT ou anti-VEGF + CT en 1 ^{ère} ligne du CCRm (47) | 91 |
| Figure 39 Évolution envisagée pour le séquençage extensif du génome tumoral d'ici la fin du Plan cancer(55)..... | 92 |
| Figure 34 Voie de signalisation de l'EGFR avec les gènes d'intérêt en gris (73) | 94 |
| Figure 40 Amélioration de la prédiction de la réponse au cetuximab par détermination du statut mutationnel des gènes KRAS, NRAS, BRAF et PIK3CA(61). | 95 |
| Figure 35 Courbe de survie globale selon le statut mutationnel BRAF dans l'analyse poolée des études CRYSTAL et OPUS évaluant l'association cetuximab + CT versus CT chez les patients KRAS wt(14) | 96 |
| Figure 36 Analyse en sous groupe de la survie globale chez les patients traités par irinotécan + panitumumab versus irinotécan seul (Etude PICCOLO) (62)..... | 97 |
| Figure 37 Forest plot du bénéfice de survie globale avec les anti-EGFR pour les sous groupes des mutations RAS and BRAF(65) | 98 |
| Figure 38 Forest plot de la méta-analyse Pietrantonio présentant le bénéfice de survie globale des anti-EGFR chez les patients KRAS wt /BRAF mt(64) | 98 |

TABLE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Recommandation du TNCD pour le traitement du cancer colorectal métastatique (3) | 23 |
| Tableau 2 : Caractéristiques des patients inclus (25)..... | 38 |
| Tableau 3 Distribution de l'ancienneté de la prescription du test KRAS par rapport au diagnostic des métastases (mois)(25)..... | 39 |
| Tableau 4 - Nombre de patients inclus par centre..... | 55 |
| Tableau 5 Caractéristiques des patients et de leurs tumeurs..... | 57 |
| Tableau 6 Type de génotypage demandé par le médecin | 58 |
| Tableau 7 Si prescription d'un test de génotypage, réalisation des tests KRAS, NRAS et BRAF | 58 |
| Tableau 9 Impact des caractéristiques démographiques et tumorales sur la prescription du test de génotypage..... | 60 |
| Tableau 10 Raisons de non prescription du test de génotypage | 61 |
| Tableau 12 Délai de génotypage en fonction de la technique analytique..... | 65 |
| Tableau 13 Délai de réception du compte-rendu depuis la prescription par le médecin | 66 |
| Tableau 14 Fréquence des mutations sur les gènes KRAS, NRAS et BRAF dans l'étude Flash RAS | 67 |
| Tableau 15 Impact des résultats du test sur la prise en charge | 68 |
| Tableau 16 Résultats d'efficacité de la chimiothérapie versus chimiothérapie associée au cetuximab selon le groupe d'âge des patients KRAS wt dans la méta-analyse des études CRYSTAL et OPUS(35) | 88 |
| Tableau 17 Médiane de survie globale retrouvées dans les études comparants les anti-EGFR +CT à la CT seule ou à un traitement anti-VEGF+CT chez les patients RAS wt | 90 |
| Tableau 18 Analyse des résultats de survie globale selon le statut RAS dans les études de phase III évaluant les traitements de 1 ^{ère} ligne du CCRm | 93 |
| Tableau 19 Résultats de survie globale selon le statut BRAF chez les patients traités par panitumumab + FOLFOX versus FOLFOX seul (étude PRIME) (7) | 96 |
| Tableau 20 Résultats de survie globale selon le statut BRAF chez les patients traités en 2 ^{ème} ligne par panitumumab + FOLFIRI vs FOLFIRI dans l'étude Peeters (20050181)(63)..... | 97 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-------------------|---|
| 5-FU | 5 Fluoro-Uracile |
| ADCC | Antibody Dependant Cell-mediated Cytotoxicity |
| AMM | Autorisation de Mise sur le Marché |
| ANSM | Agence National de Sécurité du Médicament et des Dispositifs Médicaux |
| CCRm | Cancer Colorectal métastatique |
| CCTIRS | Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé |
| CH | Centre Hospitalier |
| CHU | Centre Hospitalier Universitaire |
| CIAH | Chimiothérapie Intra-artérielle Hépatique |
| CLCC | Centre de Lutte Contre le Cancer |
| CNIL | Commission Nationale de l'Information et des Libertés |
| CNOM | Conseil National de l'Ordre des Médecins |
| CPP | Comité de Protection des Personnes |
| CRF | Case Report Form |
| CRO | Contract Research Organization |
| CT | Chimiothérapie |
| ECOG PS | Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status |
| EEQ | External Evaluation Quality |
| EGF | Epidermal Growth Factor |
| EGFR | Epidermal Growth Factor Receptor |
| ESMO | European Society Medical Oncology |
| FOLFIRI | Irinotécan + 5 FU |
| FOLFIRINOX | Oxaliplatine + irinotécan + 5 FU |
| FOLFOX | Oxaliplatine + 5 FU |
| FOLFOXIRI | Oxaliplatine + irinotécan + 5 FU |
| GDP | Guanosine Di-Phosphate |
| GTP | Guanosine Tri-Phosphate |
| HPST | Hôpital Patient Santé Territoires |
| HR | Hazard Ratio |
| HRM | High Resolution Melting |
| INCA | Institut National du Cancer |
| ITT | Intention To Treat |
| JFHOD | Journée Française d'Hépto-gastro-entérologie et d'Oncologie Digestive |
| LV 5FU | Acide folinique + 5-FU |
| MAPK | Mitogen Activated Protein Kinase |
| MIGAC | Mission d'Intérêt Général et d'Aide à la Contractualisation |
| MT | Muté |
| NCCN | National Comprehensive Cancer Network |
| NGS | Next Generation Sequencing |

| | |
|---------------|---|
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| PI3K | Phosphoinositide 3-kinase |
| PMSI | Programme Médicalisé des Système de l'Information |
| PNA | Peptide Nucleic Acid |
| PTEN | Phosphatase et Tensin Homolog |
| QALY | Quality-Adjusted Life Year |
| RCP | Réunion de Concertation Multidisciplinaire |
| SG | Survie Globale |
| SSP | Survie Sans Progression |
| TNCD | Thésaurus National de Cancérologie Digestive |
| VEGF | Vascular Endothelial Growth Factor |
| WT | Wild-type (ou sauvage) |
| XELIRI | Irinotécan + capécitabine |
| XELOX | Oxaliplatine + capécitabine |

LISTE DES ANNEXES

| | |
|---|----|
| ANNEXE 1: Circuit de prescription et de réalisation du test RAS | 84 |
| ANNEXE 2 : Exemple d'une fiche de prescription du test RAS et BRAF..... | 85 |
| ANNEXE 3 Fiche d'information du patient | 86 |
| ANNEXE 4: Donnée d'efficacité des anti-EGFR en 1 ^{ère} ligne de traitement du cancer colorectal métastatique chez les personnes âgées..... | 88 |
| ANNEXE 5: Résultats de survie globale dans les essais cliniques comparant l'association des anti-EGFR à la chimiothérapie versus chimiothérapie seule ou anti-VEGF plus chimiothérapie | 90 |
| ANNEXE 6: Évolution envisagée du séquençage extensif du génome tumoral d'ici la fin du Plan cancer | 92 |
| ANNEXE 7 : Données de survie globale des essais cliniques de phase III évaluant les traitements de 1 ^{ère} ligne du CCRm et suggérant un effet pronostic de la mutation RAS | 93 |
| ANNEXE 8: Voie de signalisation de l'EGFR | 94 |
| ANNEXE 9: Amélioration de la prédiction de la réponse au cetuximab par détermination du statut mutationnel des gènes KRAS, NRAS et PI3KCA | 95 |
| ANNEXE 10: Données d'efficacité des anti-EGFR selon le statut BRAF | 96 |

1. INTRODUCTION

Conforter l'avance de la France dans la médecine personnalisée est l'un des objectifs du 3^{ème} plan cancer 2014-2019. A l'horizon du plan, tous les patients doivent pouvoir bénéficier d'une prise en charge individualisée. L'accès aux tests moléculaires est aujourd'hui indispensable et la demande en constance augmentation. Dans le traitement du cancer colorectal métastatique, la prescription des anti-EGFR était guidée jusqu'en 2013 par le test de recherche de mutation sur le gène KRAS exon 2. De nouvelles données ont montré que d'autres mutations sur les gènes RAS (KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4) étaient prédictives de l'efficacité du cetuximab et du panitumumab. Les plateformes de biologie moléculaire de l'Institut National du Cancer ont dû s'adapter rapidement pour pouvoir réaliser ce nouveau test biomarqueur et rentrent les résultats dans des délais compatibles avec les contraintes médicales. En effet, le résultat du test a un rôle important dans la décision thérapeutique puisqu'il permet au médecin de prescrire ou non un traitement par anti-EGFR. Suite à l'étude « Flash KRAS » qui avait évalué les modalités de réalisation du test KRAS exon 2 en 2011, une 2^{ème} étude non-interventionnelle intitulée « Flash-RAS » a été mise en place pour effectuer un nouvel état des lieux de la prescription et de la réalisation du test RAS (KRAS et NRAS exon 2, 3 et 4) en France en 2014 chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique ayant débuté récemment un traitement de 1^{ère} ligne.

2. CONTEXTE

2.1. Le cancer colorectal

2.1.1.Epidémiologie

Avec 42 152 nouveaux cas estimés en France en 2012, l'incidence du cancer colorectal est élevée et constitue 11.9 % de l'ensemble des cancers. Le cancer colorectal est situé au 3^{ème} rang chez l'homme et au 2^{ème} rang chez la femme. Tous sexes confondus, il constitue la 2^{ème} cause de décès par cancer. Le pronostic est étroitement lié au stade du développement de la maladie au moment du diagnostic. Le taux de survie à 5 ans des patients diagnostiqués est de 90,8% pour le stade local et 69.5% pour le stade régional. 25% des patients sont diagnostiqués au stade métastatique et 11,3% sont encore en vie à 5 ans(1).

2.1.2.Histoire de la maladie

2.1.2.1. Extension tumorale

Le cancer peut se développer au niveau du colon ascendant, transverse, descendant ou sigmoïde mais aussi au niveau du rectum.

Les premières cellules cancéreuses se développent dans la couche muqueuse du colon. On parle de cancer *in situ*. Avec le temps, la tumeur peut s'étendre plus profondément à l'intérieur de la paroi du côlon, à travers les couches sous-muqueuses, musculaires et séreuses. Le cancer devient invasif. Les cellules cancéreuses peuvent ensuite se détacher de la tumeur et emprunter la circulation sanguine ou lymphatique pour aller envahir d'autres parties du corps et créer des métastases.

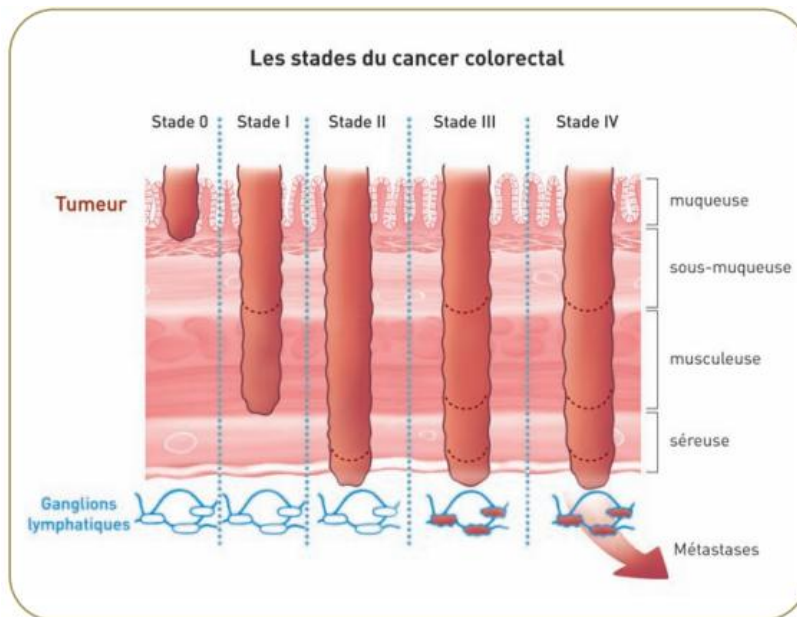


Figure 1 Les stades du cancer colorectal(2)

Dans plus de 80% des cas, le cancer se développe à partir d'une tumeur bénigne appelée polype adénomateux. Celle-ci se transforme lentement pour devenir maligne(2).

2.1.2.2. Le stade métastatique

La présence de métastase est observée dans 40 à 50% des cas(3). 40 à 50% des malades développent des métastases hépatiques. Les autres localisations sont plus rares : ganglions abdominaux, poumon, péritoine, ovaire, glandes surrénales.

On distingue deux types de métastases :

- Les métastases synchrones (25%) : diagnostiquées au même moment que la tumeur primitive
- Les métastases métachrones (75%) : diagnostiquées à distance de la tumeur primitive(3)

2.1.3. Les traitements dans le cancer colorectal métastatique (CCRm)

La prise en charge du CCRm est multidisciplinaire et médico-chirurgicale. Elle consiste en une chirurgie si elle est possible et en une chimiothérapie parfois associée à une thérapie ciblée(3).

2.1.3.1. La chirurgie

Malgré l'existence des traitements par chimiothérapie et thérapie ciblée, seule la chirurgie peut permettre au patient de guérir. La résécabilité tumorale est discutée en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP). La chirurgie est indiquée uniquement si une exérèse R0 (absence de résidu tumoral microscopique) ou R1 (résidu microscopique prouvé ou probable) est possible.

Les métastases sont classées en trois catégories par le groupe d'expert du Thésaurus National de Cancérologie Digestive (TNCD) (3) :

- résécables hépatiques ou résécables extra-hépatiques
- à la limite de la résécabilité
- jamais résécables

2.1.3.2. Les traitements systémiques

Le choix du traitement systémique dépend du potentiel de résécabilité tumorale(3). Les protocoles de chimiothérapie standards utilisés dans le traitement du CCRm sont à base de 5 fluoro-uracile (5-FU), oxaliplatine et/ou irinotécan. Ces chimiothérapies peuvent être utilisées en monothérapie, bithérapie ou trithérapie(3).

Les protocoles les plus couramment utilisés sont les suivants :

- Monothérapie : LV-5FU (acide folinique + 5FU), capecitabine (prodrogue du 5-FU)
- Bithérapie : XELOX (oxaliplatine + capecitabine), FOLFOX (oxaliplatine + 5 FU), XELIRI (irinotecan + capecitabine), FOLFIRI (irinotecan + 5FU)
- Trithérapie : FOLFIRINOX et FOLFOXIRI (oxaliplatine + irinotecan + 5FU)

Aux chimiothérapies est souvent associée une biothérapie. Trois classes de thérapies ciblées sont indiquées dans le traitement du CCRm(3) :

- Les anti-EGFR : cetuximab (ERBITUX®), panitumumab (VECTIBIX®)
- Les anti-VEGF (anti-angiogéniques) : bevacizumab (AVASTIN®), aflibercept (ZALTRAP®)
- Les inhibiteurs de tyrosine kinase : regorafenib (STIRVAGA®)

Les anti-EGFR ne sont indiqués que chez les patients ayant une tumeur de type RAS wild-type c'est-à-dire qu'aucune mutation ne doit être retrouvée sur les exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS.

2.1.3.3. Etat actuel des recommandations et des pratiques

En fonction du potentiel de résecabilité et du statut tumoral RAS, différentes stratégies thérapeutiques sont envisageables. Celles-ci sont résumées dans le schéma suivant (3):

| Traitements systémiques recommandés par le TNCD | Niveau de recommandation |
|---|-----------------------------------|
| Métastases résécables hépatiques ou extra-hépatiques | |
| - FOLFOX 4 en péri-opératoire | Grade B |
| Métastases à la limite de la résecabilité (Objectif : résecabilité secondaire) | |
| - Si tumeur RAS wt : <ul style="list-style-type: none"> o cetuximab + FOLFIRI / FOLFOX o panitumumab + FOLFOX 4 simplifié | Grade B / C Grade B Grade C |
| - En absence de comorbidité importante : FOLFOXIRI ou FOLFIRINOX +/- bevacizumab | Grade C |
| - FOLFIRI fort (si absence de statut UGT1A 7/7 et de toxicité > grade 2 à 180 mg/m ²) | Grade C |
| - FOLFOX-4 simplifié | Grade C |
| - FOLFIRI (ou XELIRI) + bevacizumab | Grade C |
| - FOLFOX-4 simplifié ou XELOX + bevacizumab | Avis d'expert |
| - CIAH par oxaliplatine associée à LV5FU2 par voie IV si métastases uniquement hépatiques et dans les centres expérimentés | Grade C |
| Métastases « jamais résécables » (Objectif : traitement palliatif) | |
| - LV 5FU 2 ou XELODA | Grade A |
| - ralitrexede | Grade C |
| - FOLFOX ou XELOX | Grade A |
| - FOLFIRI | Grade A |
| - LV5FU ou XELODA + bevacizumab | Grade B |
| - FOLFOX ou XELOX ou FOLFIRI + bevacizumab | Grade B |
| - Si tumeur RAS wt, <ul style="list-style-type: none"> o cetuximab + FOLFOX / FOLFIRI o panitumumab + FOLFOX | Grade C/B Grade B Grade B |
| - FOLFIRINOX +/- bevacizumab | Grade B |

Tableau 1 : Recommandation du TNCD pour le traitement du cancer colorectal métastatique (3)

2.1.4. Les anticorps monoclonaux anti-EGFR dans le traitement du cancer colorectal métastatique

2.1.4.1. Indications

Les anti-EGFR sont indiqués dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique RAS wt exprimant le récepteur du facteur de croissance épidermique (Epidermal Growth Factor Receptor ou EGFR)(4).

Cetuximab est indiqué :

- en association à une chimiothérapie à base d'irinotécan,
- en association au FOLFOX, en 1^{ère} ligne,
- en monothérapie après échec d'un traitement à base d'oxaliplatine et d'irinotécan et en cas d'intolérance à l'irinotécan

Panitumumab est indiqué(5) :

- en association au FOLFOX et FOLFIRI en 1^{ère} ligne
- en association au FOLFIRI en 2^{ème} ligne
- en monothérapie après échec des protocoles de chimiothérapie à base d'oxaliplatine, 5FU et irinotécan

L'initiation d'un traitement par anti-EGFR ne peut être effectuée que chez les patients dont la tumeur a un génotype de type RAS wt, c'est-à-dire qu'aucune mutation ne doit être retrouvée sur les exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS.

Quand les anti-EGFR ont été mis sur le marché en 2004, aucun biomarqueur ne guidait leur prescription, c'est-à-dire qu'ils pouvaient être prescrits à tous les patients atteints de cancer colorectal métastatique. En 2006, les travaux d'A.Lièvre ont révélé que le statut mutationnel KRAS exon 2 avait un impact sur leur efficacité(6). Deux ans plus tard, les AMM du cetuximab et du panitumumab sont modifiées et leurs indications sont restreintes aux patients KRAS exon 2 wt. En 2013, l'étude PRIME (panitumumab + FOLFOX vs FOLFOX) montre que d'autres mutations sur les gènes KRAS (exons 3 et 4) et NRAS (exons 2, 3 et 4) sont également prédictives de résistance au panitumumab(7). Les études CRYSTAL (cetuximab + FOLFIRI vs FOLFIRI) et OPUS (cetuximab + FOLFOX vs FOLFOX) confirment ces résultats pour le cetuximab(8)(9). Les AMM du panitumumab et du cetuximab sont à nouveau modifiées en septembre et en décembre 2013 pour limiter leur prescription seulement aux patients avec une tumeur de type RAS wt.

2.1.4.2. Mécanisme d'action des traitements anti-EGFR

La fixation de l'EGF sur son récepteur conduit à l'activation de messagers intracellulaires impliqués dans les voies de signalisation PI3K et MAPK. Celles-ci induisent dans la cellule tumorale différents signaux: prolifération, différenciation, angiogenèse, survie cellulaire, métastases, invasion. Les anti-EGFR ont une affinité pour le récepteur EGF 5 à 10 fois supérieure à celle des ligands endogènes. Ils se fixent sur le récepteur EGFR et bloquent sa fonction. Ceci induit une inhibition de la prolifération

cellulaire, une restauration de l'apoptose, une inhibition de la dédifférenciation, une inhibition de la production de facteurs angiogéniques, une réduction de la néovascularisation tumorale et des métastases(4).

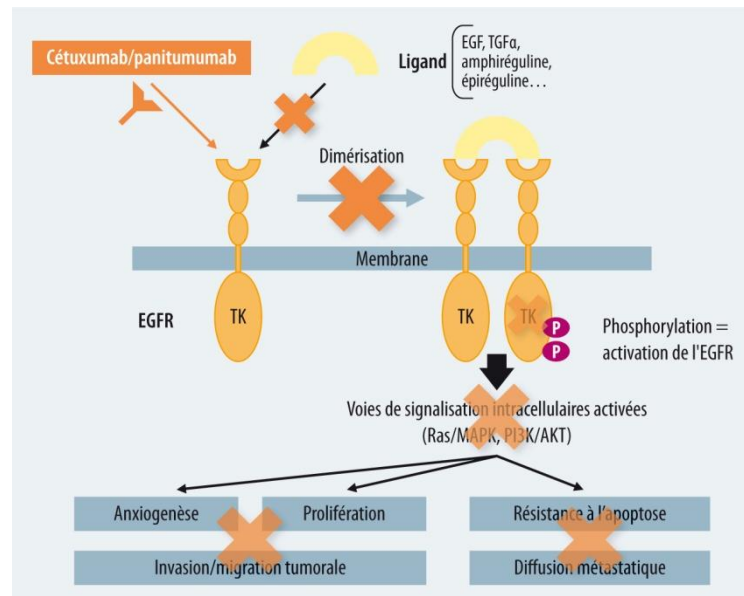


Figure 2 : Mécanisme d'action des anti-EGFR(10)

D'autres mécanismes plus indirects ont été mis en évidence. La fixation des anti-EGFR sur le récepteur provoque une internalisation du récepteur et une régulation négative de son expression. De part sa structure IgG1, cetuximab a une activité ADCC (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity), c'est-à-dire qu'il permet le recrutement de cellules effectrices cytotoxiques contre les cellules tumorales exprimant l'EGFR(4). Panitumumab est un anticorps monoclonal de type IgG2 et n'a pas d'activité ADCC.

2.1.4.3. Voie de signalisation de l'EGFR

La fixation de l'EGF à son récepteur conduit à la dimérisation de l'EGFR et son activation par phosphorylation au niveau de résidus tyrosine spécifiques intracellulaires. L'activation du domaine tyrosine kinase active à son tour les voies de signalisation RAS/MAPK et PI3K/AKT.

Dans chaque voie de signalisation, plusieurs protéines intracellulaires sont activées en cascade pour finalement produire dans la cellule des signaux de survie, prolifération, angiogenèse et migration(10).

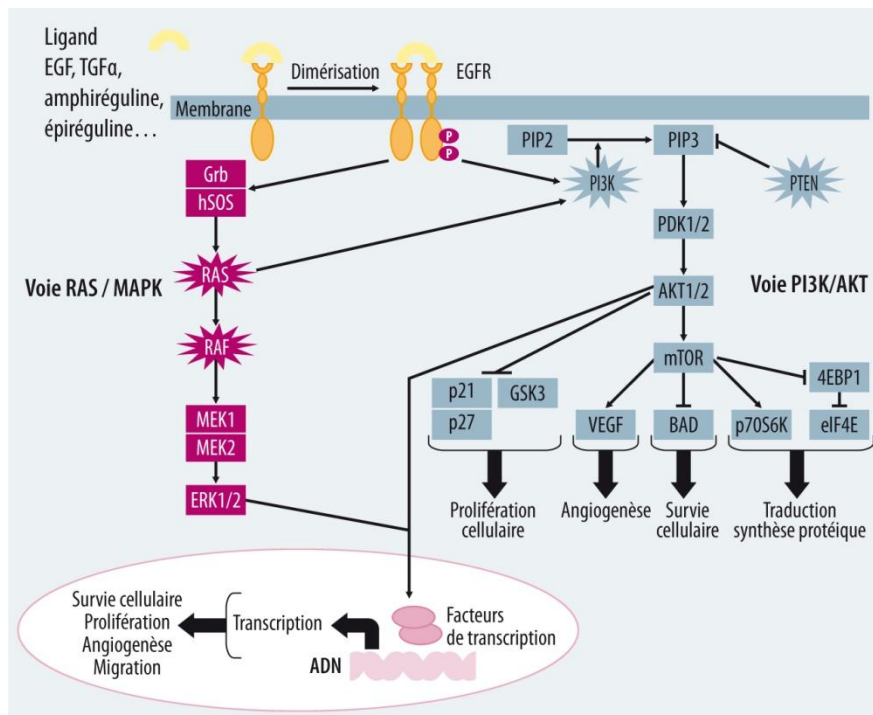


Figure 3 : Voies de signalisation de l'EGFR(10)

Dans les cancers colorectaux, certaines protéines intracellulaires impliquées dans ces voies de signalisation sont fréquemment mutées. C'est le cas des protéines RAS, RAF et PI3K.

2.1.4.3.1. Les protéines RAS

La famille des oncogènes RAS comprend trois gènes : HRAS, NRAS et KRAS. Ces gènes codent pour les protéines RAS appartenant à la famille des GTPases. Celles-ci sont actives quand elles sont liées au groupement GTP (Guanosine Tri-Phosphate) et inactives lorsqu'elles sont liées au groupement GDP (Guanosine Di-Phosphate).

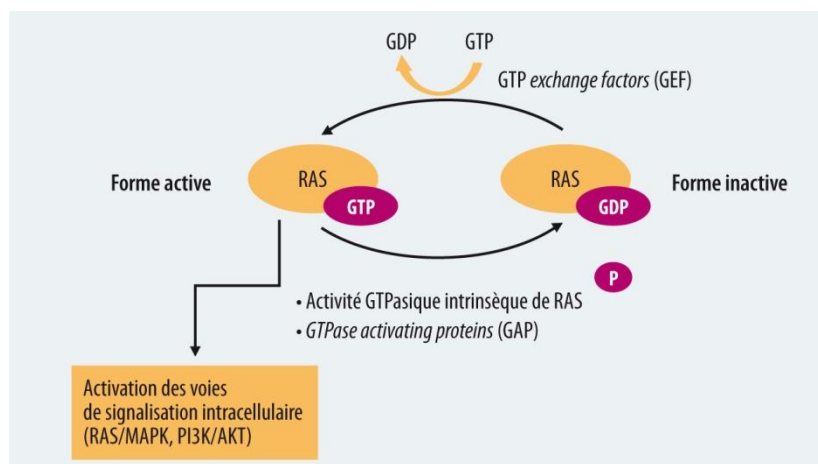


Figure 4 : Activation de la protéine RAS par phosphorylation(10)

Lorsqu'un gène RAS est muté, l'activité GTPase intrinsèque de la protéine est réduite et la protéine reste constamment dans son état activé (sous forme GTP). Elle active alors de manière constitutionnelle les voies de signalisation intracellulaire impliquées dans le processus de prolifération cellulaire et de survie(10).

Les mutations sur les gènes RAS ont une prévalence de l'ordre de 50%. La fréquence des mutations est différente selon les exons :

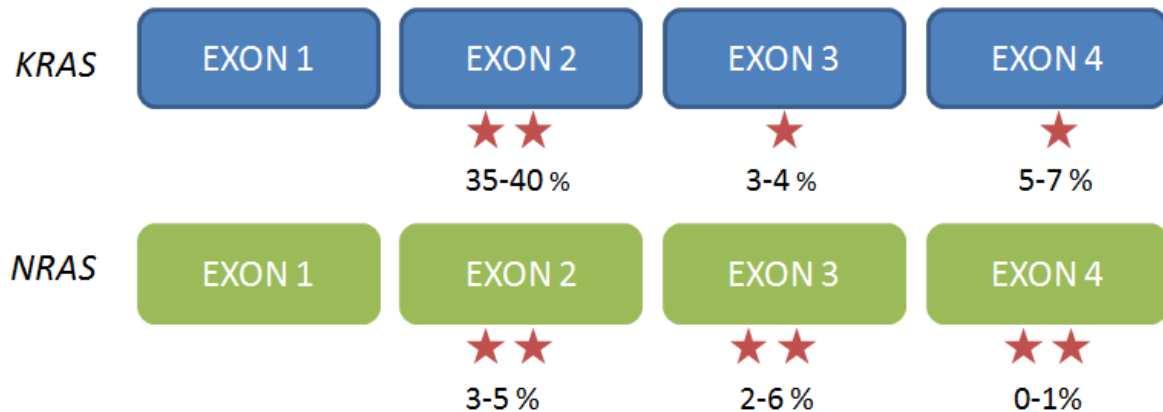


Figure 5 : Fréquence des mutations sur les gènes KRAS et NRAS (7)(11)(12)

Les tumeurs avec une mutation sont résistantes aux traitements anti-EGFR (7). En effet, comme la protéine RAS mutée est constamment active, le blocage en amont de l'EGFR ne bloque pas la signalisation intracellulaire de la voie MAPK.

2.1.4.3.2. La protéine BRAF

Les tumeurs présentant une mutation BRAF V600E sont de mauvais pronostics.

Sa prévalence est de l'ordre de 9% chez les patients atteints de CCRm (13)(14). Les mutations BRAF et RAS sont mutuellement exclusives(7).

La protéine RAF est située juste en aval de la protéine RAS au sein de la voie de signalisation intracellulaire RAS/MAPK. Lorsque la mutation est présente, la protéine est capable d'activer la voie de signalisation des MAPK en aval (15). Mais à ce jour, il n'a pas été démontré que cette mutation ait une valeur prédictive de l'efficacité des anti-EGFR (3).

2.1.4.4. Recommandation actuelle sur le génotypage RAS des patients atteints de cancer colorectal métastatique

Les recommandations françaises, européennes et américaines préconisent la recherche de mutations sur les gènes RAS chez tous les patients atteints de cancer colorectal métastatique :

- Thésaurus National de Cancérologie Digestive 2014 : « *La détermination du statut du gène RAS (KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4) tumoral (tumeur primitive ou métastases) est utile dans le choix de la stratégie thérapeutique (sur tumeur primitive ou métastases)* »(3)
- European Society for Medical Oncology 2014: “*The availability of an expanded RAS status is a prerequisite for any use of an anti-EGFR antibody*”(16)
- National Comprehensive Cancer Network 2015: « *The panel strongly recommends genotyping of tumor tissue (either primary tumor or metastasis) in all patients with metastatic colorectal cancer for RAS (KRAS exon 2 and non-exon 2 ; NRAS) and BRAF at diagnosis of stage IV disease* »(17)

2.2. Le circuit d’obtention du génotypage RAS

Le génotypage RAS doit être effectué le plus tôt possible dans la prise en charge pour pouvoir déterminer si le patient est éligible à une thérapie anti-EGFR.

La détermination du statut mutationnel RAS fait intervenir plusieurs professionnels de santé, parmi lesquels le chirurgien, le médecin prescripteur, le pathologiste et le biologiste de la plateforme de génétique moléculaire. Le bon déroulement du processus dépend d’une collaboration efficace entre ces acteurs qui vont intervenir à différentes étapes du circuit : pré-analytique, analytique, post-analytique (voir annexe 1).

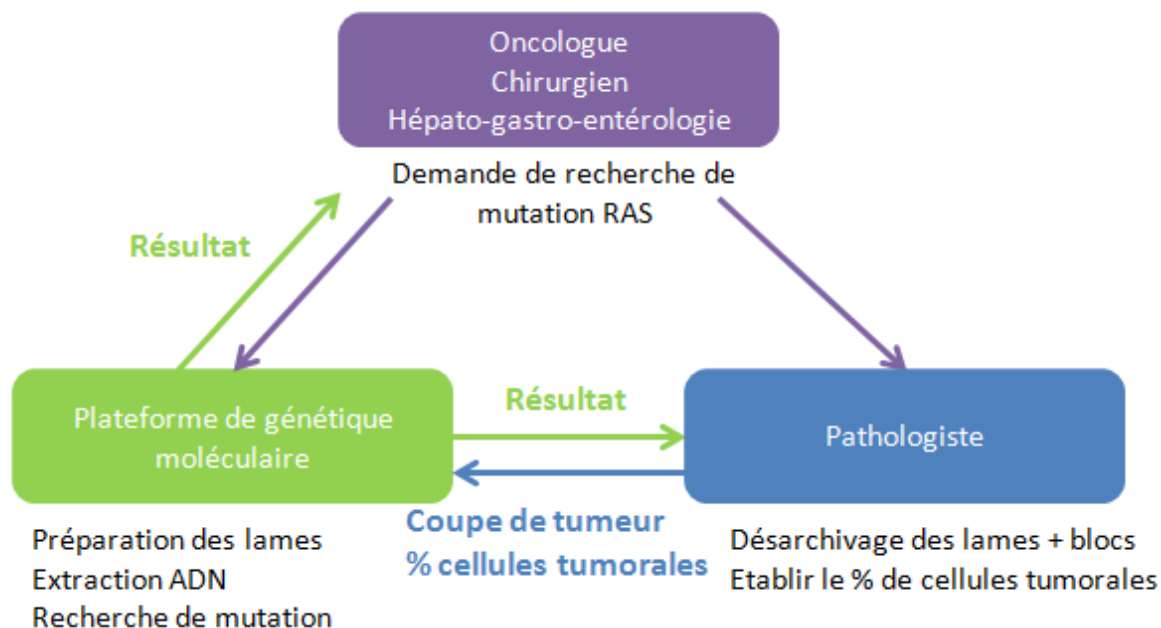


Figure 6 : Rôle des acteurs impliqués dans le circuit d'obtention du statut RAS

2.2.1. La demande d'examen

Le génotypage RAS est réalisé sur prescription médicale par un oncologue, un spécialiste d'organe, un chirurgien ou un pathologiste. Un exemple de fiche de prescription est présenté en annexe 2.

Un génotypage BRAF est très souvent prescrit en parallèle de la mutation RAS. A l'heure actuelle, il n'est pas recommandé de rechercher la mutation BRAF avant de prescrire un traitement anti-EGFR. En revanche ce résultat est important pour connaître le pronostic de la tumeur.

En règle générale, la demande est effectuée au moment du diagnostic des métastases. Elle peut être immédiate si le patient est diagnostiqué d'emblée au stade métastatique, ou plus tard dans la prise en charge du patient si la tumeur évolue vers le stade métastatique.

2.2.2. Phase pré-analytique

L'étape pré-analytique est celle qui conduit un échantillon depuis son prélèvement sur le patient jusqu'aux examens de biologie moléculaire.

La recherche de mutation RAS peut être effectuée à partir d'une biopsie ou d'une exérèse de la tumeur primitive ou d'une métastase. Il semble y avoir une bonne concordance entre le site primitif et les sites métastatiques sur le statut RAS(18).

Le chirurgien prélève un échantillon tumoral. Le prélèvement est ensuite fixé par une solution de formol tamponné (technique la plus fréquente). Cette étape doit être réalisée le plus rapidement possible pour éviter une dégradation des acides nucléiques de l'échantillon. Après la fixation, le prélèvement est transmis au pathologiste qui inclut l'échantillon en paraffine pour réaliser le diagnostic histopathologique. Le reliquat est ensuite archivé(19). L'échantillon peut également être conservé congelé.

Quand le pathologiste reçoit la demande de test RAS, il désarchive la tumeur. Il sélectionne un bloc en veillant à ce qu'il soit suffisamment riche en cellules tumorales. Cette richesse est vérifiée par un contrôle morphologique microscopique sur lame après coloration standard. Le contenu en cellules tumorales est très important car il influence la qualité du test RAS en fonction de la sensibilité de la technique utilisée.

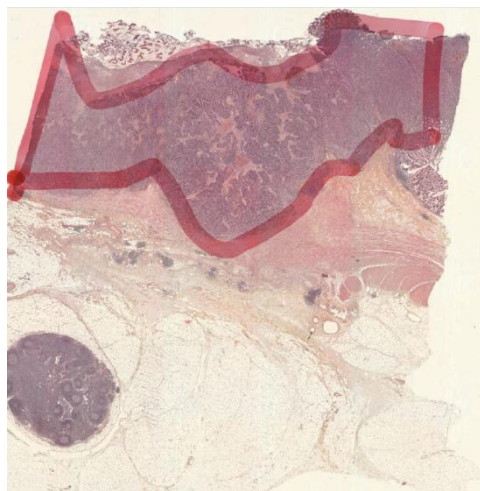


Figure 7 : Adénocarcinome colique objectivée sur pièce de colectomie. Sélection aisée à partir d'une lame colorée à l'hémalum-éosine d'une zone tumorale densément cellulaire (repérage rouge). Cette zone est isolée du tissu non tumoral périphérique(20)

Le bloc tumoral est envoyé à la plateforme de biologie moléculaire. Le biologiste en découpe une lame blanche très fine à l'aide d'un microtome (épaisseur comprise entre 4 μm et 20 μm). La dissection doit se faire sur la région du prélèvement la plus riche en cellules cancéreuses. Si le prélèvement contient moins de 50% de cellules tumorales, il est recommandé de réaliser une macrodissection. Le biologiste peut également préparer des copeaux de 10 μm qu'il dépose dans des tubes DNAase-free. Il détermine ensuite la richesse en cellules tumorales.

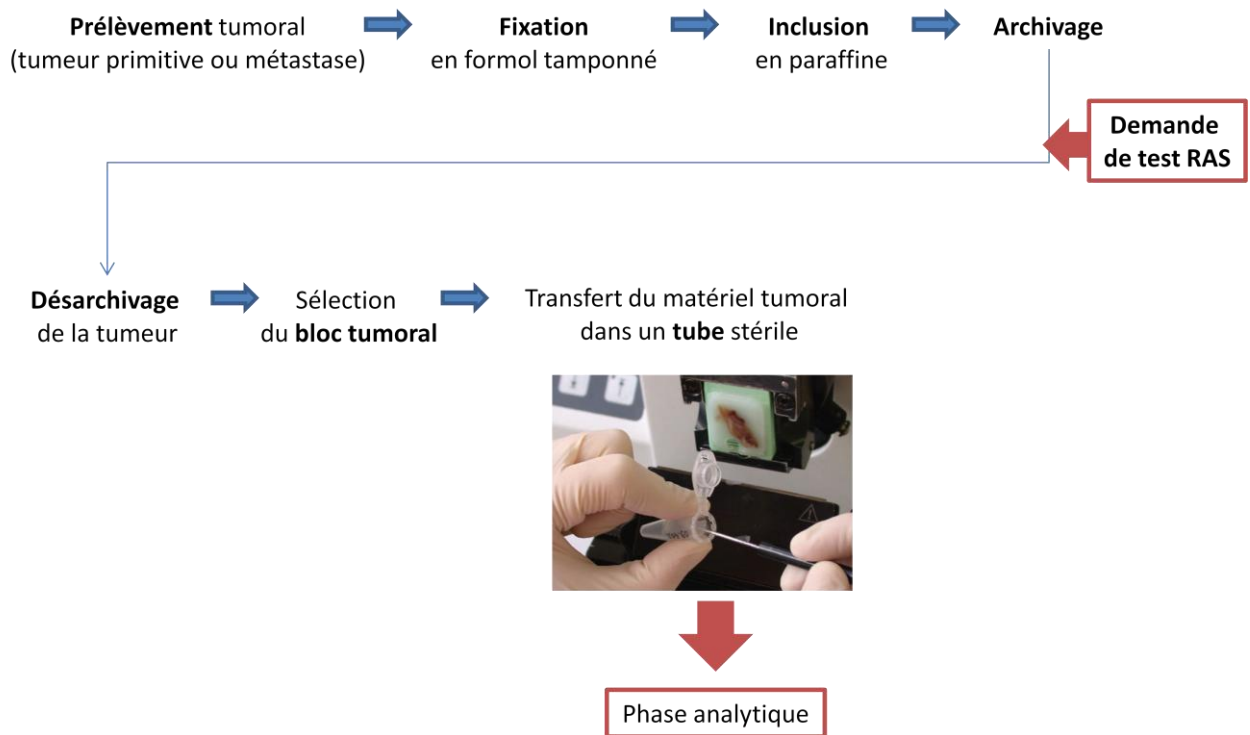


Figure 8 Phase pré-analytique du circuit d'obtention du test RAS

2.2.3. La phase analytique

2.2.3.1. Mutations recherchées

Les mutations sont recherchées sur les exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS. Si la recherche de mutation BRAF est réalisée, elle est effectuée sur le codon 600 (exon 15).

2.2.3.2. Techniques d'analyse

Le génotypage est effectué après extraction et amplification de l'ADN tumoral par PCR. Dans le but de valider la méthode analytique, la sensibilité, la répétabilité et la reproductibilité de la technique doivent être vérifiées.

Il existe un large panel de techniques disponibles pour rechercher la mutation. Les principales sont listées ci-dessous :

- Séquençage : méthode SANGER, pyroséquençage, technique d'extension d'amorce ou « SnapShot », Next Generation Sequencing (NGS) ou séquençage à haut débit
- Technique avec sondes spécifiques d'allèles : sondes Taqman
- Peptide Nucleic Acid (PNA)

- Technique HRM (High Resolution Melting)
- Technique PCR-RFLP

2.2.4.Compte-rendu d'analyse moléculaire

Les résultats du génotypage sont ensuite envoyés au médecin prescripteur et au pathologiste par fax, mail ou courrier. Selon les recommandations de l'INCA, les éléments qui doivent figurer dans le compte-rendu d'analyse moléculaire sont les suivants(18) :

- nom, prénom et date de naissance du patient
- nom, prénom et coordonnées du pathologiste responsable du diagnostic initial
- numéro d'identification du bloc dans le laboratoire d'origine
- organe et état tumoral (primitif, métastase...)
- type de prélèvement (chirurgie, biopsie, cytologie...)
- type histologique
- nom, prénom et coordonnées du prescripteur
- type d'analyse demandée ; date de la prescription
- pourcentage de cellules tumorales dans l'échantillon analysé
- code ou identifiant unique de l'échantillon par le laboratoire
- date d'arrivée du prélèvement dans la plateforme
- date du compte-rendu
- identifiant unique sur chaque page
- nombre total de pages (si le compte-rendu comporte plusieurs pages)
- liste des mutations cherchées
- méthode(s) utilisée(s) avec indication de la (des) sensibilité(s) analytique(s)
- mutation identifiée et notée selon la nomenclature

2.2.5.Les plateformes de l'INCA

La cancérologie a vécu une évolution majeure avec l'apparition des biomarqueurs permettant l'individualisation des traitements. Pour faire face à cette innovation sans précédent, l'INCA a créé, en 2006, 28 plateformes de biologie moléculaire réparties sur tout le territoire français. L'anatomopathologie et la biologie moléculaire sont réunies au niveau de ces structures spécialisées pour garantir l'accès aux analyses de biologie moléculaire quelque soit l'établissement dans lequel le patient est pris en charge (CHU, CLCC, CH, établissement privé). Une plateforme peut être constituée

d'un ou plusieurs centres de telle manière que l'on compte 67 centres de biologie moléculaire sur toute la France.

La centralisation de ces analyses au niveau des plateformes permet de respecter des conditions de qualité optimales et des délais de rendu des résultats compatibles avec la prise en charge des patients.



Figure 9 : Répartition des 28 plateformes de biologie moléculaire de l'INCA sur le territoire français(21)

Aujourd'hui, toutes les demandes de génotypage RAS et BRAF de France sont traitées au niveau de ces plateformes.

Les analyses de biomarqueurs déterminant l'accès à une thérapie ciblée ne sont pas inscrites à la nomenclature des actes de biologie et à la classification commune des actes médicaux. Les plateformes sont soutenues et financées via des dotations MIGAC (Mission d'intérêt Générale et d'Aide à la Contractualisation) couvrant les coûts des structures et des actes(22). Cette mesure permet de faciliter l'accès aux tests onéreux et innovants. A terme, ces examens de biologie moléculaire seront inscrits dans la nomenclature(21).

2.3. Activité au niveau nationale

En 2013, la recherche de mutation sur l'exon 2 du gène KRAS a été réalisée auprès de 19 347 patients. L'incidence des cancers colorectaux en France est de 42 000 nouveaux cas par an sachant que 40 à 60% des patients atteignent le stade métastatique. On peut en déduire que la plupart des patients métastatique ont bénéficié d'une recherche de mutation KRAS en 2013. Cette année là, 3 300 patients ont été testés sur les nouveaux exons des gènes KRAS et NRAS. 84% des patients ayant été testés sur le gène KRAS l'ont également été sur le gène BRAF(23).

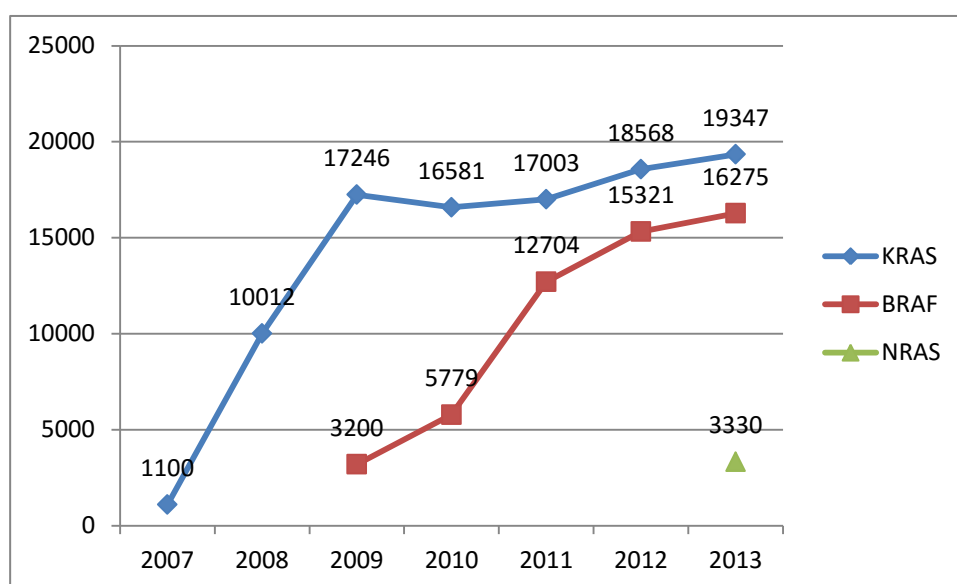


Figure 10 Evolution de la réalisation des tests KRAS, BRAF et NRAS au niveau des plateformes de biologie moléculaire en France entre 2007 et 2013(23)

2.4. Importance du statut RAS dans la stratégie thérapeutique

La détermination du génotype RAS est une étape clé dans la prise en charge du patient puisque le résultat a un rôle important dans la décision thérapeutique. En effet, si le patient est porteur d'une tumeur RAS wt, le médecin aura le choix de traiter par une biothérapie anti-EGFR ou anti VEGF en association à la chimiothérapie. En revanche, si le patient est porteur d'une tumeur RAS muté, les anti-EGFR seront contre-indiqués. Ainsi, la connaissance du statut RAS permet d'identifier toutes les possibilités thérapeutiques disponibles et de décider de manière éclairée de la meilleure option disponible pour le patient.

En mai 2014, Merck Serono a réalisé une enquête téléphonique auprès de 100 oncologues et 100 gastro-entérologues pour évaluer l'impact des tests RAS dans les choix thérapeutiques (enquête de

marché non publiée). La grande majorité des médecins (84%) ont déclaré qu'ils demandaient systématiquement un génotypage avant la mise en place du traitement de 1^{ère} ligne. Ceux-ci ont annoncé dans 9 cas sur 10 que la demande de test RAS était essentielle pour le choix du traitement. Pour les médecins qui ne réalisaient pas la demande de manière systématique, 2/3 ont déclaré qu'ils prescrivaient le test en fonction du profil de leur patient. 20% ont évoqué les patients âgés pour lesquels la prescription de XELODA pourrait être, d'après eux, plus adaptée. 37% des interrogés attendaient systématiquement le résultat du test pour déterminer le traitement de 1^{ère} ligne et 50% attendaient le résultat dans certains cas.

Le délai d'obtention du résultat est donc un paramètre important à prendre en considération. Une fois le diagnostic établi, la prise en charge thérapeutique du CCRm doit se faire rapidement. Le délai pour obtenir ce résultat peut être de plusieurs semaines et en l'absence du statut mutationnel le médecin ne peut pas initier de traitement par anti-EGFR ce qui limite le choix thérapeutique. Des médecins italiens interrogés lors d'une enquête, ont considéré que le délai maximal acceptable pour obtenir le statut KRAS ne devait pas excéder 10 jours. De plus un délai supérieur à 15 jours a été estimé par ces spécialistes comme limitant le choix thérapeutique(24).

En France, l'INCA recommande un délai pour rendre ce résultat de 2 à 3 semaines à compter de la date de prescription. Le compte-rendu doit être transmis au maximum 7 à 10 jours ouvrables après réception du prélèvement par la plateforme(18).

Le délai pour obtenir le résultat du statut RAS dépend de la bonne coordination entre tous les acteurs impliqués dans chaque étape du circuit. Ce délai résulte de plusieurs étapes(18):

- La décision initiale de réaliser une recherche de mutation RAS
- La sélection et la transmission du bloc tissulaire ou de l'échantillon congelé à la plateforme
- L'extraction de l'ADN et le contrôle qualité de cette extraction
- La réalisation du test RAS
- La validation du compte-rendu de biologie moléculaire

Le rapport d'activité des plateformes de biologie moléculaire de 2012 montre que le délai médian de rendu des résultats par le laboratoire pour le test KRAS était de 9 jours à compter du jour où le prélèvement arrive à la plateforme. Ce délai était très variable entre les laboratoires puisqu'il variait de 4 à 21 jours(21).

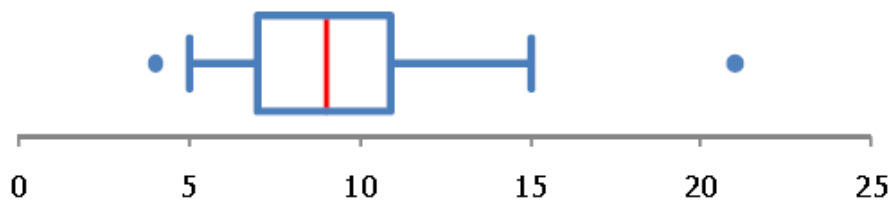


Figure 11 Répartition des délais de rendu des résultats entre laboratoires (jours)(21)

Peu d'études ont déterminé le délai total d'obtention du statut KRAS en France. Les résultats retrouvés dans la littérature, sont résumés dans le tableau suivant :

| Auteur | Période de l'étude | Méthode | Nb de patient | Délai d'obtention du statut KRAS | Référence |
|----------------|--|--|---------------|--|-----------|
| A. Lièvre | 28 mars au 08 avril 2011 | Etude rétrospective nationale. Inclusion de tous les patients ayant initié un traitement de 1 ^{ère} ligne au cours du 1 ^{er} semestre 2011 | 538 | moyenne : 23,6 +/- 28,2 jours médiane : 19 jours | (25) |
| N. Lapeyrere | 1er janvier et 30 mars 2009 | Etude rétrospective régionale. Toutes les analyses de mutation KRAS demandées par le laboratoire d'anapathologie et réalisées par la plateforme de Bordeaux | 302 | médiane : 15 jours Q25% : 12 jours Q75% : 21 jours | (26) |
| F. Bibeau | octobre 2008 à octobre 2009 | Etude rétrospective nationale. Inclusion des patients en cours de traitement par panitumumab débuté depuis au moins une semaine et au plus 1 mois | 329 | moyenne : 33,4 +/- 39,8 jours médiane : 24 jours | (27) |
| Penault Llorca | NR présenté lors des "rencontres de la cancérologie française" en 2009 | Enquête nationale auprès de 100 pathologistes | NR | moyenne : 20 jours | (28) |

| | | | | | |
|-----------------|--------------|---|-----|---|------|
| F. Ciardello | 2009 et 2010 | Enquête internationale auprès de 14 pays. Interview de 100 médecins français. | 295 | En 2009, les médecins interrogés déclarent avoir un résultat en moins de 15 jours pour 45% des tests En 2010, résultat en moins de 15 jours pour 63% des tests | (29) |
|-----------------|--------------|---|-----|---|------|

Ces résultats sont en moyenne proches des délais recommandés par l'INCA. Seule l'étude de F. Bibeau a mis en évidence des délais supérieurs à 1 mois, mais l'étude portait sur des patients traités en 3^{ème} ligne ou plus.

Une nouvelle étude est nécessaire pour évaluer les modalités de réalisation du test KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4 en France.

2.5. Condition d'accès au test KRAS en France en 2011 : Etude Flash-KRAS

Merck Serono a mis en place en 2011 l'étude Flash KRAS pour évaluer les modalités de réalisation du test KRAS chez les patients en 1^{ère} ligne du CCRm(25). Cette enquête avait pour objectif principal d'évaluer le taux de prescription du test KRAS en France en 2011 chez les patients débutant une 1^{ère} ligne de traitement du CCRm et pour objectifs secondaires de décrire les raisons éventuelles de non prescription de ce test, d'analyser le délai d'obtention du résultat du test KRAS et du circuit et l'impact de la disponibilité du test KRAS sur le choix thérapeutique, de décrire la technique utilisée pour l'analyse.

2.5.1.Design de l'étude

L'objectif de l'étude était de faire une photographie des pratiques à un instant « t ». Il a donc été choisi de réaliser une étude observationnelle pharmaco-épidémiologique transversale, rétrospective et de courte durée (2 semaines).

L'enquête a été réalisée au niveau national auprès de 292 médecins répartis sur toute la France et exerçant dans différents types d'établissements (CHG, CHU, CAC, clinique, autre).

Pour ne pas biaiser les résultats, les médecins devaient sélectionner l'exhaustivité des patients vus en consultation pendant la période de réalisation de l'étude et répondant aux critères d'inclusion suivants :

- Patients âgés de 18 ans ou plus
- Patients atteints d'un cancer colorectal métastatique histologiquement prouvé
- Patients pour lesquels un traitement de première ligne métastatique a été initié entre le 01/01/2011 et le 27/03/2011.
- Patients vus en consultation pendant la période officielle des 2 semaines de sélection de l'étude

Les patients présentant au moins un des critères suivants ne devaient pas être sélectionnés :

- Opposition écrite de participation à l'étude
- Patient recevant un traitement de deuxième ligne métastatique
- Participation active à une étude interventionnelle.

2.5.2.Caractéristiques des patients

548 patients ont été recrutés par 159 médecins. 1000 patients devaient être inclus dans l'étude pour montrer un taux de prescription du test KRAS autour de 50%. Bien que le nombre d'inclusion final n'ait pas été suffisant, la précision des résultats reste bonne (3%).

| Total | n=538 |
|--|---------------------|
| Sexe H/F (%) | 59,4/40,6% |
| Age médian (ans) | 67 (25 - 92) |
| Métastases synchrones (%) | 69,90% |
| Tumeur primitive/ côlon/rectum/les 2 (%) | 76,3 / 23,4 / 0,4 % |
| Délai diagnostic - traitement de 1ère ligne (mois) | 1,1 (0-33,8) |
| Chimiothérapie de 1ère ligne (%) | |
| FOLFOX/XELOX | 40,5% |
| FOLFIRI/XELIRI | 40,9% |
| FOLFIRINOX | 3,3% |
| 5FU/XELODA | 9,6% |
| Autres | 5,8% |
| Non renseignés | 0,9% |
| 1ère ligne associée à une thérapie ciblée (n, %) | 289 (54,2) |

Tableau 2 : Caractéristiques des patients inclus (25)

2.5.3.Résultats

Cette étude a montré que le génotypage KRAS était réalisé en routine puisque le test était prescrit dans 81,1% des cas (objectif principal de l'étude). Le test a été demandé pour 45.5% par un oncologue et pour 31.0% par un gastro-entérologue.

Quand le test n'était pas prescrit, la raison était dans 57,4% des cas une absence d'intention de prescrire un anti EGFR. Les patients âgés de 80 ans et plus ont eu significativement moins de génotypage KRAS que les patients jeunes ($p=0.017$).

La prescription a été effectuée pour 40% des patients au moment du diagnostic des métastases et pour 14,5% avant ce diagnostic.

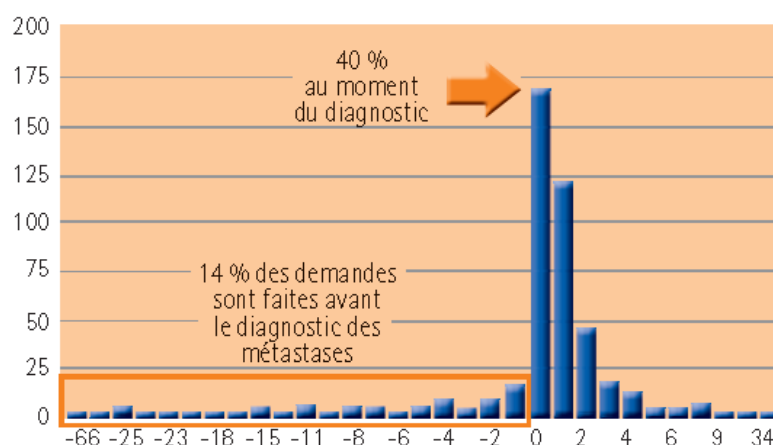


Tableau 3 Distribution de l'ancienneté de la prescription du test KRAS par rapport au diagnostic des métastases (mois)(25)

La demande du test était faite en médiane 15 jours (moyenne 1,5 +/- 5 mois) avant l'introduction de la 1^{ère} ligne.

Chez les patients pour lesquels le test a été prescrit, les résultats étaient disponibles dans 91,1 % des cas. La technique de recherche de mutation était du séquençage dans 52.1% des cas (séquençage, pyroséquençage, SnapShot), de la discrimination allélique dans 29.0% des cas, de l'HRM dans 9.2% des cas.

Le délai d'obtention du résultat était en moyenne de 23,6 jours +/- 28,2 jours (médiane 19 jours).

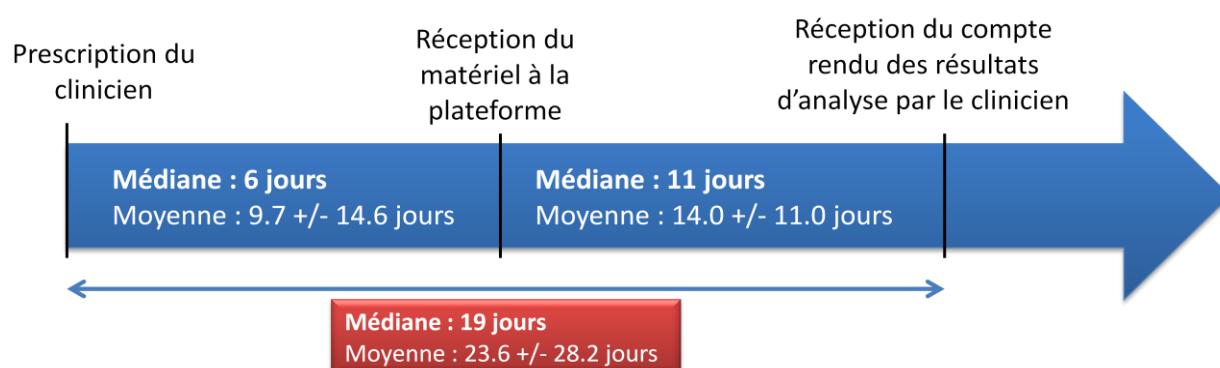


Figure 12 : Durée du circuit du test KRAS en 2011(25)

Ces délais étaient variables en fonction des régions. Si la plateforme était localisée dans un centre différent de celui de prise en charge du patient, ces délais étaient significativement allongés.

Les résultats étaient disponibles dans 43,4% des cas au moment du choix de la 1^{ère} ligne. D'après les médecins, les résultats du test ont eu un impact sur la stratégie thérapeutique pour 42,8%. La prescription d'anti-EGFR était alors réalisée chez 89,9% des patients(25).

2.6. Mise en place des nouveaux tests de recherche de mutation sur les gènes RAS

L'INCA a réalisé un suivi du déploiement de la recherche de mutation sur les nouveaux exons des gènes KRAS et NRAS. Une collecte exhaustive d'information sur tous les tests RAS a été effectuée auprès des plateformes. Lors du changement de l'AMM du panitumumab en septembre 2013, 7 plateformes étaient déjà prêtes à réaliser le test KRAS exon 3. 43 laboratoires sur 49 étaient en mesure de réaliser les tests sur les gènes RAS en mars 2014(23).

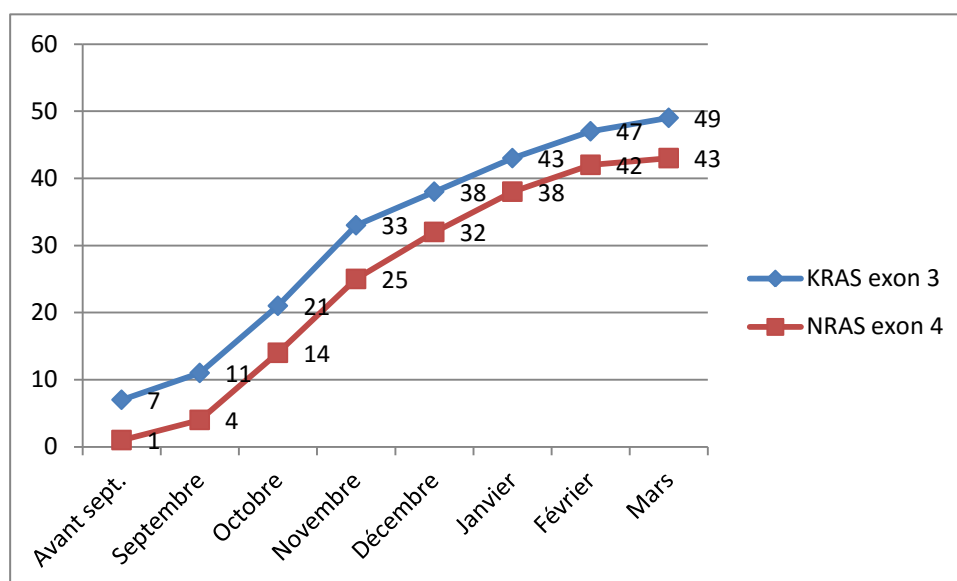


Figure 13 Enquête INCA sur le déploiement de la recherche de mutation aux exons 3 et 4 du gène KRAS et 2,3 et 4 du gène NRAS au niveau des plateformes de biologie moléculaire(23)

2.7. Justification de l'étude « Flash RAS »

En France, la réalisation des tests moléculaires au niveau des plateformes de l'INCA permettent aux patients, quelque soit l'établissement dans lequel ils sont pris en charge, leur origine géographique ou leur niveau social, d'accéder à cette technologie. Une bonne coordination entre les professionnels de santé est cependant nécessaire pour que la disponibilité des résultats soit compatible avec les contraintes de prise en charge des patients. Les données sur les conditions de réalisation du test accompagnant la prescription des anti-EGFR dans le traitement du CCRm sont limitées. Par ailleurs, elles doivent être actualisées puisque désormais cette classe thérapeutique est réservée aux patients RAS wt.

En 2011, l'étude Flash KRAS a fourni des résultats intéressants sur les modalités de recherche de statut KRAS chez les patients en 1^{ère} ligne du CCRm. Cette enquête a permis de montrer que le test était entré dans les pratiques et que le résultat avait un impact sur la stratégie thérapeutique.

Une 2^{ème} étude intitulée « Flash RAS » a été mise en place en juin 2014. Cette enquête est construite sur le même format que l'étude « Flash KRAS ». De nouveau, l'étude a évalué de manière rétrospective les modalités de recherche de mutation chez les patients traités en 1^{er} ligne pour un CCRm. Elle permet de répondre aux questions suivantes : Quel est le taux de prescription du test RAS et son évolution depuis 2011 ? Quel est l'impact des résultats sur la stratégie thérapeutique ? Quels sont les délais d'obtention des résultats et ont-ils évolué depuis 2011 ? Quels sont les

techniques d'analyses actuellement utilisées ? Par ailleurs, cette étude permet de fournir aux Autorités de Santé et à l'INCA des données « en vie réelle ».

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. Méthodologie

Flash RAS est une étude pharmaco-épidémiologique, nationale, rétrospective, non interventionnelle et multicentrique.

La pharmaco-épidémiologie se définit comme la discipline mettant en application les méthodes et/ou le raisonnement épidémiologique pour évaluer l'efficacité, le risque et l'usage du médicament sur les grandes populations(30). Dans l'étude Flash RAS, elle a été un outil pour évaluer les conditions de prescription du test RAS chez les patients atteints d'un CCRm.

L'objectif était de réaliser une photographie des pratiques de prescription du test RAS à un instant « t » et de collecter des « données en vie réelle ». L'enquête a donc été réalisée de manière transversale. La collecte des données a été effectuée sur une courte période et les patients n'ont été vus qu'une seule fois.

De manière à ne pas modifier les pratiques habituelles du médecin vis-à-vis de son patient, l'étude a été réalisée de manière rétrospective et était donc indépendante des traitements prescrits. On parle d'étude observationnelle ou non interventionnelle.

Les études non-interventionnelles transversales descriptives comme Flash RAS permettent d'étudier les variations temporelles et/ou géographiques. Les données déjà collectées dans Flash KRAS permettront d'observer l'évolution des pratiques entre 2011 et 2014. Ainsi, pour permettre les comparaisons, la méthodologie de Flash RAS a été calquée sur celle de Flash KRAS.

3.2. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de l'étude était d'évaluer le taux de prescription des tests de recherche de mutation sur les gènes RAS (KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4) chez les patients avec un diagnostic récent de cancer colorectal métastatique.

Les objectifs secondaires étaient:

- Décrire l'évolution des taux de prescription du test de recherche de mutation KRAS exons 2 entre 2011 et 2014
- Décrire les raisons de prescription /non prescription et de réalisation/non réalisation de ces tests en fonction des caractéristiques des médecins et des patients
- Analyser l'impact de la disponibilité des tests RAS (*KRAS* et *NRAS* exons 2, 3 et 4) et BRAF et de leurs résultats sur le choix thérapeutique du médecin
- Décrire et analyser les caractéristiques cliniques des patients et les traitements prévus et reçus en première ligne métastatique
- Décrire la technique utilisée pour l'analyse, le type de mutation recherché (si disponible) et les modalités de report des résultats aux cliniciens
- Décrire et analyser le délai et le circuit d'obtention du résultat des tests RAS (*KRAS* et *NRAS*).

3.3. Critères d'inclusion et d'exclusion

Tous les patients vus en consultation pendant la période d'inclusion et répondant aux critères d'inclusion / exclusion suivant devaient être sélectionnés.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Patients âgés de 18 ans ou plus
- Patients ayant un cancer colorectal métastatique histologiquement prouvé après mars 2014
- Patients vus en consultation entre le 1^{er} mars et le 30 juin 2014 pour l'initiation d'un traitement de première ligne métastatique du CCRm
- Patients revus en juin dans le cadre d'une consultation de suivi

Les critères d'exclusions étaient :

- Opposition orale de participation à l'étude
- Patient recevant un traitement de deuxième ligne métastatique ou ultérieur
- Participation concomitante à une étude interventionnelle.

De manière plus générale, l'étude concernait tous les patients avec un diagnostic récent de cancer colorectal métastatique et pour lesquels une 1^{ère} ligne de traitement avait déjà été initiée.

Après la modification de l'AMM des anti-EGFR, les plateformes de biologie moléculaire ont dû s'adapter et modifier leur technique pour étendre la recherche de mutation aux exons 3 et 4 du gène KRAS et aux exons 2, 3 et 4 du gène NRAS. Afin de ne pas créer de biais pendant cette période de transition, il a été choisi de ne sélectionner que les patients pour lequel les métastases ont été diagnostiquées après mars 2014. D'après une enquête terrain réalisée par l'équipe médicale Merck Serono (non publiée), toutes les plateformes de biologie moléculaire étaient prêtes techniquement à réaliser la recherche de mutation RAS en mars 2014 sauf un centre (demande envoyée sur une autre plateforme). Cette méthodologie permettait d'assurer que seules les informations sur la nouvelle prise en charge des patients ont été collectées.

3.4. Périodes de l'étude

Les inclusions ont eu lieu du 15 juin au 30 septembre 2014. La période d'inclusion était courte (15 semaines) pour permettre une photographie des pratiques des prescriptions du test RAS à un instant « t ».

Les patients éligibles devaient avoir reçu un diagnostic de cancer colorectal métastatique et initié leur 1^{ère} ligne de traitement entre le 1^{er} mars et le 30 juin. Ainsi, le recueil des données était réalisé de manière rétrospective à partir du dossier du patient.

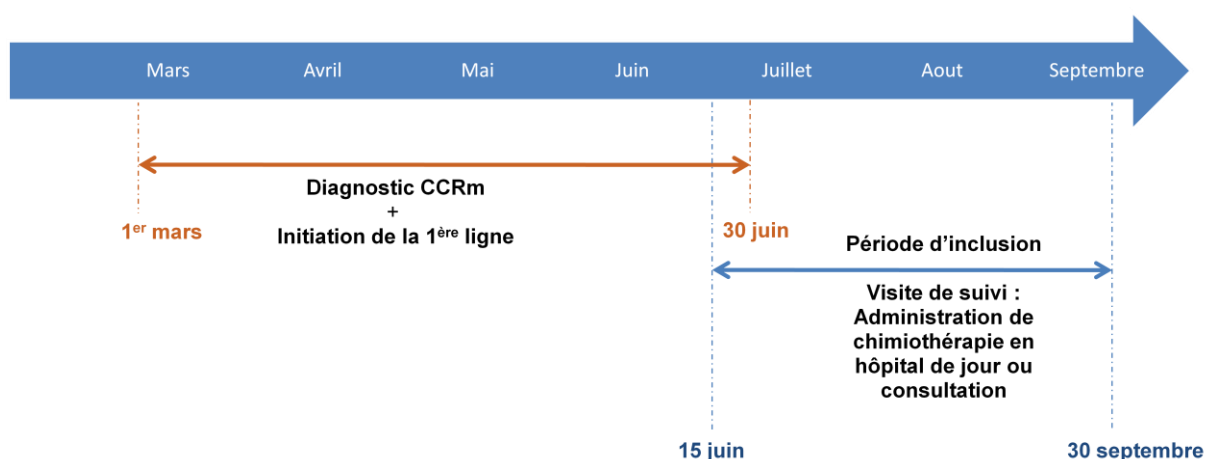


Figure 14 Périodes de l'étude

3.5. Critères de jugement

Le critère de jugement principal était l'effectif de prescription et de réalisation des tests recherchant une mutation des gènes RAS (KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4) chez les patients ayant un diagnostic récent de cancer colorectal métastatique.

Les critères de jugement secondaires étaient :

- les raisons de prescription et non prescription des tests
- les caractéristiques des patients
- les traitements prévus et les traitements reçus
- le moment de prescription et réalisation des tests recherchant une mutation des gènes RAS (KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4) et le délai de réalisation
- les résultats des tests et leurs impacts sur la décision thérapeutique
- les techniques utilisées pour l'analyse

3.6. Méthodologie statistique

3.6.1. Nombre de sujets nécessaires

La variable mesurée (taux de prescription du test de recherche de mutations sur les gènes RAS) est quantitative. La formule permettant de calculer la taille de l'échantillon nécessaire est la suivante :

$$n \geq \frac{z^2_{\alpha/2} \times p (1 - p)}{\varepsilon^2}$$

n : taille de l'échantillon

$z^2_{\alpha/2}$: lu dans la table de la loi centrée réduite, pour une valeur α égale à 5%

p = proportion estimée de la prescription du test RAS dans la population étudiée

ε : écart toléré à la moyenne

En 2011, le test KRAS était prescrit chez 81,1 % des patients (IC 95% : 77,8% - 84,4%). Il a été estimé que le test NRAS était réalisé chez 50% des patients ayant eu un test KRAS. Pour pouvoir comparer l'évolution du taux de prescription du test entre 2011 et 2014, l'écart toléré à la moyenne (ou précision) choisi a été le même que celui de l'étude Flash KRAS c'est-à-dire 3%.

D'après cette formule, il était donc nécessaire de disposer de 1068 patients évaluables pour mettre en évidence un taux de prescription du test NRAS de 50% avec une précision de 3%. En considérant

que 5% des données ne seraient pas analysables, 1124 patients devaient être inclus pour obtenir les 1068 patients évaluable.

3.6.2. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SAS version 9.2 (dernière version en vigueur au moment de l'analyse).

Les variables quantitatives ont été décrites par la moyenne, l'écart type, le minimum, le maximum, la médiane et l'intervalle de confiance à 95%. Les variables continues ont été comparées par un test de Student ou un test non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon (quand la loi n'était pas normale).

Les variables qualitatives ont été décrites par la fréquence, le pourcentage et l'intervalle de confiance à 95%. Les variables catégoriques ont été comparées par un test du Chi² (si la fréquence est supérieure à 5) ou par un test exact de Fisher.

Tous les tests statistiques ont été réalisés de manière bilatérale avec un risque alpha de 5%.

Une régression logistique a été effectuée sur certains paramètres (type d'établissement, lieu d'exercice, caractéristiques du patient...) pour tenter d'expliquer les facteurs qui pourraient favoriser la prescription du test.

Les déviations au protocole ont été définies par le non respect des critères d'inclusion et d'exclusion. Le caractère majeur ou mineur de la déviation a été défini lors de la revue intermédiaire des données avant le gel de la base. Seuls les patients présentant une déviation majeure ont été exclus de la population d'analyse.

Les analyses statistiques ont été réalisées sur une base de données gelée.

3.7. Données recueillies

Le cahier de recueil des données était rempli par le médecin à partir du dossier médical de son patient.

Les informations suivantes ont été collectées :

- Attestation d'information du patient
- Date du remplissage du questionnaire
- Critères de sélection / non sélection des patients

- Données démographiques et cliniques du patient : âge, sexe, index ECOG
- Histoire du cancer colorectal primitif :
 - Date du diagnostic initial du cancer colorectal, date du diagnostic histologique, localisation, classification TNM, stade de la maladie
 - Prise en charge initiale : traitements néo-adjuvant et/ou adjuvants, chirurgie
- Traitement de 1ère ligne métastatique : date de diagnostic des premières métastases, date d'instauration du traitement de première ligne, traitement anticancéreux instauré
- Prescription du génotypage des biomarqueurs RAS : demande de réalisation du génotypage du gène KRAS (oui/ non), du gène NRAS (oui/ non)
 - si oui : date de prescription, stade de la maladie, raison(s) de prescription, spécialité médicale ayant prescrit le test, date de réception de la prescription par le pathologiste, délai entre la date de réception de la prescription et l'envoi du bloc à la plateforme, localisation de la plateforme de génotypage, date d'envoi du matériel, type de matériel envoyé et qui l'a envoyé
 - si non : raison(s) de la non prescription du génotypage
- Période d'attente du résultat du ou des tests : modification de la prise en charge (oui/non) :
 - si oui : date de la modification, traitement anticancéreux instauré
- Compte-rendu de génotypage :
 - test réalisé : KRAS, NRAS, BRAF
 - disponibilité du compte-rendu (oui/non)
 - Si oui : date de réception du compte-rendu, réception avant choix de la première ligne, modalités de transmission du compte-rendu
 - Si non : raisons de non réalisation du ou des tests
 - Impact du résultat du ou des tests sur la prise en charge thérapeutique (oui/non) et si oui lequel

Une fiche médecin devait également être renseignée avant le début de l'étude. Les informations suivantes étaient recueillies :

- Caractéristiques démographiques du médecin (coordonnées, âge, sexe)
- Données liées à l'exercice : département du lieu d'exercice, année de thèse, type d'établissement, taille de la commune d'exercice
- Disponibilité du test de recherche de mutation NRAS (exons 2,3 et 4) dans la plateforme habituellement sollicitée par le médecin

3.8. Rôles et responsabilités des différents acteurs de l'étude

3.8.1. Le promoteur : Merck Serono

Conformément à l'article L. 1121-1 du code de la santé publique, le promoteur est une personne physique ou morale qui prend l'initiative d'une recherche sur l'être humain, qui en assure la gestion et qui vérifie que son financement est prévu. Il a la responsabilité de la qualité de l'étude et sa conformité aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur. Le promoteur de l'étude Flash RAS était le laboratoire Merck Serono.

3.8.2. Le prestataire

Merck Serono a délégué une partie de ses activités à un prestataire de service également appelé Contract Research Organization (CRO) mais reste toutefois responsable de la conformité et de la qualité des données de l'étude réalisée(31).

Un contrat a été signé entre le promoteur et la CRO pour définir les responsabilités de chacun et établir un cahier des charges. Pour l'étude Flash RAS, la CRO a été impliquée dans la préparation, la mise en place, l'organisation et le suivi de l'étude. Elle assurait également la rémunération des investigateurs, l'accomplissement des formalités réglementaires et la gestion des contrats. La gestion des données et l'analyse statistique était également de la responsabilité de la CRO.

Pendant toute la durée de l'étude, Merck Serono a effectué un suivi régulier des actions mises en place par la CRO.

3.8.3. Le Comité Scientifique

Le Comité Scientifique a pour mission de porter un regard critique et indépendant sur l'étude. Son rôle est de valider la méthodologie de l'étude, la pertinence des objectifs et la qualité scientifique du projet. Il intervient dans la rédaction du protocole, des questionnaires de recueil des données et la décision portant sur les éventuels amendements du protocole. Le Comité Scientifique a pour rôle de conseiller le promoteur sur les moyens à mettre en œuvre pour assurer la qualité des données recueillies et l'exploitation des résultats. Il intervient plus tard dans la publication des résultats et la communication lors de congrès scientifiques.

Dans Flash RAS, le Comité Scientifique était constitué de six membres dont deux hépatogastro-entérologues, un oncologue, deux pathologistes et un pharmacien biologiste responsable d'une

plateforme de biologie moléculaire. Les principaux acteurs impliqués dans le circuit de recherche de mutation sur les gènes RAS étaient représentés dans ce comité.

3.8.4. Les médecins investigateurs

Dans le cadre d'une étude non interventionnelle, le médecin investigateur a pour mission de proposer l'étude aux patients respectant les critères d'inclusion et de compléter le CRF en accord avec le dossier médical.

3.1. Déroulement de l'étude

3.1.1. Recrutement des centres

Pour répondre à l'objectif principal, 1124 patients devaient être inclus dans l'étude. Un maximum de centres participants répartis dans toute la France était nécessaire pour assurer une bonne représentativité des pratiques nationales.

Dans l'étude Flash KRAS de 2011, 1751 médecins avaient été sollicités pour participer à l'étude, 366 médecins (21%) avaient accepté de participer et 160 médecins (9%) avaient effectivement inclus au moins un patient. 598 sujets ont été inclus en 2 semaines sur les 1000 attendus. D'après l'expérience de Flash KRAS, il a été calculé que 1600 médecins devaient être contactés pour atteindre l'objectif d'inclusion.

Toutes les spécialités médicales susceptibles de prescrire le test ont été sollicitées c'est-à-dire les oncologues, les gastro-entérologues et les radiothérapeutes. La liste des cliniciens contactés a été déterminée à partir de plusieurs sources :

- Médecins extraits de la base de données Cegedim
- Médecins ayant inclus dans l'étude Flash KRAS en 2011
- Médecins ayant participé à une autre étude non interventionnelle (sponsorisée par Merck Serono) relative aux traitements de 1^{ère} ligne dans le cancer colorectal métastatique

Les 2700 médecins ont été sollicités par courrier puis par téléphone. Les Responsables Médicaux Régionaux (RMR) de Merck Serono étaient également présents sur le terrain pour proposer l'étude. Une information a également été diffusée lors du congrès national des JFHOD (Journées Françaises Hépato-gastro-entérologie et d'Oncologie Digestive).

Les médecins souhaitant participer à l'étude devaient renvoyer un coupon réponse à la CRO.

3.1.2.Mise en place

Les documents de l'étude (protocole, fiche médecin, CRF) ont été ensuite envoyés aux médecins qui avaient accepté de participer.

Tous les patients vus en consultation entre le 15 juin et le 30 septembre ou venant à l'hôpital pour une administration de chimiothérapie étaient éligibles. Si le patient acceptait de participer à l'étude, le médecin devait remplir le CRF à partir du dossier médical. Le compte rendu de génotypage devait être agrafé au questionnaire.

A la fin de la période d'inclusion, les médecins devaient renvoyer les questionnaires remplis à la CRO pour saisie dans la base de données.

3.1.3.Recueil, monitoring, saisie et vérification des données d'étude

Les questionnaires renvoyés ont été saisis dans une base de données sécurisée par deux opérateurs indépendants.

Des contrôles de fiabilité et de validité des données saisies ont été réalisés. Ils portaient sur la plausibilité des valeurs saisies (contrôle de borne) et la compatibilité des données entre elles (contrôle de cohérence). Aucune demande de correction n'a été demandée aux médecins. Un contrôle qualité de la saisie de 100% des données de 5% des questionnaires a été effectué.

Le Comité Scientifique, Merck Serono et la CRO se sont ensuite réunis pour le nettoyage de base. La réunion de revue des données a pour objet de statuer sur les données non pertinentes permettant ainsi d'obtenir une base de données cohérente et exploitable par le statisticien afin de répondre aux objectifs de l'étude.

Après l'implémentation des corrections évidentes et la validation du plan d'analyse statistique, la base de données a été gelée et les analyses statistiques ont pu être réalisées et consignées dans un rapport.

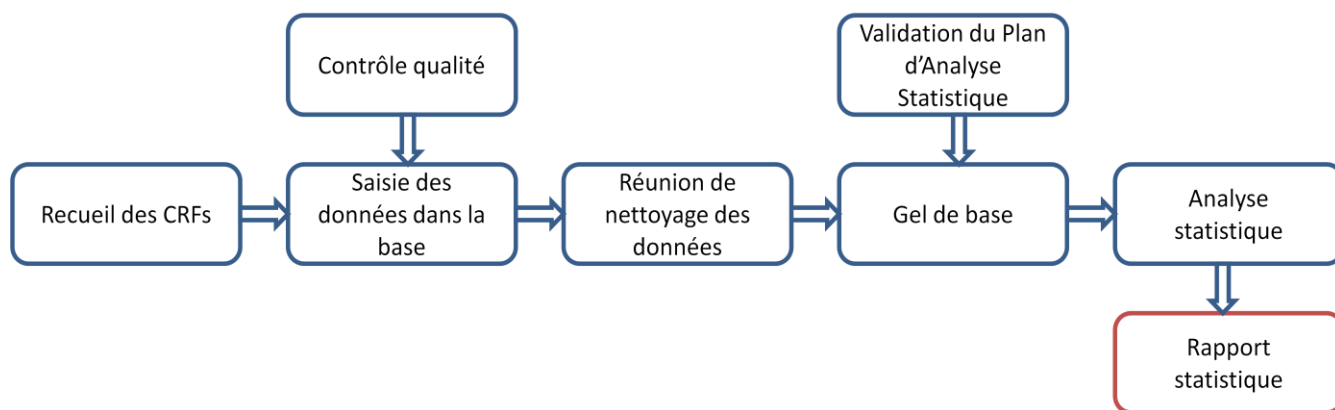


Figure 15 Process de data-management pour l'étude Flash RAS

3.2. Aspects réglementaires

3.2.1. Information des patients et consentement

Les patients devaient recevoir une information compréhensible sous forme écrite et orale avant leur inclusion dans l'étude. La nature et l'objectif de l'enquête devaient être expliqués au patient ainsi que son droit d'accès, de modification, de suppression et de rectification des données le concernant. La note d'information remise au patient est disponible en annexe 3.

L'accord de participation écrit n'était pas requis puisque l'étude est non interventionnelle et ne s'inscrit pas dans le champ de la loi relative aux Recherches Biomédicales. Un accord oral était cependant obligatoire.

3.2.2. Rémunération des médecins participants et déclaration au Conseil National de l'Ordre des Médecins (CNOM)

Les médecins étaient rémunérés pour chaque inclusion dans l'étude. Les conventions d'honoraires ont fait l'objet d'un dépôt pour avis auprès du CNOM selon les modalités d'application de l'article L4113_06 du Code de la Santé Publique et du décret 2007-454 du 25 mars 2007.

Conformément à la loi n°2011-2012 du 29 décembre 2011, et au décret d'application 2013-414 du 21 mai 2013 relatifs au renforcement de la sécurité sanitaire du médicament et des produits de santé, le promoteur a l'obligation de rendre public toutes les conventions conclues avec les professionnels de santé ou les associations les représentant.

3.2.3.Loi informatique et liberté

Les cahiers de recueil des données ont été anonymisés. Les patients ont été identifiés grâce à des numéros dont seul le médecin connaît la correspondance avec le nom du patient.

L'étude a fait l'objet d'une demande d'autorisation auprès de la CNIL (Commission Nationale de l'Information et des Libertés) conformément au chapitre X de la loi Informatique et Libertés. Un avis favorable a été obtenu le 25 mars 2014.

Puisque l'étude est non interventionnelle, il n'était pas nécessaire de la soumettre pour avis au Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé (CCTIRS).

3.2.4.Comité de Protection des Personnes (CPP)

L'étude Flash RAS était non interventionnelle et ne modifiait pas les pratiques habituelles du médecin vis-à-vis de son patient. Par conséquent, l'étude ne s'inscrit pas dans le champ d'application de la loi relative aux Recherches Biomédicales et une autorisation auprès du Comité de Protection des Personnes (CPP) n'était pas obligatoire, de même que la demande d'autorisation auprès de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Dispositifs Médicaux (ANSM).

4. RESULTATS

4.1. Population de l'étude

Sur les 2700 médecins contactés, 298 ont accepté de participer à l'étude et 104 ont finalement inclus au moins un patient. Au total, 406 patients ont été inclus.

Les déviations au protocole ont été recherchées. 31 patients (7,6%) ont présenté au moins une déviation majeure et ont été exclus de la population d'analyse. La population finale d'analyse comptait 375 patients.

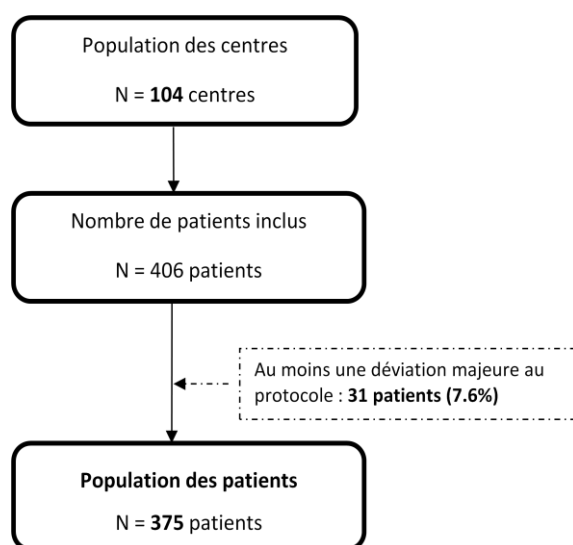


Figure 16 Flow-chart des patients de l'étude

4.2. Description des centres

Les médecins ont inclus en moyenne $3,8 \pm 3,7$ patients. Le nombre de patients inclus par centre est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 4 - Nombre de patients inclus par centre

| Nombre de patients inclus | Nombre de centres |
|---------------------------|-------------------|
| N | 104 |
| 1 | 26 (25.0%) |
| 2 | 20 (19.2%) |
| 3 | 17 (16.3%) |
| 4 | 13 (12.5%) |
| 5 | 7 (6.7%) |
| 6 | 5 (4.8%) |
| 7 | 4 (3.8%) |
| 8 | 4 (3.8%) |
| 9 | 1 (1.0%) |
| 10 | 4 (3.8%) |
| 14 | 1 (1.0%) |
| 15 | 1 (1.0%) |
| 28 | 1 (1.0%) |

7 centres ont inclus plus de 10 patients dans l'étude. Un centre a inclus 28 patients ce qui représente 7,5% de la population d'analyse.

L'âge moyen des médecins participant était $44,5 \pm 7,1$ ans et 61,2% étaient des hommes. Ils exerçaient dans 49 départements différents. La plupart des médecins exerçaient dans une clinique ou un hôpital privé (43%) et 28% exerçaient dans un Centre Hospitalier Générale (CHG).

Les différents types d'établissement représentés dans Flash RAS sont en adéquation avec les données PMSI.

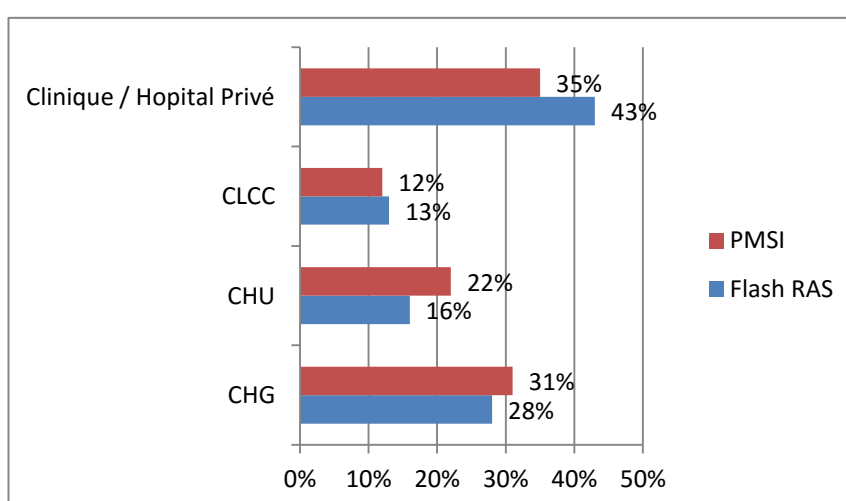


Figure 17 Répartition des patients par types d'établissement et comparaison aux données PMSI

En comparaison aux données PMSI, la représentativité nationale des patients inclus est quasi-complète. Les régions PACA, Midi-Pyrénées, Champagne-Ardenne et Limousin étaient néanmoins surreprésentées. Aucun patient n'a été inclus dans les régions de Franche-Comté, Haute-Normandie et Basse-Normandie. Aucun patient n'a été inclus dans les régions de Franche-Comté, Haute-Normandie et Basse-Normandie.

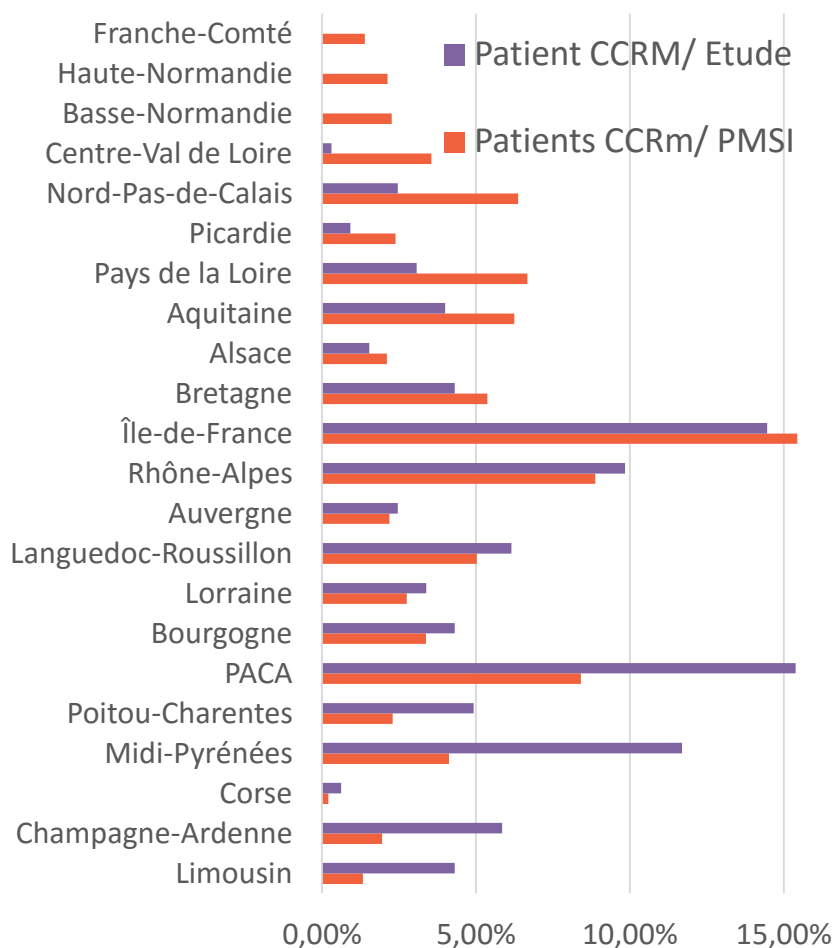


Figure 18 Représentativité nationale des patients inclus en comparaison aux données PMSI

4.3. Caractéristiques des patients

Au total 375 patients ont été inclus dans l'étude. Leurs caractéristiques démographiques et tumorales sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 5 Caractéristiques des patients et de leurs tumeurs

| Caractéristiques | Population |
|---|----------------------|
| Nombre de patient total | 375 |
| Sexe Homme | 57,8% |
| Age, moyenne \pm ET | 65,7 \pm 11,7 mois |
| Ancienneté du cancer colorectal depuis le diagnostic histologique initial, médiane | 4,8 mois |
| Localisation de la tumeur primitive | |
| Colon | 76,2% |
| Rectum | 23,2% |
| Colon et rectum | 0,5% |
| Stade de la maladie au moment du diagnostic | |
| Stade I | 1,4% |
| Stade II | 9,0% |
| Stade III | 16,1% |
| Stade IV | 73,6% |
| Ancienneté du diagnostic des métastases par rapport au traitement de 1ère ligne (médiane) | 0,1 mois |
| Statut ECOG | |
| 0 | 40,0% |
| 1 | 45,1% |
| 2 | 12,9% |
| 3 | 2,0% |
| Thérapie néo-adjuvante | 30,2% |
| Thérapie adjuvante | 28,7% |
| Chimiothérapie de 1ère ligne | |
| FOLFOX/XELOX | 49,6% |
| FOLFIRI/XELIRI | 30,7% |
| 5 FU/capecitabine en monothérapie | 10,7% |
| FOLFIRINOX | 6,4% |
| Autre | 1,3% |

73,6% des patients présentaient déjà des métastases au moment du diagnostic de la maladie (métastases synchrones).

4.4. Objectif principal : taux de prescription et de réalisation des tests de recherche de mutation RAS

Un test de génotypage a été prescrit chez 90,1% des patients (IC 95% : 87,1% ; 93,2%). Le test de recherche de mutation a été prescrit sur les gènes KRAS et NRAS dans 77,9% des cas et sur le gène KRAS seulement dans 8,3% des cas.

Tableau 6 Type de génotypage demandé par le médecin

| Libellé du génotypage demandé | N (%) |
|-------------------------------|-------------|
| N | 375 |
| Non demandé | 37 (9,9%) |
| Test KRAS | 31 (8,3%) |
| prescrit en 2013 | 7 (1,9%) |
| prescrit en 2014 | 24 (6,4%) |
| Test RAS (KRAS et NRAS) | 292 (77,9%) |
| Génotypage CCRm | 11 (2,9%) |
| Manquant | 4 (1,1%) |

Quand le test a été demandé, il a été réalisé chez 98,8% des patients. Tous les patients ont été testés sur le gène KRAS, 79,8% sur le gène NRAS et 82,2% sur le gène BRAF.

Tableau 7 Si prescription d'un test de génotypage, réalisation des tests KRAS, NRAS et BRAF

| Test demandé par le médecin | Test réalisé par la plateforme de génotypage (%) | | |
|-----------------------------------|--|--------------|--------------|
| | KRAS | NRAS | BRAF |
| Test RAS (n=292) | 100% | 85,0% | 82,7% |
| Test KRAS prescrit en 2014 (n=24) | 100% | 52,4% | 76,2% |
| Test KRAS prescrit en 2013 (n=7) | 100% | 0,0% | 57,1% |
| Génotypage CCRm (n=11) | 100% | 50,0% | 90,9% |
| Manquant (n=4) | 100% | 75,0% | 100,0% |
| Total (n=338) | 100% | 79,8% | 82,2% |

Près de 70% des patients ont été testés à la fois sur les gènes KRAS, NRAS et BRAF.

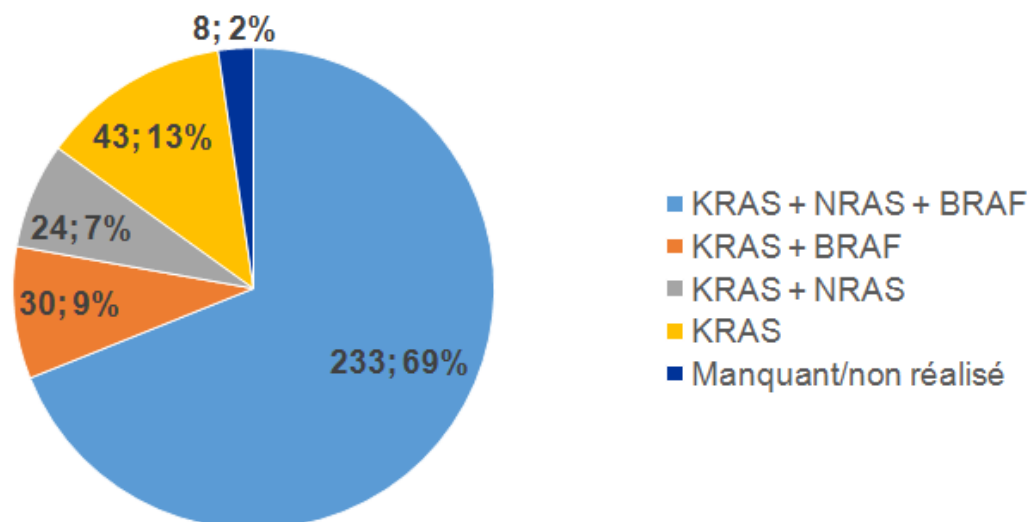


Figure 19 Si prescription d'un test de génotypage, type de test réalisé

Le taux de prescription variait d'une région à l'autre. La Picardie avait le plus faible taux de prescription (66,7 %) mais cette région était représentée seulement par 3 patients. Les régions de Franche-Comté, Haute-Normandie et Basse-Normandie ne sont pas représentées car aucun patient n'a été inclus.

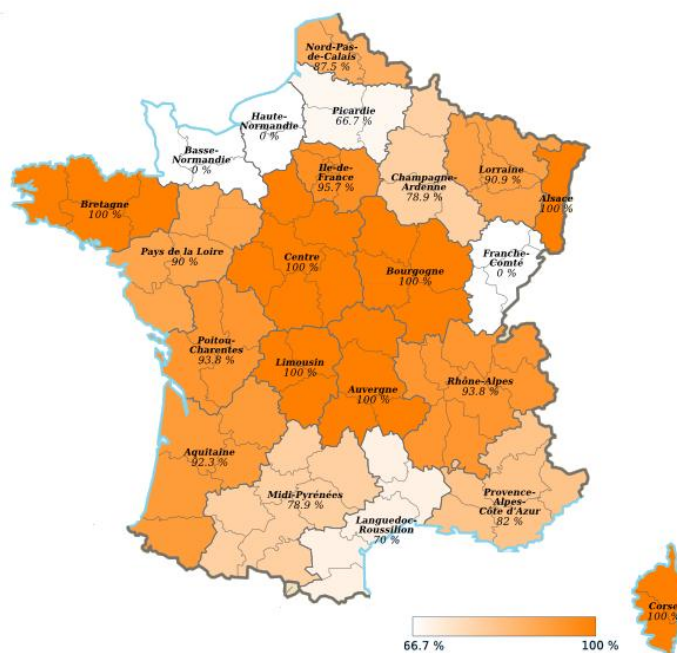


Figure 20 Demande de génotypage des biomarqueurs par région

Le taux de prescription variait selon le type d'établissement. La demande de génotypage était presque systématique dans les CHU (n=97,9%) alors que dans les Centres Anti-Cancéreux (CAC) le taux de prescription était de 79,5%.

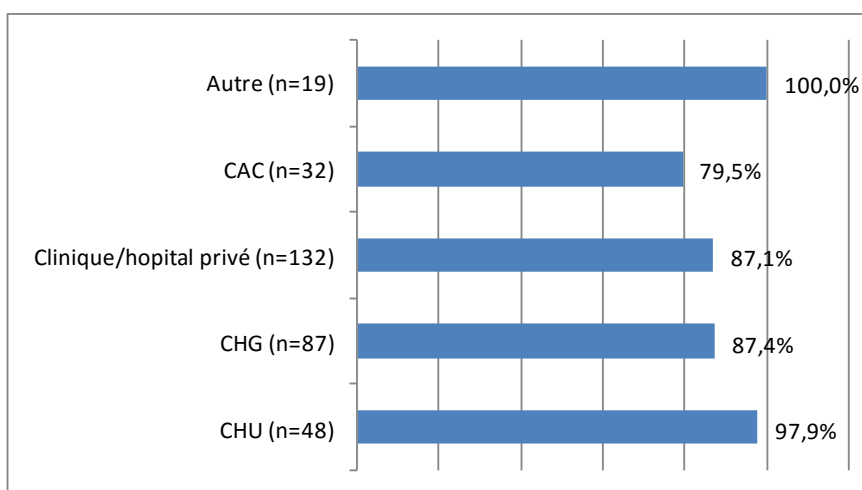


Figure 21 Taux de prescription en fonction de l'établissement

L'âge du patient et le statut ECOG ont significativement influencé la prescription du test de génotypage (p=0,031 et p=0,011 respectivement).

Tableau 8 Impact des caractéristiques démographiques et tumorales sur la prescription du test de génotypage

| Caractéristiques | | Prescription du test (%) | p |
|---|-----------|--------------------------|--------------|
| Sexe du patient | Masculin | 194 (89.8%) | 0.825 |
| | Féminin | 143 (90.5%) | |
| Age du patient (ans) | < 60 ans | 100 (95.2%) | 0.031 |
| | 60-80 ans | 207 (89.2%) | |
| | > 80 ans | 27 (79.4%) | |
| Durée du cancer colorectal depuis le diagnostic histologique initial | < 5 mois | 179 (92.7%) | 0.083 |
| | ≥ 5 mois | 151 (87.3%) | |
| Localisation de la tumeur primitive | Colon | 254 (90.1%) | 0.885 |
| | Rectum | 77 (89.5%) | |
| Index ECOG | 0 | 129 (92.1%) | 0.011 |
| | 1 | 141 (89.2%) | |
| | 2 | 40 (88.9%) | |
| | 3 | 3 (42.9%) | |
| Stade de la maladie au moment du diagnostic | I | 5 (100.0%) | 0.637 |
| | II | 32 (97.0%) | |
| | III | 53 (89.8%) | |
| | IV | 241 (89.3%) | |

4.5. Analyse des objectifs secondaires

4.5.1. Evolution du taux de prescription du test KRAS entre 2011 et 2014

Le test de génotypage KRAS a été plus souvent prescrit en 2014 qu'en 2011 (p<0,001).

| | 2011 N=534 | 2014 N=375 | P-value |
|---|-------------------------|---------------------------|-------------------|
| Taux de prescription du test (%); IC 95% | 81.1 % [77.8% ; 84%] | 90.1 % [87.1% ; 93.2%] | <0,001* |

* Test d'ajustement du Chi²

4.5.2. Description des motifs de non prescription du test de génotypage

Les principales raisons évoquées par les médecins pour n'avoir pas demandé de test de génotypage à leurs patients étaient qu'ils ne souhaitent pas prescrire d'anti-EGFR (39,1%) ou alors pas en 1^{ère} ligne (14,3%).

Tableau 9 Raisons de non prescription du test de génotypage

| Raisons de non prescription du test de génotypage | Total N=37 |
|--|------------|
| N | 28 |
| Non renseigné | 9 |
| Pas de prescription d'anti-EGFR à ce patient | 11 (39,3%) |
| Pas de prescription d'anti-EGFR en 1 ^{ère} ligne | 4 (14,3%) |
| Métastases résécables | 3 (10,7%) |
| Décision RCP | 2 (7,1%) |
| Impossibilité technique/Matériel disponible non exploitable/Délai d'obtention trop long pour obtenir le statut | 3 (10,7%) |
| Etat général du patient | 2 (7,1%) |
| Age du patient | 1 (3,6%) |
| K-RAS déjà fait | 1 (3,6%) |
| Autre | 1 (3,6%) |

4.5.3. Description et analyse du délai d'obtention du résultat des tests et du circuit

4.5.3.1. Modalités de prescription du test

Le test de génotypage a été prescrit en médiane 1,6 semaines (en moyenne $1,03 \pm 12,52$ semaines) soit 11,2 jours après le diagnostic des premières métastases.

Le test a été prescrit dans 13,6 % des cas avant le diagnostic des métastases. Dans 25% des cas, le test a été demandé plus de 4 semaines après le diagnostic.

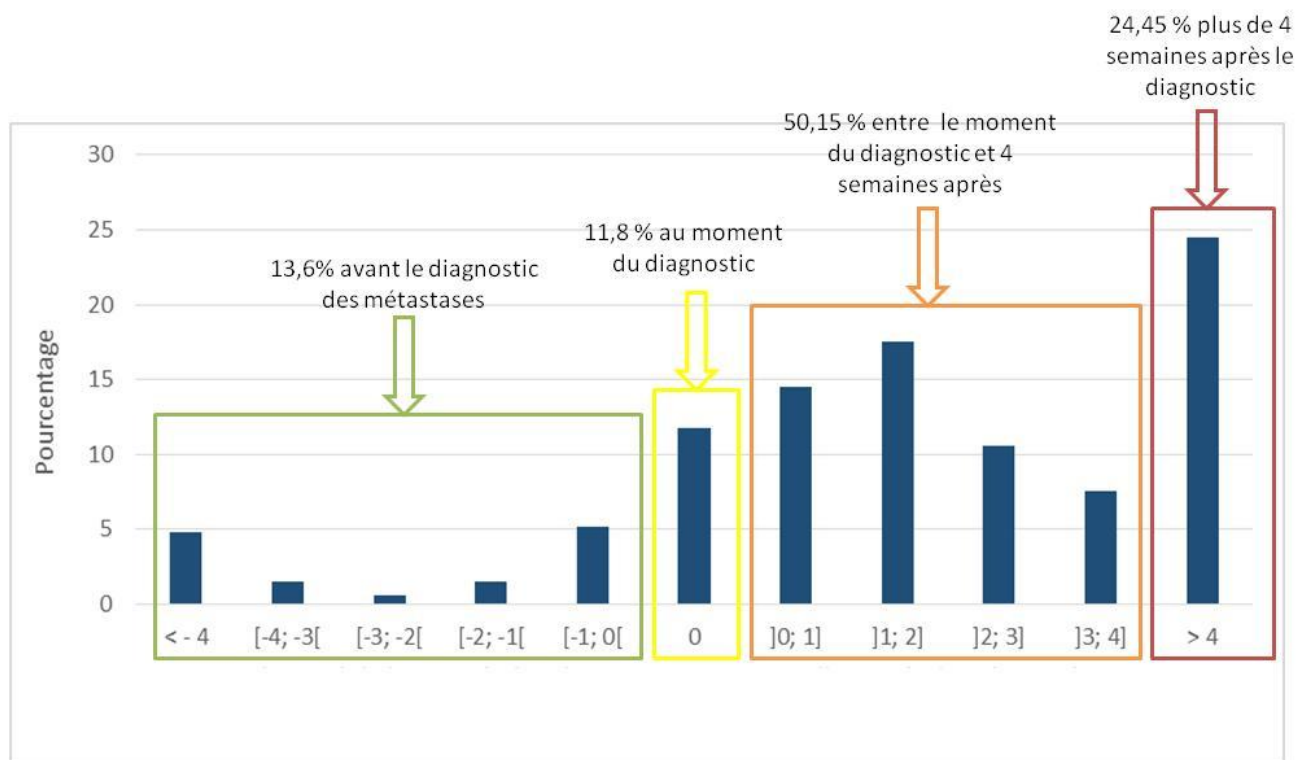


Figure 22 Distribution du délai entre la prescription du test et le diagnostic des premières métastases (semaines)

Le test a été prescrit dans 74% des cas par un oncologue ou un gastro-entérologue, dans 10,7% des cas par un pathologiste et 10,7% par un chirurgien.

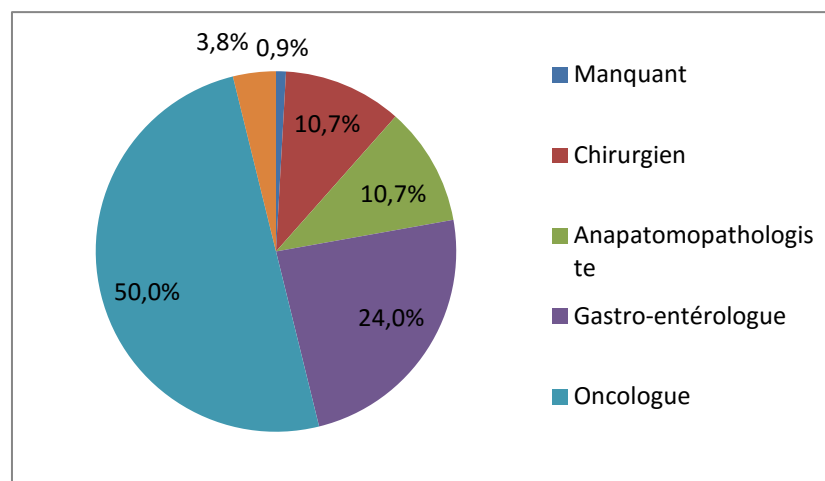


Figure 23 Prescripteur du test de génotypage

Dans 80,7% des cas, la plateforme de génotypage était située en dehors du centre prescripteur.

4.5.3.2. Délais

Entre la prescription du test et la réception du compte-rendu de génotypage, il s'est écoulé en médiane 20 jours (moyenne $24,3 \pm 17,8$ jours).

Le délai total de réception des résultats du test n'est pas significativement différent entre 2011 et 2014 ($p=0,080$).

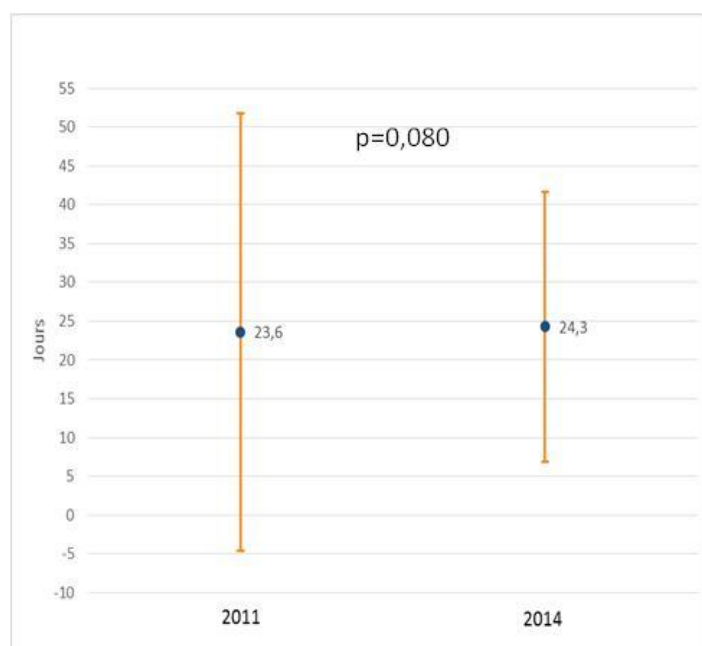


Figure 24 Délai moyen \pm ET de réception du compte rendu en 2011 et 2014

Ce délai résulte du temps de désarchivage de la tumeur et surtout du temps de génotypage.

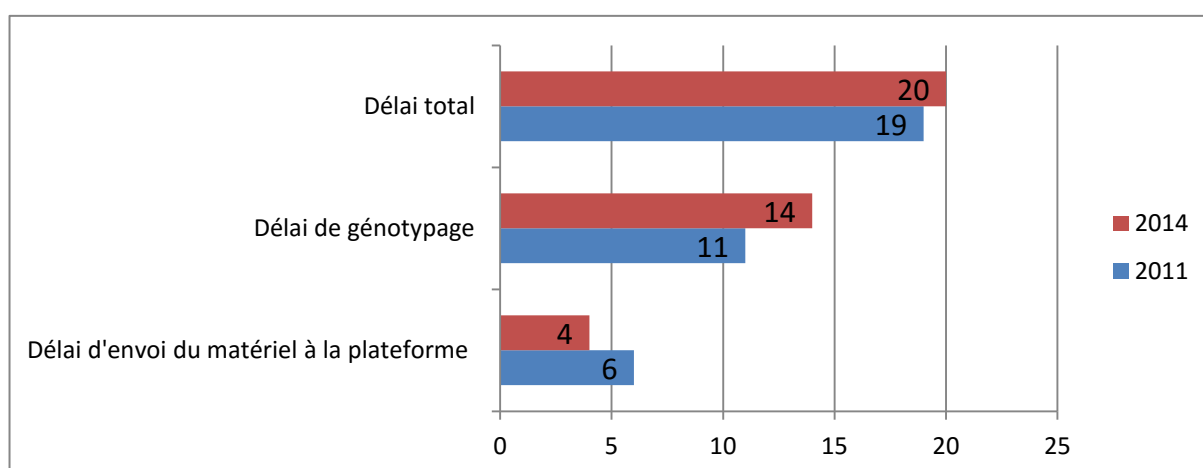


Figure 25 - Délais médians d'envoi du matériel à la plateforme et de génotypage et délai total de réception des résultats du test en 2011 et 2014

Le délai de désarchivage était en médiane de 4,0 jours (moyenne $7,69 \pm 11,34$ jours). En 2011, il était de 6,0 jours (moyenne $9,7 \pm 14,3$ jours). Ce délai a été significativement réduit entre l'année 2011 et 2014 ($p=0,002$). Le fait que la plateforme ne soit pas localisée dans le centre prescripteur n'a pas eu d'impact sur ce délai ($p=0,354$).

Le matériel envoyé à la plateforme était principalement la tumeur primitive (83,6%), parfois les métastases (15,2%) ou bien les deux (1,2%). L'envoi était réalisé dans 88,7% des cas par le pathologiste.

Le délai de génotypage était en médiane de 14 jours (moyenne $18,8 \pm 16$ jours). Il était réalisé en majorité entre 7 et 15 jours.

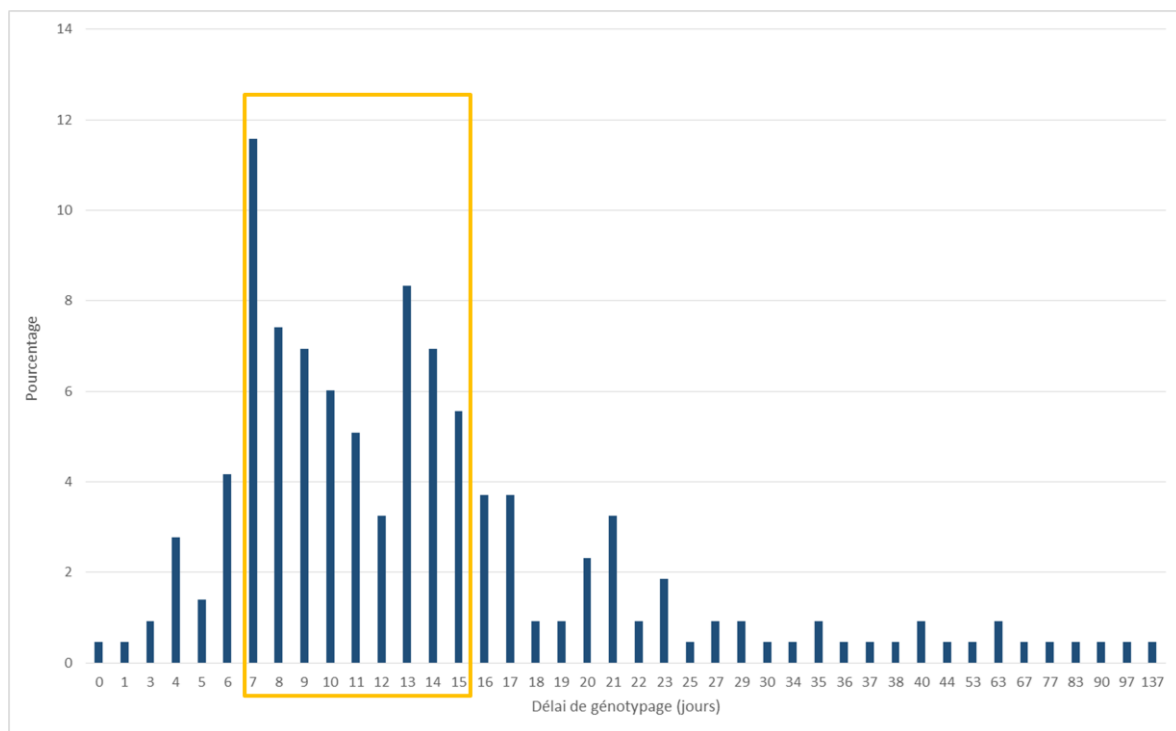


Figure 26 Distribution du délai de génotypage

En 2011, ce délai était en médiane de 11 jours (moyenne $14 \pm 11,0$ jours).

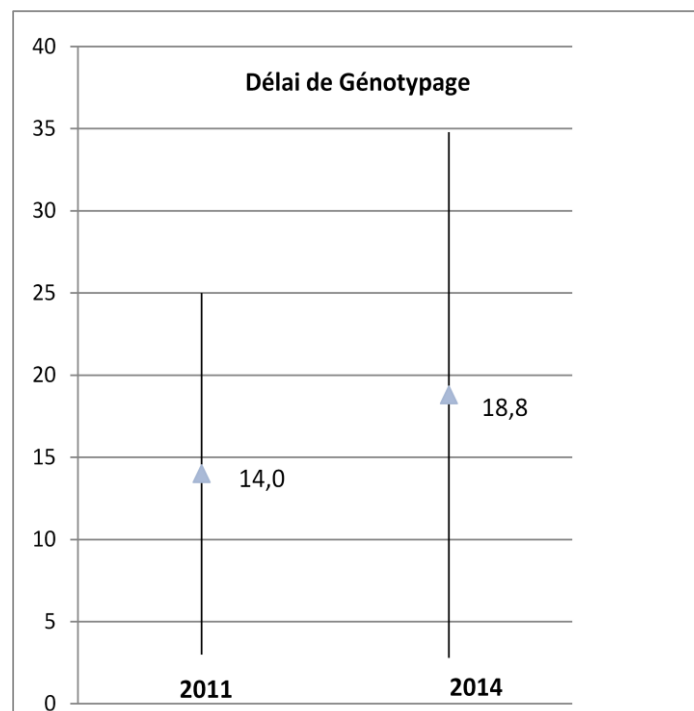


Figure 27 Délai moyen +/- ET de génotypage en 2011 et 2014

La technique analytique utilisée ne semble pas avoir eu d'impact sur le délai de génotypage. Il varie de 10 à 13 jours en médiane selon les méthodes.

| Technique analytique | Délai de génotypage | |
|------------------------------------|---------------------|------------------|
| | Médiane | Moyenne \pm ET |
| Pyroséquencing/sequencing/snapshot | 13 | 15,0 \pm 12,4 |
| Discrimination allélique | 13 | 16,0 \pm 14,4 |
| HRM | 10 | 15,9 \pm 17,0 |
| Autre | 12 | 18,9 \pm 20,1 |

Tableau 10 Délai de génotypage en fonction de la technique analytique

4.5.3.3. Compte-rendu de génotypage

Lorsque le test a été prescrit, le médecin a reçu le compte-rendu dans 96,4% des cas et dans un délai de 20 jours en médiane.

Les résultats étaient disponibles dans presque la moitié des cas entre 2 et 4 semaines et dans un tiers des cas en moins de 2 semaines. Le compte-rendu était disponible à 39,4% avant le choix de la 1^{ère} ligne.

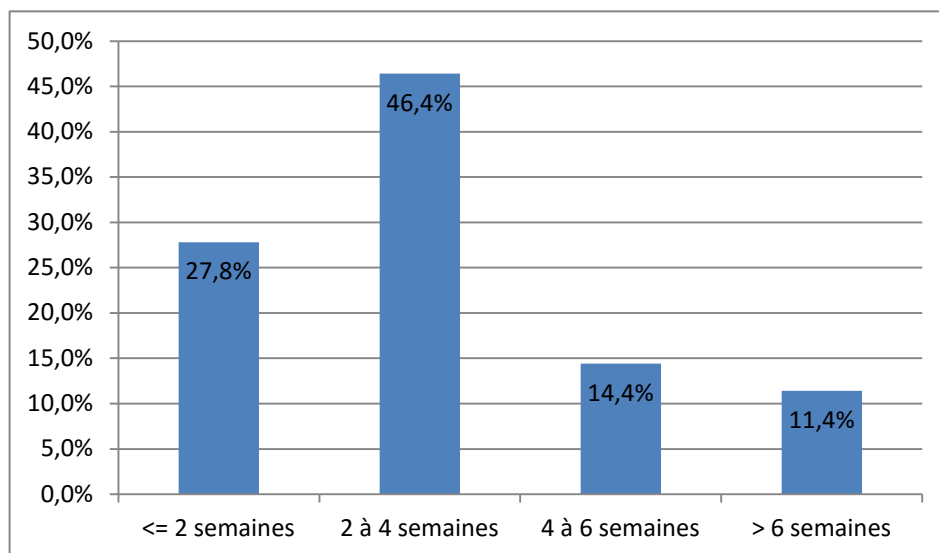


Tableau 11 Délai de réception du compte-rendu depuis la prescription par le médecin

Les résultats ont été envoyés le plus souvent par courrier et par fax. Pour 26% des patients, plusieurs modalités de transmission étaient associées.

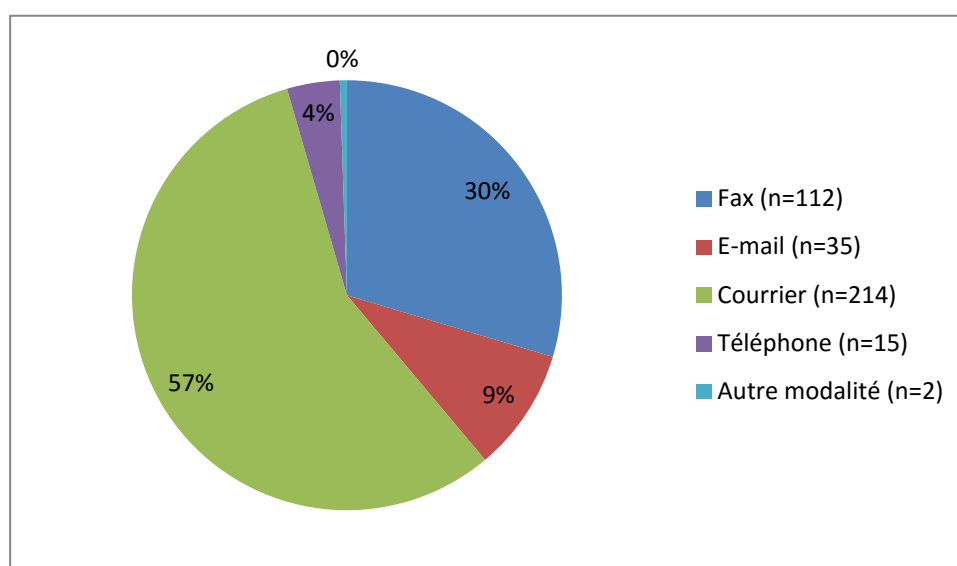


Figure 28 Modalités de transmission des résultats au centre

Dans 62% des cas, le compte-rendu était transmis à la fois au médecin et à l'anatomopathologiste.

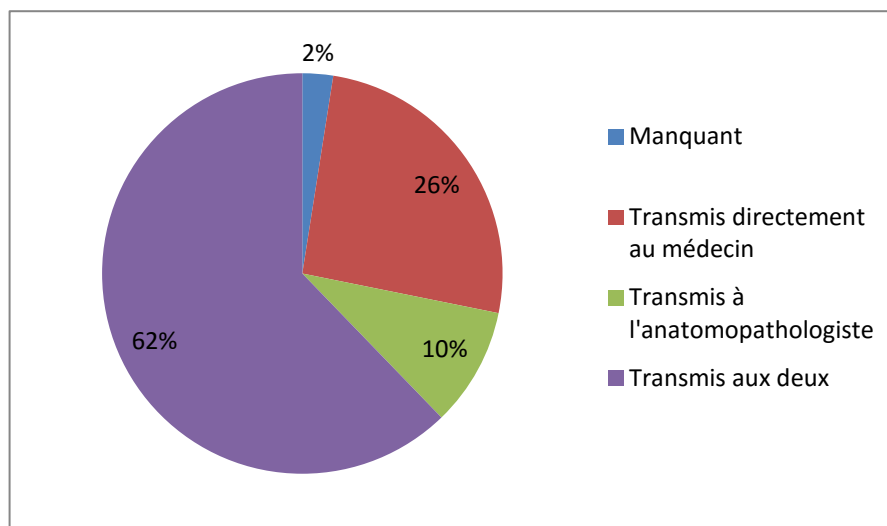


Figure 29 Si compte-rendu disponible, destinataire et modalités de transmission du compte rendu

4.5.4. Analyse de l'impact de la disponibilité des tests et de son résultat sur le choix thérapeutique du médecin

Pour 48,3% des patients, au moins une mutation a été retrouvée sur les gènes KRAS, NRAS et BRAF.

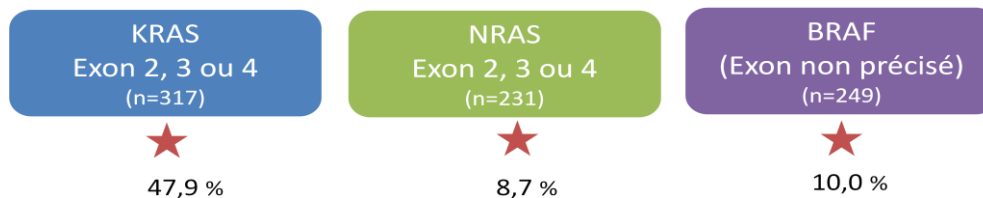


Tableau 12 Fréquence des mutations sur les gènes KRAS, NRAS et BRAF dans l'étude Flash RAS

Les techniques de recherche de mutation les plus utilisées étaient le séquençage (pyroséquençage / séquençage / Snapshot) et la technique High Resolution Melting (HRM).

| Technique d'enrichissement de l'allèle muté* | Test KRAS | Test NRAS | Test BRAF |
|--|-----------|-----------|-----------|
| N | 342 | 250 | 252 |
| Autre (%) | 10,2 | 9,6 | 13,9 |
| Discrimination allélique (%) | 8,2 | 3,6 | 14,3 |
| HRM (%) | 24,3 | 27,6 | 18,2 |
| Pyroséquençage/séquençage/Snapshot (%) | 57,3 | 59,2 | 53,6 |

*Plusieurs techniques différentes étaient parfois utilisées pour un même test;

Dans seulement 59,6% des cas, les mutations ont été recherchées sur tous les exons du gène KRAS et du gène NRAS. Dans 20,5% des cas, la mutation n'a été recherchée que sur l'exon 2 du gène KRAS.

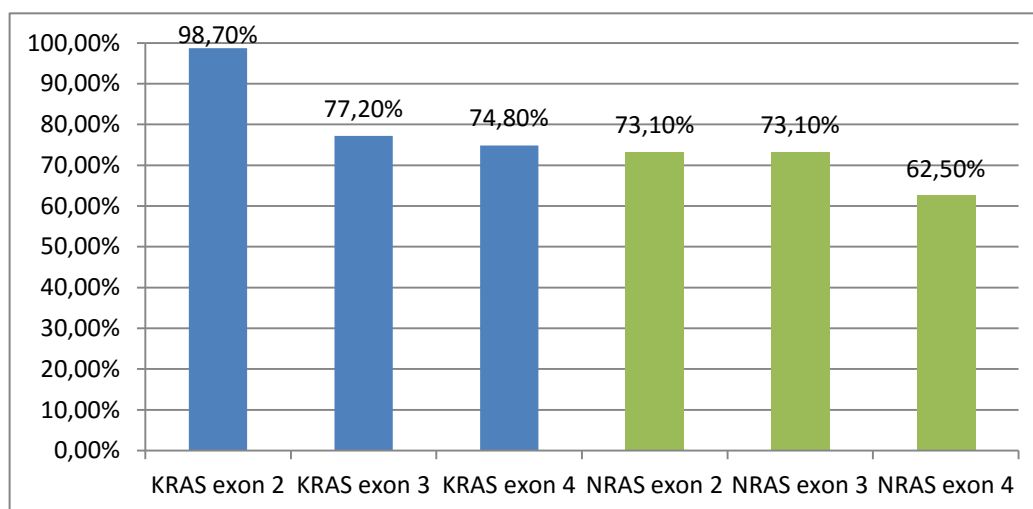


Figure 30 Proportion de patients pour lequel la mutation a été recherchée sur les exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS

Presque tous les patients ont été testés sur l'exon 2 du gène KRAS. Les mutations sur les exons 3 et 4 du gène KRAS et 2 et 3 du gène NRAS ont été recherchés dans les mêmes proportions c'est-à-dire chez environ 75% des patients. L'exon 4 du gène NRAS a été moins souvent testé que les autres.

Dans 55,3% des cas, les résultats du test ont eu un impact sur le choix du traitement de 1^{ère} ligne.

| Impact des résultats du test sur la décision thérapeutique | |
|--|--------------|
| N total | 338 |
| Données manquantes | 36 |
| Impact sur le choix de la 1 ^{ère} ligne de traitement | 167 (55,3 %) |
| Sans impact | 135 (44,7 %) |

Tableau 13 Impact des résultats du test sur la prise en charge

5. DISCUSSION

La meilleure compréhension de la biologie des cancers a permis des avancées majeures dans la personnalisation des traitements en oncologie. La médecine personnalisée consiste à adapter les traitements en fonction des caractéristiques des patients et de la biologie de leurs tumeurs. Elle permet d'anticiper, grâce à un test diagnostic, ceux pour qui le traitement serait le plus bénéfique, et ceux pour qui, il ne le serait pas. Avec la découverte de mutations sur le gène KRAS exon 2 puis sur les gènes RAS (KRAS exons 3 et 4 et NRAS exons 2, 3 et 4), les thérapies anti-EGFR dans le traitement du cancer colorectal métastatique sont un parfait exemple de progrès dans la personnalisation du traitement. La connaissance du statut RAS a aujourd'hui une importance majeure dans la décision thérapeutique.

A la suite de Flash KRAS en 2011, l'étude Flash RAS a évalué les pratiques de prescription et de réalisation de ce test en France. Mise en place quelques mois après la modification de l'AMM des anti-EGFR, l'étude a également permis d'évaluer la rapidité d'adaptation des plateformes pour la mise en place d'un nouveau test biomarqueur.

5.1. La représentativité des données de l'étude

Dans l'étude Flash RAS, l'objectif de l'étude était de photographier les pratiques à un instant « t ». Pour s'assurer que les données collectées soient représentatives de la vie réelle, il est nécessaire de vérifier l'absence de biais.

5.1.1. La sélection des médecins

Près de 2700 médecins ont été contactés pour participer à l'étude et une grande majorité des établissements français ont été sollicités. La liste des médecins contactés a été extraite de la base de données Cegedim qui a l'avantage d'être exhaustive. La sélection des médecins ne présente donc, *a priori*, pas de biais. En comparant aux données PMSI 2013, la proportion des différents types d'établissements participants semble être assez représentative de la vie réelle. La majorité des régions ont participé (19 régions de France métropolitaine sur 22) permettant une bonne représentativité nationale. Quatre régions étaient surreprésentées par rapport aux données PMSI. Dans cette étude, il n'est pas possible de comparer les régions entre elles, car le nombre d'inclusions dans certaines régions était trop faible.

5.1.2. Sélection des patients

Afin d'éviter les biais de sélection, les médecins devaient inclure l'exhaustivité des patients vus en consultation pendant la période d'inclusion. En moyenne les médecins ont sélectionné $3,8 \pm 3,7$ patients en 3 mois alors que dans l'étude Flash KRAS ils avaient inclus $3,4 \pm 2,7$ patients en 2 semaines. Il est donc peu probable que tous les patients remplissant les critères de sélection aient été inclus dans Flash RAS.

Les caractéristiques démographiques (âge et sexe ratio) de la population d'étude sont représentatives des patients atteints de cancer colorectal métastatique. De manière surprenante, les patients avec des métastases synchrones sont surreprésentés. 73,6% des patients avaient des métastases synchrone alors qu'il est décrit dans la littérature que ce type de patients représente 25% des cancers colorectaux métastatiques(3). Dans l'étude Flash KRAS, cette même tendance est retrouvée, puisque 70% des patients inclus avaient des métastases synchrones(25).

Le nombre d'inclusions avait été estimé initialement à 1124 patients pour pouvoir mettre en évidence un taux de prescriptions du test NRAS de 50% avec une précision de 3%. Le nombre de patients finalement inclus n'a pas atteint l'objectif initial. Toutefois, le calcul de la précision, à partir du nombre réel de patients finalement inclus et le résultat du taux de prescription de 90%, montre que la précision reste bonne (3%).

5.1.3.Observation

Les données ont été collectées de manière rétrospective à partir du dossier médical des patients. Il n'y a donc, *a priori*, pas de biais d'observation.

5.2. Les pratiques de prescription du test RAS en France en 2014

Le génotypage RAS est aujourd'hui ancré dans la pratique de prise en charge des patients atteint de CCRm. La prévalence de la demande de génotypage en 2014 est de 90,1% et en progression par rapport à 2011 (81,1%). Les médecins suivent les guidelines du NCCN, de l'ESMO et du TNCD qui recommandent la recherche de mutations sur les gènes RAS des patients atteints de cancer colorectal métastatique (3)(16)(32).

Seulement quelques mois après la modification de l'AMM des anti-EGFR, 80% des médecins ont prescrit à la fois le test sur le gène KRAS et le gène NRAS. La demande du test NRAS est rentrée dans les pratiques.

Les plateformes ont réussi à implémenter rapidement un nouveau test biomarqueur puisque 100% des patients ont été testés pour KRAS et 80% pour NRAS.

5.2.1. Les paramètres influençant la prescription du test

L'âge du patient influence significativement la prescription du test ($p=0,031$). Dans l'étude Flash RAS, les patients âgés de plus de 80 ans ont été moins souvent testés que les patients plus jeunes ($OR=0,19$, IC 95% : 0,06 ; 0,66). Cette tendance a également été observée en 2011 dans l'étude Flash KRAS.

Les personnes âgées ont très souvent plusieurs comorbidités associées à leur cancer et sont parfois en mauvais état général au moment du diagnostic(33). Cette population est souvent exclue des essais cliniques car elle est trop hétérogène. Il est donc difficile de déterminer la meilleure option thérapeutique pour ces patients. De manière générale, les personnes âgées ont une moins bonne tolérance pour les thérapeutiques agressives (comme les bi-chimiothérapies standards type FOLFOX ou FOLFIRI) que les patients jeunes(33). De plus, la bi-chimiothérapie n'a pas démontré une supériorité significative dans cette population en termes de survie globale en comparaison à la mono-chimiothérapie(33)(34). Les anti-EGFR n'ont pas d'AMM en association à une mono-chimiothérapie. Ceci pourrait donc expliquer que le test RAS soit moins prescrit dans cette population.

Pour les personnes âgées suffisamment en forme pour recevoir une bi-chimiothérapie, il existe des données d'efficacité et de tolérance des anti-EGFR dans cette population. Dans la méta-analyse des études CRYSTAL et OPUS, la survie globale est améliorée lorsque le cetuximab est associé à la chimiothérapie chez les patients KRAS wt de plus de 70 ans (23,3 vs 15,1 mois, $p=0,38$). La différence n'est pas significative mais le nombre de patients est faible ($n=145$) et l'analyse n'est disponible que dans la population KRAS wt (35). La tolérance était similaire aux patients de moins de 70 ans. Similairement, dans l'étude PRIME, la SG est allongée de manière non significative (HR : 0,81 ; IC 95% 0,59 – 1,11) chez les patients KRAS wt de plus de 65 ans traités par panitumumab + FOLFOX en comparaison au FOLFOX seul(36). L'impact de l'âge sur l'efficacité du cetuximab en traitement de 1^{ère} ligne du CCRm a également été évalué dans une cohorte prospective française de 389 patients. Aucune différence significative, en termes de taux de réponse et de survie globale, n'a été démontrée chez les patients âgés de plus de 70 ans par rapport aux patients plus jeunes(37). Cependant les seuils (70 et 65 ans) utilisés dans ces études sont assez bas et les patients inclus dans les essais cliniques sont en bon état général (voir annexe 4).

Le statut ECOG influence également la prescription du test RAS. Les patients avec un statut ECOG 3 ont été moins souvent testés, pour le RAS, que les patients avec un ECOG 0 à 2 (OR= 0,06 ; IC 95% 0,01 - 0,32). Ces résultats ne sont pas surprenants car une approche palliative est privilégiée chez ces patients qui ne peuvent généralement pas supporter les protocoles de chimiothérapie standards comme le FOLFOX ou FOLFIRI associés aux traitements anti-EGFR en 1^{ère} ligne.

5.2.2. Les raisons de non prescription du test RAS

9,9% des médecins n'ont pas prescrit de test à leur patient. La principale raison évoquée était un souhait de ne pas les traiter par un anti-EGFR. La présence de métastases résécables était également un frein chez certains patients. D'après les recommandations du TNCD, ces patients doivent être traités par FOLFOX en péri-opératoire. Aucune thérapie ciblée n'est recommandée dans cette situation(16). Il n'est donc pas surprenant que le test RAS ne soit pas prescrit dans cette situation.

Dans d'autres cas, le test n'a pas été prescrit pour des raisons techniques. Le matériel tumoral n'était pas disponible ou le délai d'obtention des résultats était trop long. De nouvelles techniques analytiques ultra-sensibles permettent aujourd'hui de rechercher les mutations RAS directement dans le sang et pourront bientôt pallier à ces problèmes techniques (voir paragraphe 5.2.1.2).

5.3. Quand prescrire le test dans la prise en charge du patient ?

Le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) recommande de rechercher les mutations RAS chez tous les patients atteints de cancer colorectal métastatique au moment du diagnostic du stade IV de leur maladie. La proportion de patients atteints de cancer colorectal métastatique décroît au cours de la succession des lignes tout comme l'efficacité (la SSP est plus longue en 1^{ère} ligne) (7)(38)(39)(40)(41)(42)(43)(44)(45). En moyenne, seulement la moitié des patients reçoit un traitement au-delà de la 1^{ère} ligne(46). Le choix du traitement de 1^{ère} ligne a donc un rôle clé dans la survie globale du patient.

En 1^{ère} ligne, les anti-EGFR en association à la CT ont montré un clair bénéfice en survie en comparaison à la CT seule, chez les patients RAS wt. Dans les trois études pivotales CRYSTAL (cetuximab + FOLFIRI vs FOLFIRI), OPUS (cetuximab + FOLFOX vs FOLFOX) et PRIME (panitumumab + FOLFOX vs FOLFOX), la survie globale et la survie sans progression sont allongées lorsque la CT est

associée au cetuximab¹(8)(9) ou au panitumumab(7). Dans l'étude CRYSTAL, un gain cliniquement significatif de 8,2 mois de SG est observé dans le bras cetuximab + FOLFIRI versus FOLFIRI seul (28,4 vs 20,2 mois, HR=0,69, p=0,0024)(8). L'efficacité du cetuximab et du bevacizumab en association à la CT a été comparée dans deux études de phase III. Dans l'étude FIRE 3, la SG était significativement allongée de 8,2 mois en faveur du bras cetuximab + FOLFIRI plutôt que bevacizumab + FOLFIRI chez les patients RAS wt (33,1 vs 25,0 mois, HR=0,70, IC 95% 0,54 – 0,90, p=0,006)(11). L'étude américaine CALGB/SWOG 80405 n'a pas démontré de différence significative de SG entre les bras cetuximab + FOLFOX/FOLFIRI et bevacizumab + FOLFOX/FOLFIRI (32,0 vs 31,2 mois, HR : 0,925, IC 95% 0,78 – 1,09, p=0,34). Néanmoins, quelque soit le protocole de chimiothérapie utilisée, la SG atteint plus de 32 mois avec cetuximab chez les patients RAS wt(39). Dans deux récentes méta-analyses, il est mis en évidence que les traitements anti-EGFR apportaient un avantage significatif de SG par rapport au bevacizumab en association à la CT en 1^{ère} ligne du CCRm (RAS wt : HR=0,77 ; IC 95% 0,63-0,95 ; p=0,016) mais pas en PFS (RAS wt : HR=0,92 ; IC 95% 0,71-1,18)(47)(48). Ces méta-analyses confirment l'importance de tester les patients pour le RAS avant la décision du traitement de 1^{ère} ligne (voir annexe5).

Idéalement, le statut RAS du patient devrait être disponible pour la Réunion de Concertation Multidisciplinaire (RCP) car c'est à ce moment que le traitement de 1^{ère} ligne est décidé.

En 2012, l'INCA a évalué les délais de prise en charge du cancer du colon en France sur une cohorte de 3 248 patients. L'enquête a montré que le délai moyen entre le diagnostic et la RCP était de 11,9 jours chez les patients qui n'ont pas eu de traitement chirurgical. La 1^{ère} séance de chimiothérapie avait lieu 19 jours plus tard. Dans l'étude Flash RAS, le résultat était disponible en 24,6 jours en moyenne après la prescription et dans seulement 39,4% des cas au moment du choix de la 1^{ère} ligne. Les résultats de Flash KRAS sont similaires avec 43% des résultats disponibles au moment de la décision thérapeutique. On en déduit que le statut RAS était souvent inconnu au moment de la RCP. Pour permettre aux patients d'avoir les résultats avant l'initiation de la chimiothérapie, le temps de désarchivage et de génotypage devraient être optimisés afin de réduire au maximum le délai d'attente des résultats par le clinicien. De plus, le test devrait être prescrit le plus tôt possible dans la prise en charge du patient c'est-à-dire le jour du diagnostic des métastases. Il pourrait par exemple être envisagé d'inclure le test RAS dans le bilan pré-thérapeutique du patient afin que sa prescription devienne systématique. Dans Flash RAS, le test a été prescrit le jour même du diagnostic dans 11,8%

¹ Dans l'étude OPUS, l'augmentation de la SSP et la SG n'est pas significative mais pourrait être dû à un faible nombre de patient dans la population RAS wt. Dans les études PRIME et CRYSTAL, l'augmentation est significative.

des cas et en médiane 11,2 jours après le diagnostic. Dans 25% des cas, le test était prescrit plus de 4 semaines après le diagnostic ce qui n'est pas compatible avec une prise en charge de 1^{ère} ligne.

Pour pallier au délai d'attente des résultats, il pourrait être envisagé de tester les patients avant même le diagnostic des métastases. Dans l'étude Flash RAS, cette stratégie a été adoptée chez 13,6% des patients. Le statut RAS était par conséquent connu au moment de la RCP. Le principe du « test réflexe » consiste à effectuer le test de génotypage au moment de la résection de la tumeur primitive avant le diagnostic des métastases. Cette stratégie a pour avantage de résoudre les problèmes de délais et de matériels inexploitable (destruction du tissu dû à des problèmes de stockage, perte du bloc, etc.). Cependant, tous les patients ne développeront pas des métastases et certains tests sont inutiles engendrant des coûts non nécessaires. Le ratio cout-efficacité de cette stratégie dépend du risque de développer de futures métastases. Une étude italienne a montré que ce ratio était de 6 000 à 15 000 € par QALY pour un risque métastatique variant de 1/2 à 1/10, ce qui est dans tous les cas en dessous du seuil d'acceptabilité fixé par les autorités italiennes(24). Il pourrait être envisagé de ne tester précocement que les patients à haut risque de récurrence (tumeur pT4, haut grade histologique, occlusion intestinale ou perforation à la présentation, invasion vasculaire extramurale, invasion péri-neurale, métastases nodales) (24)(49)(50). A ce jour, il n'est pas recommandé de tester les patients avant le diagnostic des métastases.

En 2014, le délai d'obtention du compte-rendu de génotypage était en médiane de 20 jours (moyenne 24,3 +/- 17,4j). Bien que le nombre de mutations à rechercher ait augmenté, ce délai est resté le même qu'en 2011 (médiane : 19 jours, moyenne 23,6 +/-28,2j, p=0,080)(25). L'écart type à la moyenne de ce délai a été cependant réduit, ce qui montre une tendance à la standardisation.

Ce délai résulte principalement du temps de désarchivage (moyenne : 7,7 jours +/- 11,3, médiane : 4 jours) et surtout du temps de génotypage (moyenne : 18,8 jours +/- 16, médiane : 14 jours).

Le temps moyen de génotypage observé dans Flash RAS (moyenne : 18,8 jours +/- 16, médiane : 14 jours) est plus long que celui recommandé par l'INCA. Le compte-rendu devrait être envoyé au maximum 7 à 10 jours ouvrables après la réception du prélèvement par la plateforme(18). Deux hypothèses pourraient expliquer ce long délai. Premièrement, le laboratoire attend souvent de recevoir plusieurs échantillons avant de lancer une analyse. En général, une seule analyse est réalisée par semaine, ce qui allonge les délais pour les échantillons reçus en début de semaine. Deuxièmement, le test parfois réalisé en séquentiel c'est-à-dire que le laboratoire commence par tester l'exon 2 du gène KRAS (mutation la plus fréquente) chez tous les patients, puis, si le résultat est wild-type, l'analyse est réalisée sur les autres exons. Cette hypothèse semble se vérifier sur la

figure 26, où l'on peut observer deux vagues qui pourraient correspondre à l'envoi des résultats des tumeurs KRAS exon 2 muté (1^{ère} vague entre 7 et 12 jours) puis le reste des résultats wild-type ou muté sur les autres exons (2^{ème} vague entre 13 et 18 jours). Cette organisation permet de réduire le nombre de tests réalisés ainsi que les coûts mais au prix d'un délai allongé. La technique analytique ne semble pas impacter le délai. En comparaison aux résultats de 2011, le délai de génotypage était plus long et plus hétérogène qu'en 2014.

Dans 80% des cas, la plateforme était localisée en dehors du centre prescripteur mais cela n'a pas eu d'impact sur le délai global du compte rendu. Ceci a évolué depuis 2011. En effet dans l'étude Flash KRAS, il avait été montré que les délais étaient allongés. Les délais sont plus homogènes qu'en 2014.

Dans 10% des cas, le compte-rendu a été transmis seulement au laboratoire d'anatomopathologie, le pathologiste devant par la suite faire suivre le résultat au médecin. Afin de réduire les délais et fluidifier la diffusion des résultats, le compte rendu devrait être envoyé aux deux destinataires en même temps.

5.1. Les analyses médico-économiques relatives au test RAS

La personnalisation du traitement par un test biomarqueur permet de sélectionner les patients pour lesquels le traitement est le plus bénéfique, mais également de réduire les coûts. En 2012, une analyse médico-économique avait évalué les coûts du test KRAS avant l'administration des anti-EGFR en 3^{ème} ligne de traitement aux Etats-Unis et en Allemagne. Les résultats montraient qu'une meilleure sélection de la population traitée par anti-EGFR avec un test biomarqueur KRAS était une stratégie coût efficace et permettait d'économiser 3 900€ - 9 600€ par patient en Allemagne et 7 500 € - 12 400 € aux Etats Unis(51).

La réalisation des tests RAS est plus coûteuse que le test KRAS, mais une meilleure sélection de la population bénéficiant d'un traitement par anti-EGFR permet de réduire les coûts pour la société. Une récente étude américaine a montré que si le coût des tests RAS était 30 fois plus élevé que le test KRAS, le coût sociétal du test KRAS avec la thérapie serait de 1,16 milliard de dollars versus 980 millions de dollars pour le test RAS. L'extension du test KRAS permet donc d'économiser plus de 184 millions de dollars par an aux Etats Unis. Le coût d'analyse du RAS est faible en comparaison à la somme économisée en ne traitant pas les 18% de patients avec une mutation sur KRAS exons 3 et 3 et NRAS exons 2, 3 et 4(52). Néanmoins, il est difficile d'extrapoler ces résultats au système de santé français puisque les coûts de soins varient d'un pays à l'autre.

5.2. La détermination des mutations sur les gènes RAS

5.2.1. Techniques utilisées en 2014

En 2014, les techniques les plus couramment utilisées pour rechercher les mutations sur les gènes RAS sont le séquençage/pyroséquençage/snapshot et la technique HRM. Ces méthodes analytiques ont des sensibilités et spécificités différentes (53) mais, à ce jour, il n'existe aucune recommandation sur le choix de la technique. Chaque plateforme propose donc des technologies différentes.

Le choix des techniques a légèrement évolué par rapport à 2011. La technique HRM est plus utilisée qu'en 2011 (10% en 2011 contre 24% en 2014) aux dépens de la méthode de discrimination allélique (29% en 2011 contre 8% en 2014). La technique de sequencing est de plus en plus utilisée pour rechercher les mutations RAS (52% en 2011 contre 57% en 2014).

La recherche de mutation sur l'exon 4 du gène NRAS n'est pas réalisée systématiquement (62,50% versus plus de 73% sur les autres exons). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la mutation est très rare. Elle n'est observée que dans 0 à 1% des cas(7)(11)(12).

5.2.1. Qualité des analyses et des comptes rendu

En apportant une information décisive pour le choix du traitement des patients, les tests déterminant l'accès à une thérapie ciblée ont un impact thérapeutique majeur. Il est donc indispensable de s'assurer de leur qualité, afin d'éviter au maximum les faux positifs ou faux négatifs qui pourraient générer une perte de chance pour les patients ou les exposer à des effets secondaires inutiles(23).

Dans le cadre de la nouvelle loi HPST, tous les laboratoires de biologie moléculaire devront être accrédités norme ISO 15189 en 2016(54). Pour accompagner les laboratoires dans cette démarche, l'INCA a développé un programme d'évaluation externe de la qualité (EEQ). Cette campagne a permis l'évaluation qualitative d'une partie des étapes pré-analytiques (validation histologique) et des phases analytiques et post-analytiques (qualité des comptes-rendus, délai des résultats) du test KRAS en 2012 et 2013. Dans cette enquête, le résultat du génotypage a été rendu avec un taux d'erreur global de 0,6% ce qui est relativement faible. Sur 990 échantillons, 5 erreurs ont été rapportées avec des conséquences cliniques et 1 résultat était non contributif. Sur les comptes-rendus, la sensibilité de la méthode, la liste des mutations recherchée et l'interprétation des résultats étaient fréquemment manquants (23). Il existe également un programme européen appelé « Colon External Quality Assessment Scheme » qui s'assure que les tests biomarqueurs dans le cancer du colon sont précis et optimaux dans tous les pays d'Europe.

5.2.1. Les futures technologies pour la recherche de biomarqueur

5.2.1.1. Le programme NGS de l'INCA

Le choix du traitement des patients est de plus en plus orienté par le résultat de la détermination d'un panel de biomarqueurs. Un grand nombre de molécules ciblant des voies moléculaires spécifiques associées à des tests biomarqueurs sont actuellement en cours de développement. Les projections actuelles comptent sur l'introduction de quatre à cinq nouvelles thérapies ciblées chaque année. Pour faire face à la croissance importante des tests biomarqueurs, l'INCA a développé un programme d'implémentation du Séquençage de Nouvelle Génération (NGS) dans ses plateformes. Cette nouvelle technologie permet l'analyse ciblée d'un panel de gènes de manière concomitante et permet d'éviter l'approche gène par gène actuellement privilégiée. A l'horizon 2017, les 28 plateformes seront équipées de la méthode NGS et devront implémenter cette technologie en routine clinique et notamment l'utiliser pour rechercher les mutations sur les gènes KRAS, NRAS et BRAF(55)(56).

En parallèle, le séquençage à très haut débit et les solutions pour l'analyse et le stockage des données, permettent d'envisager le séquençage du génome des tumeurs dans la pratique clinique. Cette approche permet l'identification de tous les types d'anomalies présentes dans les cellules tumorales (mutations, amplifications, suppressions et translocations), et ne se limite pas aux plus fréquentes. Elle pourrait donc avoir une réelle valeur ajoutée pour les patients, par rapport à l'analyse ciblée en NGS. Il est donc probable que dans le futur, le séquençage du génome remplace le NGS et que l'approche gène par gène disparaisse(55) (cf Annexe 6).

5.2.1.2. Les tests sanguins

Des techniques de plus en plus sensibles permettent aujourd'hui de détecter de très faible quantité d'ADN dans le sang. Grâce à ces nouvelles technologies, l'ADN tumoral circulant peut être détecté dans le plasma et le sérum des patients atteint de cancer. Aujourd'hui, les mutations RAS peuvent être recherchées sur le sang avec une excellente concordance et spécificité avec le test sur tissu tumoral (métastases ou tumeur primitive)(57).

Le test sanguin, autrement appelé biopsie liquide, présente de nombreux avantages. Non invasif, il peut devenir une source alternative de matériel tumoral, lorsque le prélèvement fait défaut. Il pallie au problème d'hétérogénéité intra et inter-tumoral du test classique puisque les altérations moléculaires de la tumeur primitive et des métastases peuvent être détectées dans le sang de manière concomitante. Avec le test sanguin, le laboratoire d'anatomopathologie n'intervient plus

pour désarchiver la tumeur ce qui pourrait potentiellement réduire les délais d'obtention des résultats voire le coût. De plus, le test sur tissu tumoral donne des informations sur le statut RAS du patient à un temps « t » c'est-à-dire au moment où le matériel a été prélevé. La biopsie liquide donne des informations en temps réel sur le statut mutationnel de la tumeur.

Dans le futur, il pourrait être envisagé d'utiliser cette technique pour le suivi des changements moléculaires au cours du traitement. En effet, l'un des principaux mécanismes moléculaires de résistance secondaire aux anti-EGFR est l'émergence de mutation KRAS et NRAS (58). Avec ces nouvelles technologies ultrasensibles, l'apparition de mutation sous traitement anti-EGFR peut être détectée très tôt dans la circulation sanguine, avant même que la progression de la maladie puisse être diagnostiquée par imagerie(59)(60). Le monitoring est une application prometteuse du test RAS sanguin mais son utilisation en pratique clinique est encore à déterminer.

5.3. Les mutations RAS pourraient-elles avoir une valeur pronostique ?

La valeur prédictive des mutations RAS est aujourd'hui largement reconnue(3)(16)(17). Les anti-EGFR sont aujourd'hui contre-indiqués chez les patients avec une tumeur RAS muté(4)(5). Dans les études FIRE 3, CALG-B/SWOG 80405, CRYSTAL et PRIME, la survie globale des patients avec une tumeur RAS muté est plus courte que celle RAS wt, qu'ils soient traités par anti-EGFR + CT ou par bevacizumab + CT ou CT seule (voir annexe 7). Ces résultats pourraient suggérer que la mutation RAS soit également un facteur de mauvais pronostic. Cependant, l'analyse RAS de ces études a été réalisée de manière rétrospective. Certains patients avec une mutation RAS ont donc été traités par anti-EGFR alors ces thérapies ciblées sont inefficaces voir délétères dans cette population(9)(7)(8). Les résultats d'efficacité dans cette population sont donc biaisés. Pour déterminer si la mutation RAS est de mauvais pronostic, il faudrait comparer la survie des patients RAS wt et RAS muté chez des patients qui n'ont jamais reçu de traitement anti-EGFR.

5.4. Mutations BRAF, PTEN, PI3KCA : vers de nouveaux biomarqueurs ?

5.4.1. Les mutations BRAF dans le cancer colorectal métastatique

Entre 2009 et 2013, la prescription du test BRAF en France a été multipliée par 5 (23). Dans l'étude Flash RAS, le test BRAF était réalisé chez 82,2% des patients. Ce test est aujourd'hui réalisé en routine.

La protéine RAF est située juste en aval de la protéine RAS au sein de la voie de signalisation intracellulaire RAS/MAPK. Lorsque la mutation est présente, la protéine est capable d'activer la voie de signalisation des MAPK en aval (15). (Voir annexe 8) Il est donc possible que, similairement aux mutations RAS, les mutations BRAF puissent prédire de l'efficacité des anti-EGFR mais cette hypothèse reste aujourd'hui débattue.

De Roock W, et al. ont réalisé une étude sur 773 patients réfractaires à la chimiothérapie et traités par cetuximab pour déterminer si certaines mutations pouvaient prédire de la réponse aux anti-EGFR. Chez les patients BRAF mutés, le taux de réponse était significativement inférieur en comparaison aux BRAF wt (8,3% versus 38,0%, OR=0,15, IC95% 0,02–0,51, p=0,0012)(61)(voir annexe 9). En revanche, ces résultats ne permettent pas de déterminer si le cetuximab a un intérêt clinique chez les patients BRAF muté.

L'analyse poolée des études pivotales CRYSTAL (cetuximab + FOLFIRI vs FOLFIRI) et OPUS (cetuximab + FOLFOX vs FOLFOX) n'a pas montré de relation entre la présence d'une mutation BRAF et l'efficacité du cetuximab(14). La SG et la SSP étaient allongées dans le bras cetuximab + CT vs CT seule chez les patients présentant la mutation mais de manière non significative [(SG : 14,1 vs 9,9 mois, HR=0,62, p=0,076) ; (SSP : 7,1 vs 3,7 mois, HR=0,67, p=0,23)]. Ces résultats sont en cohérence avec l'analyse BRAF de l'étude PRIME (panitumumab + FOLFOX vs FOLFOX) qui a également montré que l'addition du panitumumab au FOLFOX allongeait la SG et SSP (NS) (7). En revanche, les données BRAF en 2^{ème} ligne sont plus hétérogènes. L'étude PICCOLO (panitumumab plus irinotécan vs irinotécan²) a mis en évidence un effet délétère du panitumumab sur la survie globale chez les patients réfractaires à la fluoropyrimidine (HR : 1,84, IC95% 1,10-3,08, p=0,029) (62). Alors que l'étude Peeters (panitumumab + FOLFIRI vs FOLFIRI) suggère un bénéfice du traitement par panitumumab + FOLFIRI vs FOLFIRI seul chez les patients BRAF muté (HR=0,64, IC 95% 0,32-1,28, p=0,20)(63).

L'efficacité des traitements anti-EGFR dans la population BRAF muté a été étudiée dans deux récentes méta-analyses. Dans la 1^{ère} méta-analyse, Pietrantonio conclut que les anti-EGFR n'augmenteraient pas le bénéfice de taux de réponse, de SG et de SSP par rapport à la CT standard ou au soin de confort chez les patients RAS wt et BRAF muté(64). Rowland et al. ont montré que l'HR du bénéfice des anti-EGFR sur la SG était de 0,97 (IC 95% : 0,67-1,41) chez les patients avec une tumeur RAS wt/BRAF mt alors que qu'il était de 0,81 (IC 95% : 0,70-0,95) chez les patients RAS

² Un 3^{ème} bras évaluait l'association irinotécan plus cyclosporine

wt/BRAFwt. Cependant, le test d'interaction n'était pas significatif ($p=0,49$)(65). Dans ces deux méta-analyses, le design des études sélectionnées est très hétérogène (différence des protocoles de chimiothérapie, comparateur, ligne de traitement, mélange d'études positives et négatives) et les résultats de survie sont très différents selon les études ce qui empêche de conclure sur la valeur prédictive de la mutation BRAF (voir annexe 10).

A ce jour, les données sont insuffisantes pour conclure définitivement que les tumeurs RAS wt/BRAF mt bénéficient moins de l'efficacité des anti-EGFR que les RASwt/BRAFwt(65). Il serait nécessaire de vérifier le rôle prédictif de la mutation BRAF dans un essai randomisé prospectif avec une population suffisamment large pour pouvoir conclure. Actuellement, il n'est pas recommandé d'utiliser la mutation BRAF pour guider la prescription d'anti-EGFR(3)(32).

L'association des anti-EGFR avec des inhibiteurs BRAF (vemurafenib, dabrafenib) est actuellement en cours d'investigation chez les patients BRAF muté(66)(67). Les premiers résultats ont montré des taux de réponse intéressants. Chez 15 patients BRAF muté, traités par vemurafenib et panitumumab, une régression tumorale a été observée chez 10 patients sur 12 évaluable et 2 patients étaient en réponse partielle (100% et 64% des régressions ont duré 40 et 24 semaines). Chez deux patients, la réponse était stable pendant plus de 6 mois (66).

5.4.2. PTEN et PI3KCA

Le gène PIK3CA encode pour la sub-unité catalytique p110 α de la protéine phosphoinositide 3-kinase (PI3K) impliquée dans la voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR de l'EGFR(68). Ce gène est muté dans 10% à 18% des cancers colorectaux. Les analyses *in vitro* ont montré que les lignées cellulaires portant la mutation PIK3CA présentaient une résistance au cetuximab en comparaison aux lignées wild-type(69). Dans les travaux de De Roock W, et al. la présence d'une mutation PI3KCA sur l'exon 20 avait un impact négatif sur la réponse aux anti-EGFR (0% versus 36,8%, OR=0,0, IC 95% 0,00-0,89, $p=0,029$). La mutation sur l'exon 9 n'avait pas d'effet significatif sur la réponse (28,6% versus 36,3 chez les wt, OR=0,65, $p=0,47$) (voir annexe 9)(61). Mais à ce jour, les résultats des études cliniques évaluant ce potentiel biomarqueur sont contradictoires (70)(71)(72)(73)(74). La mutation étant rare, les données disponibles sont issues de faible population et il est difficile de conclure.

PTEN (Phosphatase et TEnsin Homolog) est un gène suppresseur de tumeur codant pour une protéine qui inhibe la voie de signalisation PI3K-Akt. Les lignées cellulaires ayant une protéine PTEN non fonctionnelle (mutation ou perte de l'expression de la protéine) sont plus résistantes *in vitro* au

cetuximab que celles avec une expression normale de cette protéine(69). Les données in vivo disponibles montrent des résultats contradictoires(71)(75)(72)(73)(76).

Les résultats aujourd'hui disponibles sur les mutations PI3CA et PTEN sont insuffisantes et contradictoires, par conséquent aucune analyse n'est recommandée en routine à ce jour(32). Des essais cliniques prospectifs sont nécessaires pour valider ces potentiels nouveaux biomarqueurs.

5.5. Les tests biomarqueur : la perspective du patient

En 2012, une enquête multinationale s'est intéressée à la perspective des patients atteints de cancer sur les tests biomarqueurs. 811 patients atteints de cancer du sein, colorectal métastatique et du poumon ont été interrogés. Bien que la majorité des patients ait déclaré avoir été bien informé sur leur traitement, un tiers n'avait pas la notion qu'un test biomarqueur était disponible pour évaluer si un traitement anti cancéreux pouvait fonctionner sur leur cancer. De manière générale, les patients ont exprimé leur volonté de participer aux procédures de test de biomarqueur pour faciliter la personnalisation de leur traitement. 66% des patients ont déclaré qu'ils seraient favorables au report de leur traitement dans l'attente d'un test qui pourrait permettre de sélectionner un médicament plus efficace pour eux. Plus de deux tiers ont même exprimé être favorables à une nouvelle biopsie pour recevoir un tel test. Les résultats ont également confirmé que les patients souhaitent connaître toutes les options thérapeutiques disponibles pour leur cancer et voulaient être impliqués dans la décision thérapeutique.(77)

Cette enquête montre qu'il existe un besoin d'informations supplémentaires pour les patients pour leur permettre de comprendre au mieux les traitements qui leur sont administrés et les engager dans la décision thérapeutique.

CONCLUSIONS

MEMOIRE SOUTENU PAR Mlle CHOMETTE Pauline

L'association d'une thérapie anti-EGFR (cetuximab et panitumumab) à une chimiothérapie standard type FOLFOX ou FOLFIRI est l'une des options de traitement de 1^{ère} ligne dans le cancer colorectal métastatique. Jusqu'en 2013, la prescription de ces anticorps était restreinte aux patients dont la tumeur était exempte de mutation du gène KRAS (exon 2) « KRAS sauvage » puisque la présence de cette mutation confère une résistance aux thérapies anti-EGFR. Récemment, il a été mis en évidence que d'autres mutations étaient également prédictives de l'absence d'efficacité de cette classe thérapeutique. Il est aujourd'hui obligatoire de rechercher les mutations sur les gènes KRAS et NRAS (exons 2, 3 et 4) avant de pouvoir envisager un traitement par cetuximab ou panitumumab. Ce test a donc un rôle-clé dans la décision thérapeutique puisqu'il permet de déterminer si le patient est éligible à une thérapie par anti-EGFR. Tous les acteurs impliqués dans le circuit de réalisation du test (médecin prescripteur, pathologiste, plateforme de biologie moléculaire de l'Institut National du Cancer) ont dû s'adapter pour que les résultats de ce nouveau test biomarqueur soient disponibles rapidement, dans des délais compatibles avec les contraintes médicales.

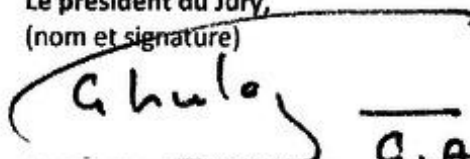
L'objectif de l'étude « Flash RAS » était de décrire les pratiques de prescription et de réalisation du test RAS (KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4) chez les patients traités en 1^{ère} ligne du cancer colorectal métastatique (CCRm) en France en 2014. Cette étude observationnelle et rétrospective fait suite à l'étude Flash KRAS qui avait décrit les modalités de recherche de mutation KRAS exon 2 en 2011.

Les résultats de l'étude montrent que le génotypage RAS est bien ancré dans les pratiques actuelles de prise en charge des patients atteints de CCRm. Le test est prescrit chez la majorité des patients traités en 1^{ère} ligne pour un cancer colorectal métastatique comme recommandé dans le Thésaurus National d'Oncologie Digestive. Toutefois, le test RAS est moins souvent prescrit chez les personnes âgées et les patients avec un faible statut ECOG. Le délai médian de réception des résultats (24 jours) n'a pas évolué par rapport à 2011 mais il semble qu'il soit plus homogène entre les plateformes bien que le nombre d'exons à rechercher ait augmenté (1 seul exon en 2011 contre 6

en 2014). Ceci témoignant de la réactivité de chaque acteur impliqué dans la prise en charge du patient pour le déploiement d'un nouveau test biomarqueur. Néanmoins, ce délai demeure trop long car seulement 40% des résultats du test sont disponibles au moment de la décision thérapeutique. Le test devrait être prescrit le plus tôt possible dans la prise en charge du patient, c'est-à-dire au moment du diagnostic des métastases. Il pourrait même être suggéré de modifier les recommandations de l'INCA afin de permettre de prescrire le test avant même le stade métastatique si le patient est à haut risque de récurrence. Enfin, la durée de génotypage devrait être optimisée car elle est actuellement plus longue que celle recommandée par l'INCA et en augmentation par rapport à 2011, probablement en raison de la mise en œuvre des technologies de séquençage à haut débit (NGS). Dans ce contexte, une évolution importante est attendue et la mise en œuvre de nouvelles technologies ultra-sensibles recherchant les mutations RAS directement dans le sang, permettra probablement de réduire les délais car le désarchivage de la tumeur ne sera plus nécessaire. Ces technologies sont également prometteuses pour la recherche de mutations RAS acquises sous traitement anti-EGFR.

Le choix des traitements en oncologie est de plus en plus orienté par l'analyse d'un panel de biomarqueur et la prescription des tests biomarqueurs est en augmentation constante. Au-delà des mutations RAS, les mutations BRAF, PTEN, PI3KCA sont actuellement en cours d'évaluation pour déterminer si elles pourraient prédire une résistance aux anti-EGFR. Cependant, les données actuellement disponibles sont insuffisantes pour recommander leur utilisation dans le choix thérapeutique. Il est fortement probable que l'approche gène par gène disparaisse petit à petit pour laisser place aux technologies NGS puis au séquençage complet du génome de la tumeur. Les plateformes de biologie moléculaire doivent s'organiser pour faire face à cette demande.

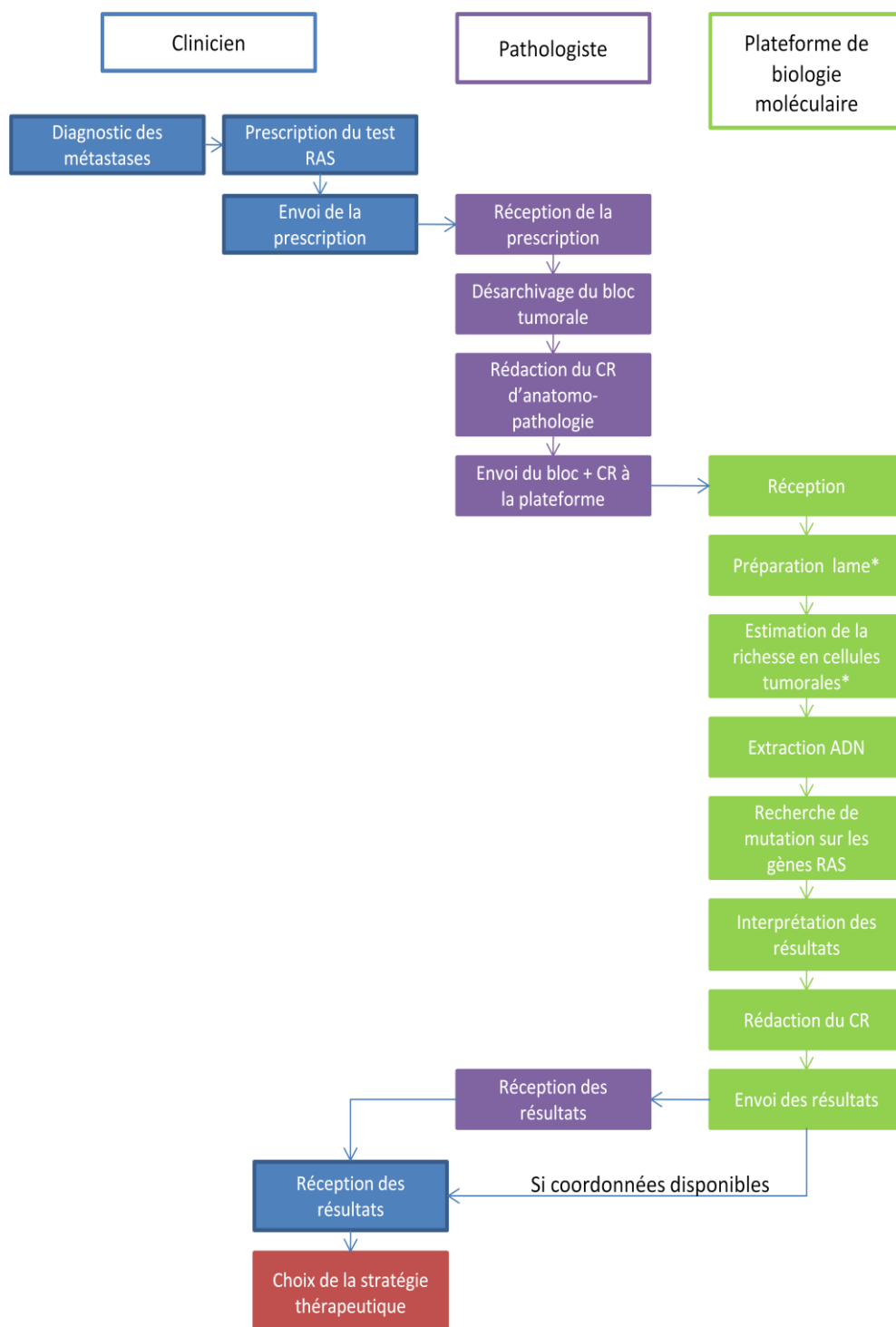
Le président du Jury,
(nom et signature)


VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Lyon, le


Vu, La Directrice de l'ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon
Pour le Président de l'Université Claude Bernard


Professeur Christine VINCIGUERRA

ANNEXE 1: Circuit de prescription et de réalisation du test RAS



* Ces étapes peuvent être réalisées par la pathologiste

ANNEXE 2 : Exemple d'une fiche de prescription du test RAS et BRAF

PRESCRIPTION DE GENOTYPAGE RAS ET / OU BRAF (traitement anti-EGFR): CANCER DU COLON

A COMPLETER PAR LE MEDECIN PRESCRIPTEUR DE L'EXAMEN ET A ENVOYER AU MEDECIN PATHOLOGISTE EN POSSESSION DU PRELEVEMENT TUMORAL DU MALADE

| |
|---------------------------------|
| Identification du Malade |
| NOM : |
| PRENOM : |
| DATE DE NAISSANCE : |

Date de la demande du test : RAS (KRAS+NRAS) ☐ / /
 BRAF ☐ / /

Matériel tumoral à analyser : Biopsie ☐
 Résection chirurgicale ☐

| |
|--|
| Identification MEDECIN PRESCRIPTEUR |
| NOM /COORDONNEES : |
| Tel : |
| Fax : |

Date de prélèvement : / /
 Remarque :

A COMPLETER PAR LE PATHOLOGISTE ACCOMPAGNEE :

1. Du prélèvement tumoral (1 fragment de tumeur fixée et incluse en paraffine ou congelée/ choisir un bloc riche en cellules tumorales).
2. De cette fiche de prescription remplie.
3. Du compte-rendu anapath.

ET A ENVOYER AU LABORATOIRE REALISANT LE GENOTYPAGE KRAS, A L'ADRESSE SUIVANTE :



PAS DE FIXATION BOUIN, ni fixateur à base d'acide picrique. Eviter AFA.

| |
|---|
| Identification PATHOLOGISTE REFERENT (détenteur du matériel tumoral) |
| NOM/COORDONNEES : |
| TEL : |
| FAX : |

MATERIEL TUMORAL TRANSMIS :

N° examen anapath + n° du bloc :
 Tumeur primitive ☐ Métastases ☐ : Hépatiques ☐
 Pulmonaires ☐
 Autres :
 Tissu congelé OUI ☐ NON ☐
 - Enregistrement en Tumorothèque OUI ☐ NON ☐
 - Si oui préciser le n° :
 Bloc fixé en paraffine OUI ☐ NON ☐
 Préciser le fixateur (indispensable):

ANNEXE 3 Fiche d'information du patient

Madame, Monsieur,

Votre médecin participe à une étude nationale concernant le cancer colorectal, dont le promoteur est le laboratoire MERCK SERONO. L'objectif est de réaliser un état des lieux en France en 2014 sur la prescription des tests de génotypage des marqueurs dans cette maladie. C'est pourquoi votre médecin vous propose de participer à cette étude.

Actuellement l'attitude standard pour le traitement du cancer dont vous souffrez consiste à proposer une chimiothérapie. Des traitements ciblés, axés sur de nouvelles substances comme des anticorps monoclonaux dirigés contre le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), ont récemment montré leur intérêt en association à cette chimiothérapie.

Dans le but de prévenir la croissance et la division de cellules cancéreuses, les traitements anti-EGFR ont été mis au point pour inhiber l'activation de ce récepteur. Bien qu'il s'agisse d'une véritable innovation dans le traitement du cancer colorectal, tous les cancers ne réagissent pas aux traitements anti-EGFR en raison de mutations des gènes « RAS ». Chez les patients présentant une tumeur exprimant des gènes mutés, les cellules cancéreuses continuent de recevoir des messages les incitant à croître et à se diviser malgré le traitement anti-EGFR.

Il est donc important d'établir si les patients sont porteurs de gènes mutés ou non avant d'envisager un traitement par anticorps monoclonal anti-EGFR.

Une fois que votre médecin a décidé de procéder à la recherche de ces mutations, c'est à partir de l'un des blocs comportant une partie de votre tumeur que le génotypage sera effectué. Les résultats des tests sont ensuite transmis à votre médecin dans un délai de quelques semaines.

L'objectif de cette étude est de décrire les pratiques actuelles concernant la recherche de mutation des gènes RAS chez les patients ayant le même diagnostic de cancer que vous.

Environ 400 médecins en France participeront à ce projet avec des données concernant environ 1100 malades.

Cette étude sera réalisée de façon rétrospective et ne nécessitera donc aucune visite ou examen particulier. A partir des données figurant dans votre dossier médical, votre médecin reportera sur un

questionnaire votre âge, vos antécédents médicaux, les données concernant votre cancer, la chimiothérapie et les autres traitements reçus.

Il notera si une recherche de mutation a été réalisée au niveau de la biopsie de votre tumeur et ce qui a été décidé pour votre traitement en fonction des résultats. Il fournira avec le questionnaire le compte-rendu du génotypage mais de façon anonymisée. Votre participation ne se prolongera pas au-delà de la collecte de ces données.

Vous êtes bien sur totalement libre de refuser que les données de votre dossier médical soient utilisées pour cette étude. Ni votre relation avec votre médecin, ni les soins qui vous seront prodigués ne souffriront de votre éventuel refus.

Les informations recueillies resteront confidentielles. Elles seront informatisées afin de pouvoir procéder à un traitement statistique des données. Les utilisateurs (AXONAL qui est la société chargée de la réalisation de l'étude, et MERCK SERONO, promoteur de cette étude) n'auront accès qu'à des données anonymes, seul votre médecin connaissant votre identité. Le fichier informatique utilisé pour réaliser la présente recherche a fait l'objet d'une autorisation de la CNIL (Commission Nationale Informatique & Libertés) en application des articles 40-1 et suivants de la loi Informatique & Libertés.

Conformément à la loi 78.17 du 6 janvier 1978 (chapitre V) modifiée par la loi 2004-801 du 6 août 2004 et aux recommandations de la CNIL, vous bénéficiez d'un droit d'opposition à la collecte et au traitement des données vous concernant, en vous adressant à votre médecin.

Nous vous remercions par avance de votre participation éventuelle à cette étude.

Les membres du Comité Scientifique,

Les représentants du Promoteur Merck-Serono,

Les représentants de l'équipe en charge de l'étude.

ANNEXE 4: Donnée d'efficacité des anti-EGFR en 1^{ère} ligne de traitement du cancer colorectal métastatique chez les personnes âgées

Méta-analyse CRYSTAL et OPUS :

| | < 70 ans | | ≥ 70 ans | |
|-------------------------|-------------|--------------------------|------------|------------------------|
| | CT N=380 | CT + cetuximab N= 320 | CT N=67 | CT + cetuximab N=78 |
| Réponse tumorale | 38,4% | 59,1% | 38,8% | 50,0% |
| | p<0,0001 | | p=0,23 | |
| Survie Globale | 20,2 mois | 23,6 mois | 15,1 mois | 23,3 mois |
| | p=0,0082 | | p=0,38 | |
| Survie Sans Progression | 7,7 mois | 10,0 mois | 7,2 mois | 8,9 mois |
| | p<0,0001 | | P=0,78 | |

Tableau 14 Résultats d'efficacité de la chimiothérapie versus chimiothérapie associée au cetuximab selon le groupe d'âge des patients KRAS wt dans la méta-analyse des études CRYSTAL et OPUS(35)

Etude PRIME :

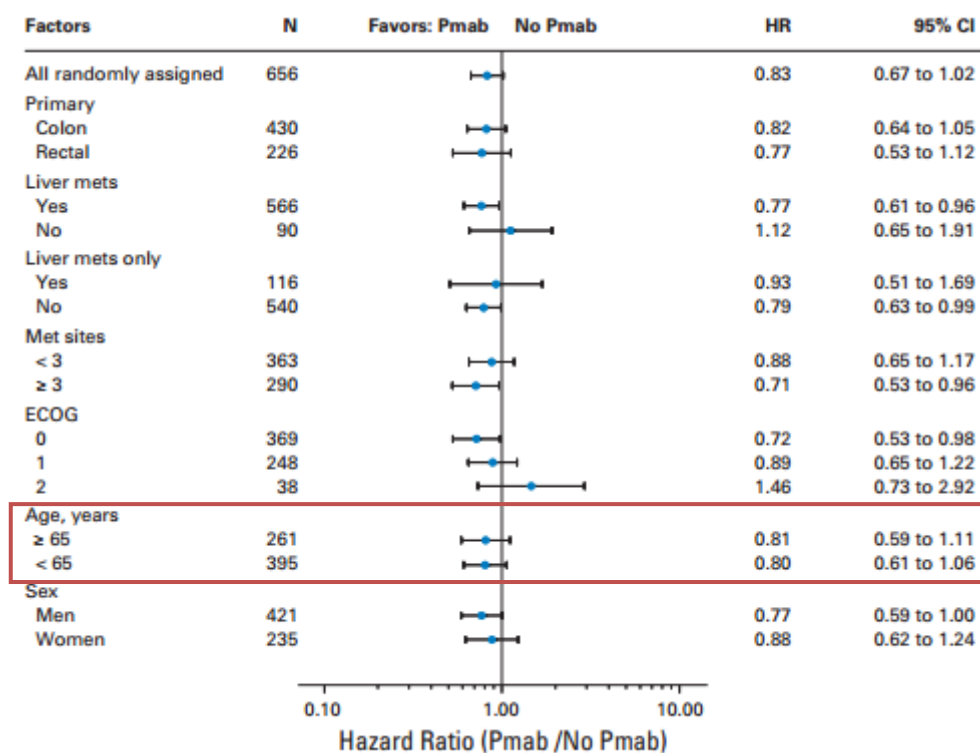
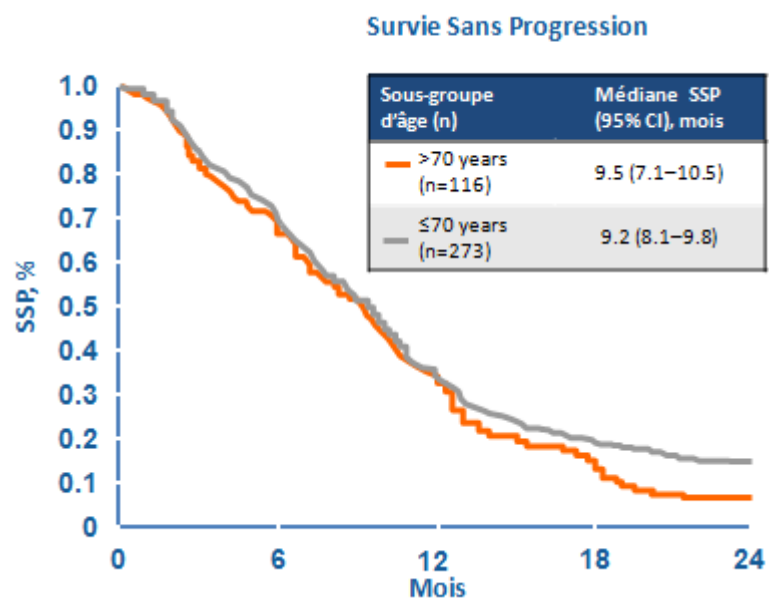


Figure 31 Analyse en sous-groupe de la survie globale du panitumumab versus panitumumab + FOLFOX chez les patients KRAS wt(36)

Figure 32 Courbe de la survie sans progression selon le groupe d'âge (< ou ≥ 70 ans) chez les patients KRAS wt traités par cetuximab en association à la chimiothérapie en 1^{ère} ligne du CCRm(37)



ANNEXE 5: Résultats de survie globale dans les essais cliniques comparant l'association des anti-EGFR à la chimiothérapie versus chimiothérapie seule ou anti-VEGF plus chimiothérapie

| Essai clinique | Survie Globale (mois) Hazard Ratio ; p value | |
|---|---|--------------------------------------|
| | | |
| Etude CRYSTAL (Phase III) (critère secondaire)(8) | Cetuximab + FOLFIRI (n=178) | FOLFIRI (n=189) |
| | 20,2 | 28,4 |
| | HR=0,69 ; p=0,0024 | |
| Etude OPUS (Phase II) (critère secondaire)(9) | Cetuximab + FOLFOX (n=38) | FOLFOX (n=49) |
| | 19,8 | 17,8 |
| | HR=0,94 ; p=0,80 | |
| Etude PRIME (Phase III) (critère secondaire)(7) | Panitumumab + FOLFOX (n=79) | FOLFOX (n=86) |
| | 25,8 | 20,2 |
| | HR=0,77 ; p=0,009 | |
| Etude FIRE 3 (Phase III) (critère secondaire)(11) | Cetuximab + FOLFIRI (n=199) | Bevacizumab + FOLFIRI (n=201) |
| | 33,1 | 25,0 |
| | HR=0,70 ; p=0,0059 | |
| Etude CALG-B/SWOG 80405 (Phase III) (critère principal) (39) | Cetuximab + CT (n=270) | Bevacizumab + CT (n=256) |
| | 32,0 | 31,2 |
| | HR=0,9 ; p=0,40 | |
| Etude PEAK Phase II (critère secondaire)(78)* | Panitumumab + FOLFOX (n=88) | Bevacizumab + FOLFOX (n=82) |
| | 28,9 | 41,3 |
| | HR=0,63 ; p=0,06 | |

*les données immatures (34% des événements dans le bras panitumumab et 49% dans le bras bevacizumab)

Tableau 15 Médiane de survie globale retrouvées dans les études comparants les anti-EGFR +CT à la CT seule ou à un traitement anti-VEGF+CT chez les patients RAS wt

Méta-analyse comparant l'efficacité des anti-EGFR + CT et les anti-VEGF + CT en 1ère ligne de traitement du CCRm chez les patients RAS wt :

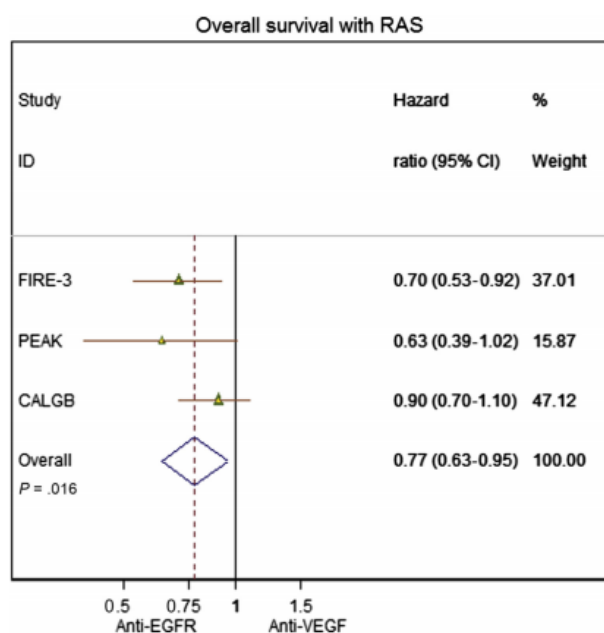


Figure 33 Forest Plot représentant la survie globale chez les patients RAS wt traités par anti-EGFR + CT ou anti-VEGF + CT en 1^{ère} ligne du CCRm (47)

ANNEXE 6: Évolution envisagée du séquençage extensif du génome tumoral d'ici la fin du Plan cancer

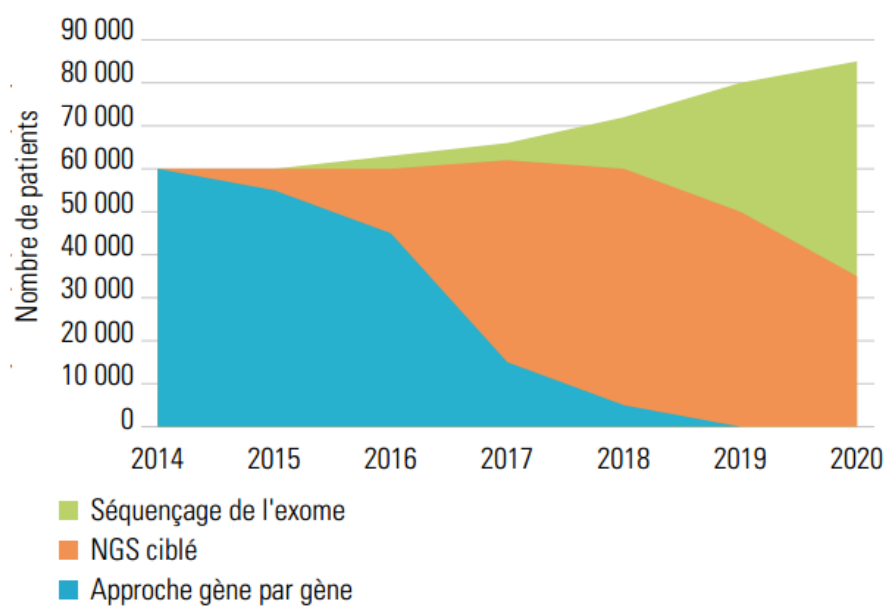


Figure 34 Évolution envisagée pour le séquençage extensif du génome tumoral d'ici la fin du Plan cancer(55)

ANNEXE 7 : Données de survie globale des essais cliniques de phase III évaluant les traitements de 1^{ère} ligne du CCRm et suggérant un effet pronostic de la mutation RAS

| Essai | Bras | N | SG médiane (mois) IC 95% | HR (IC 95%) p | Evnt | SG médiane (mois) IC 95% | HR IC 95% p |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------------|------|--------------------------------|--------------------------------|
| | | RAS wt* | | | | New RAS mt** | |
| CALGB/ SWOG 80405 | Cet + FOLFOX/ FOLFIRI | 270 | 32.0 (27.6–38.5) | 0.9 (0.7–1.1) p=0.40 | 53 | 28.7 (20.2–34.7) | 0.74 (0.4–1.1) p=0.21 |
| | Bev + FOLFOX/ FOLFIRI | 256 | 31.2 (26.9–34.3) | | 42 | 22.3 (15.3–29.0) | |
| FIRE-3 | Cet + FOLFIRI | 199 | 33.1 (24.5–39.4) | 0.697 (0.54–0.90) p=0.0059 | 97 | 20.2 (16.4–23.4) | 1.05 (0.77–1.44) p=0.75 |
| | Bev + FOLFIRI | 201 | 25.0 (23.0–28.1) | | 91 | 20.6 (17.1–26.3) | |
| | | RAS wt* | | | | RAS mt*** | |
| CRYSTAL | Cet + FOLFIRI | 178 | 28,4 (24,7 – 31,6) | 0,69 (0,54-0,88) p=0,0024 | 246 | 16,4 (14,9 – 18,4) | 1,05 (0,86-1,26) P=0,64 |
| | FOLFIRI | 189 | 20,2 (17,0 – 24,5) | | 214 | 17,7 (15,4-19,6) | |
| PRIME | Pani + FOLFOX | 259 | 25,8 (21,7-29,7) | 0,77 (0,64-0,94) p=0,009 | 272 | 15,5 (13,4-17,9) | 1,21 (1,01-1,45) p=0,001 |
| | FOLFOX | 253 | 20,2 (17,6-23,6) | | 276 | 18,7 (16,5-21,5) | |
| | | RASwt/BRAF wt [†] | | | | RAS mt/BRAF wt [‡] | |
| TRIBE | Bev + FOLFIRI | 129 | 34.4 | 0.84 (0.51–1.38) | 218 | 23.1 | 0.86 (0.61–1.23) |
| | Bev + FOLFOXIRI | | 41.7 | | | 28.6 | |

Cet : cetuximab ; Bev : bevacizumab ; Pani : panitumumab ; Evnt : Nombre d'événement ; *Aucune mutation sur KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4 ; **KRAS exon 2 wt avec une mutation sur KRAS exons 3, 4 ou NRAS exons 2, 3 et 4 ; ***au moins une mutation sur KRAS et NRAS exons 2, 3 et 4 ; [†]Aucune mutation sur KRAS codons 12, 13, 61 ou BRAF codon 600 ; [‡]Mutation sur KRAS/NRAS codons 12, 13 ou 61

Tableau 16 Analyse des résultats de survie globale selon le statut RAS dans les études de phase III évaluant les traitements de 1^{ère} ligne du CCRm

ANNEXE 8: Voie de signalisation de l'EGFR

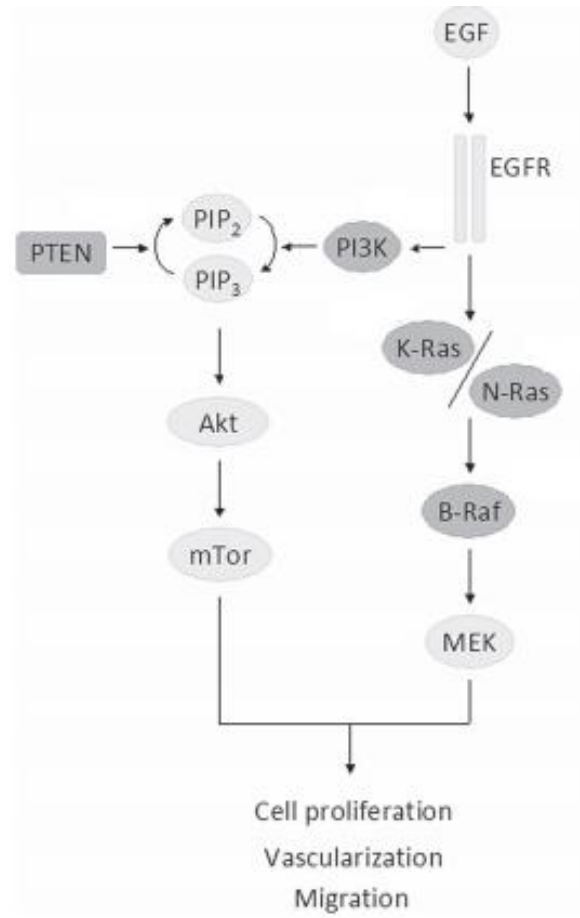
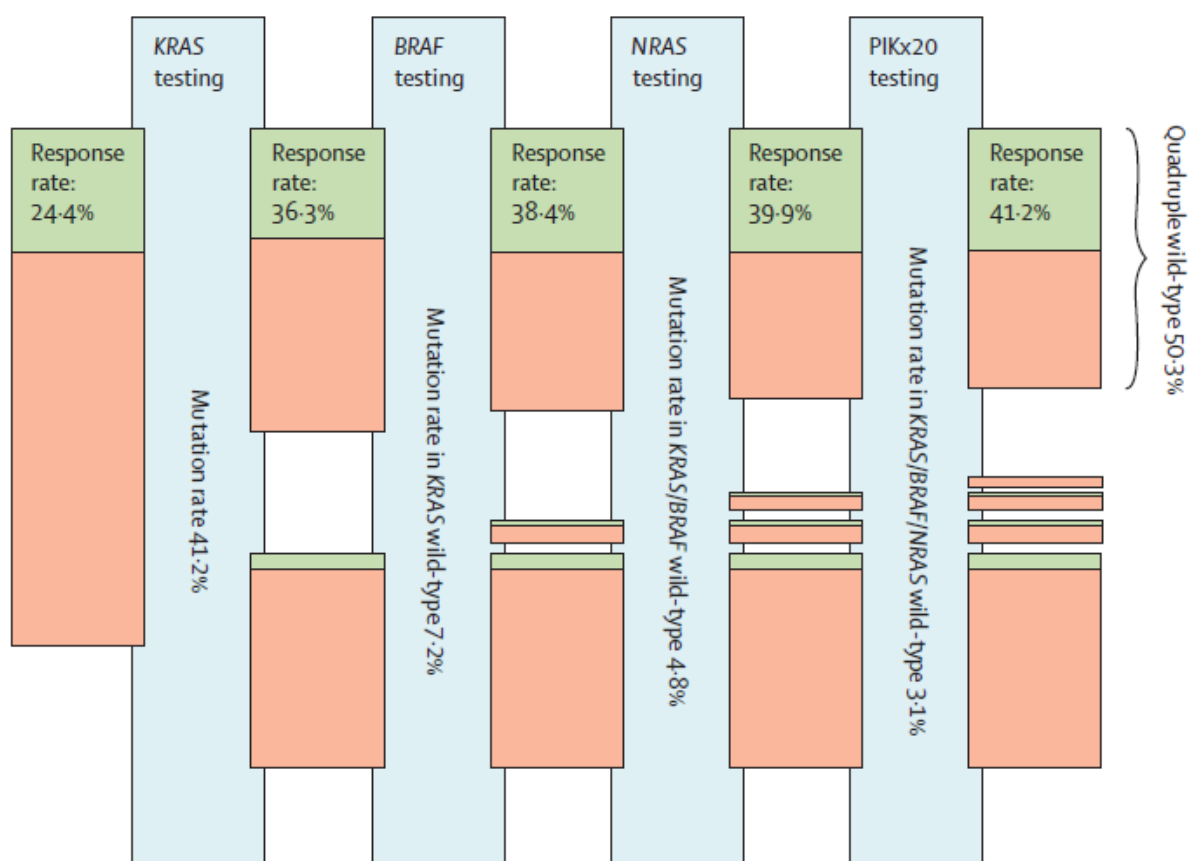


Figure 35 Voie de signalisation de l'EGFR avec les gènes d'intérêt en gris (73)

ANNEXE 9: Amélioration de la prédiction de la réponse au cetuximab par détermination du statut mutationnel des gènes KRAS, NRAS et PI3KCA



Les barres vertes représentent les répondeurs, les barres orange les non-répondeurs. Les barres de la partie inférieure représentent les tumeurs mutées, celles du dessus les tumeurs wild-type. La taille des barres correspond au pourcentage de réponse. PI3Kx20=PIK3CA exon 20

Figure 36 Amélioration de la prédiction de la réponse au cetuximab par détermination du statut mutationnel des gènes KRAS, NRAS, BRAF et PIK3CA(61).

ANNEXE 10: Données d'efficacité des anti-EGFR selon le statut BRAF

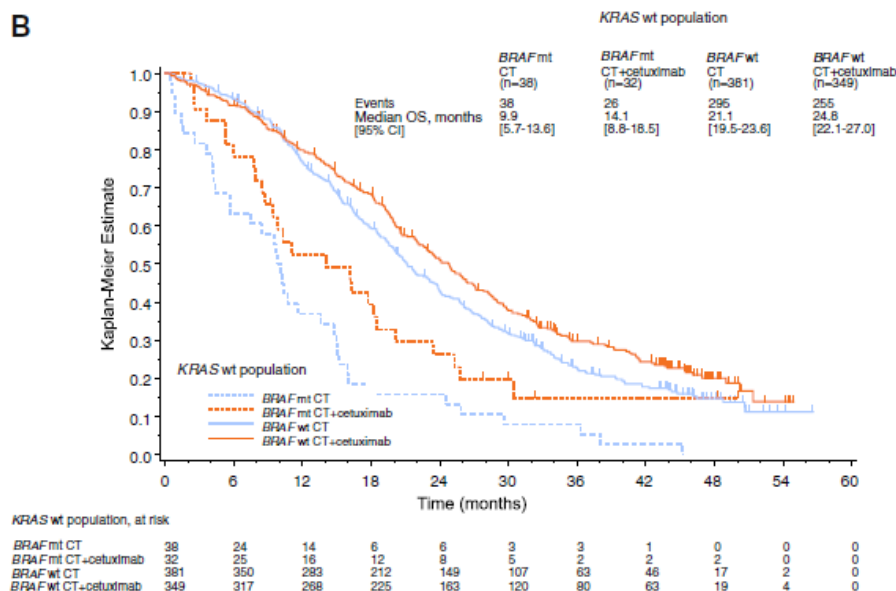


Figure 37 Courbe de survie globale selon le statut mutationnel BRAF dans l'analyse poolée des études CRYSTAL et OPUS évaluant l'association cetuximab + CT versus CT chez les patients KRAS wt(14)

| | RAS wt / BRAF wt | | RAS wt / BRAF mt | |
|-----------------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------|
| | panitumumab + FOLFOX (n=228) | FOLFOX (n=218) | panitumumab + FOLFOX (n=24) | FOLFOX (n=29) |
| SG médiane en mois (IC 95%) | 28,3 (23,7 – NA) | 20,9 (18,4 – 23,8) | 10,5 (6,4-18,9) | 9,2 (8,0 – 15,7) |
| HR (IC 95%) p value | 0,74 (0,57-0,96) 0,02 | | 0,90 (0,46-1,76) 0,76 | |

Tableau 17 Résultats de survie globale selon le statut BRAF chez les patients traités par panitumumab + FOLFOX versus FOLFOX seul (étude PRIME) (7)

| | RAS wt / BRAF wt (n=376) | | RAS wt / BRAF mt (n=45) | |
|------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------|
| | panitumumab + FOLFIRI | FOLFIRI | panitumumab + FOLFIRI | FOLFIRI |
| SG médiane en mois (IC | 18,7 (15,7 - 20,3) | 15,4 (13,0 – 17,9) | 5,7 (3,5 – 7,3) | 4,7 (2,8 – 9,0) |

| | | | | |
|----------|--|---------------|--|---------------|
| 95%) | | | | |
| HR | | 0,83 | | 0,64 |
| (IC 95%) | | (0,64 – 1,07) | | (0,32 – 1,28) |
| p value | | p=0,15 | | p=0,20 |

Tableau 18 Résultats de survie globale selon le statut BRAF chez les patients traités en 2^{ème} ligne par panitumumab + FOLFIRI vs FOLFIRI dans l'étude Peeters (20050181)(63)

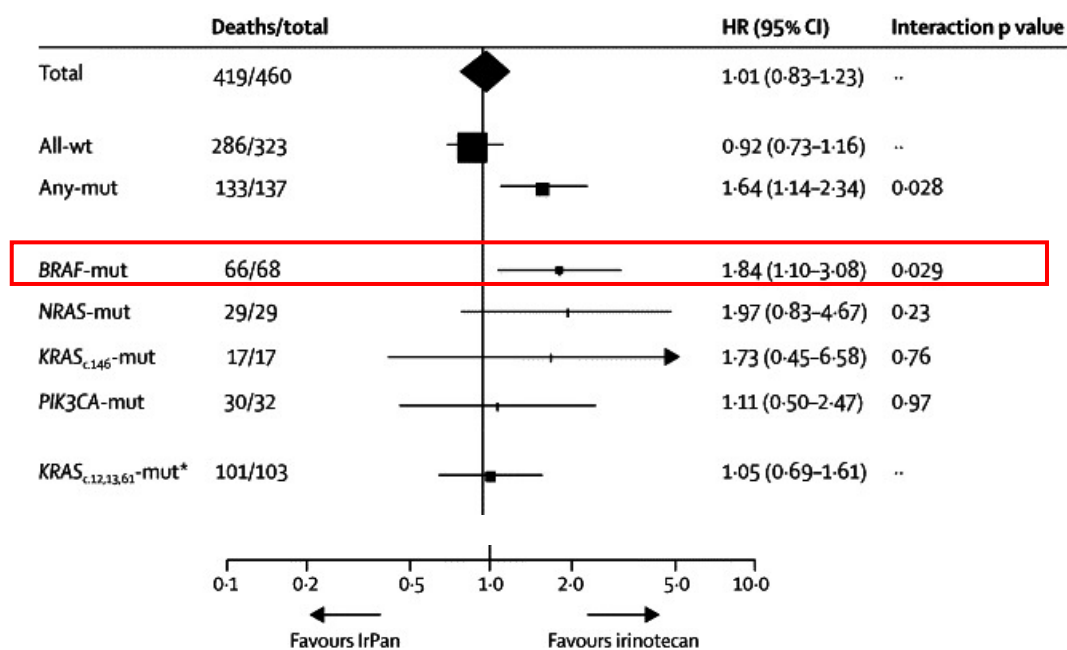
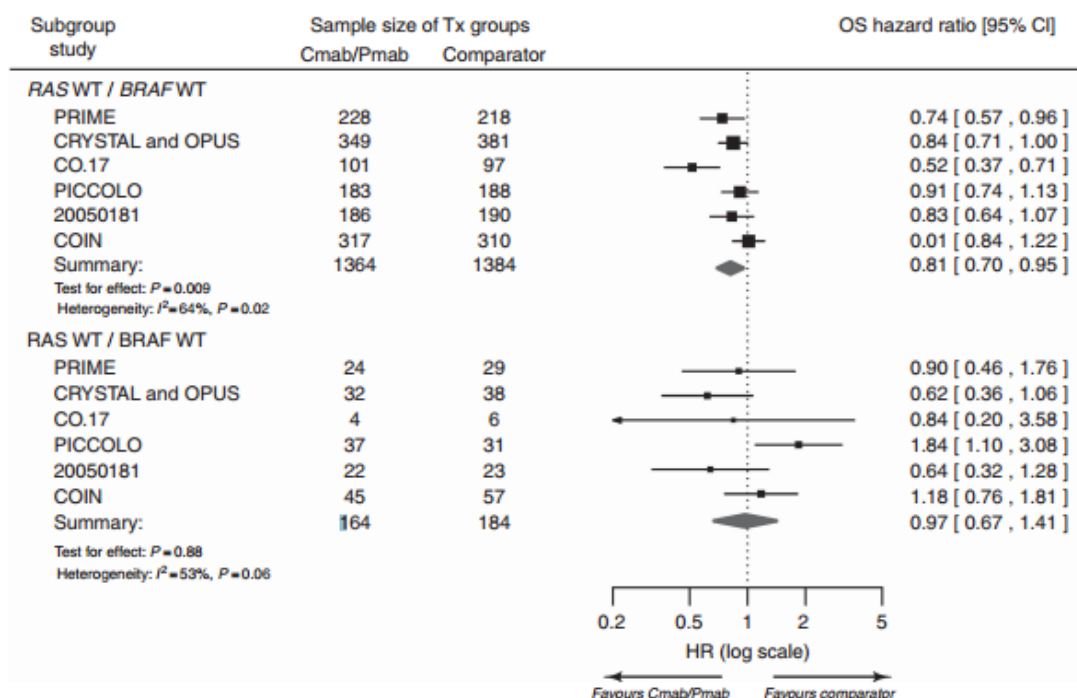


Figure 38 Analyse en sous groupe de la survie globale chez les patients traités par irinotécan + panitumumab versus irinotécan seul (Etude PICCOLO) (62)



* Dans le 2^{ème} forest plot, l'analyse a été réalisée dans la population RAS WT /BRAF MT et non pas BRAF wt comme indiqué dans la publication

Figure 39 Forest plot du bénéfice de survie globale avec les anti-EGFR pour les sous groupes des mutations RAS and BRAF(65)

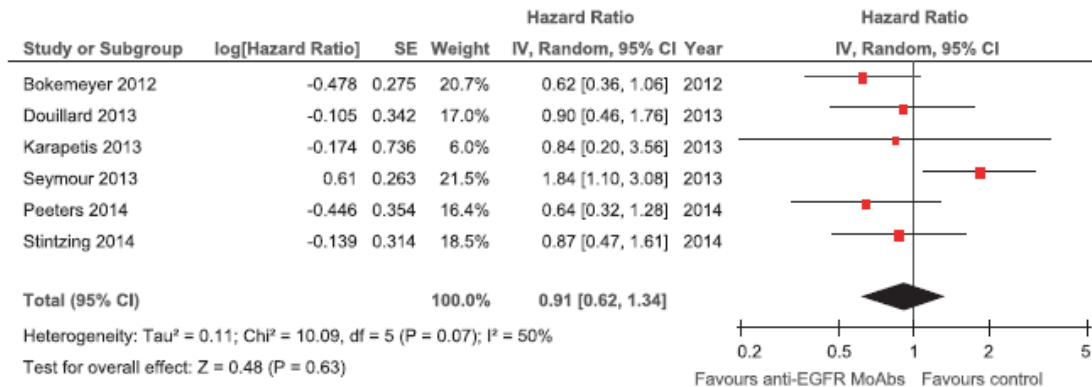


Figure 40 Forest plot de la méta-analyse Pietrantonio présentant le bénéfice de survie globale des anti-EGFR chez les patients KRAS wt /BRAF mt(64)

BIBLIOGRAPHIE

1. Institut National du Cancer. Les cancers en France. www.e-cancer.fr/publications/69-epidemiologie/758-les-cancers-en-france-edition-2013, consulté le 15 mai 2015.
2. Institut National du Cancer. Les traitements du cancer du colon. www.e-cancer.fr/dmddocuments/Guide-traitements-cancer-du-colon.pdf, consulté le 15 mai 2015
3. Société Nationale Française de Gastro-Entérologie. Thésaurus national de cancérologie digestive : le cancer colorectal métastatique. www.tncc.org, consulté le 15 juin 2015.
4. EMA. Résumé des Caractéristiques du Produit ERBITUX. http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000558/WC500029119.pdf, consulté le 15 juin 2015.
5. EMA. Résumé des Caractéristiques du Produit VECTIBIX. www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000741/WC500047710.pdf, consulté le 15 juin 2015
6. Lièvre A, Bachet J-B, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile J-F, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res.* 2006 Apr 15;66(8):3992–5.
7. Douillard J-Y, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2013 Sep 12;369(11):1023–34.
8. Van Cutsem E, Lenz H-J, Köhne C-H, Heinemann V, Tejpar S, Melezínek I, et al. Fluorouracil, Leucovorin, and Irinotecan Plus Cetuximab Treatment and RAS Mutations in Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2015 Mar 1;33(7):692–700.
9. Bokemeyer C, Köhne C-H, Ciardiello F, Lenz H-J, Heinemann V, Klinkhardt U, et al. FOLFOX4 plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 2015 Apr 30.
10. Lièvre A. Mutations du gène KRAS et réponse aux anticorps anti-EGFR dans les cancers colorectaux : ce qu'il faut retenir. *Lett Hépatogastroentérologie.* 2010 Nov;13(6):192–5.
11. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran S-E, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014 Sep;15(10):1065–75.
12. Ciardiello F, Lenz H-J, Köhne C-H, Heinemann V, Tejpar S, Melezínek I. Treatment outcome according to tumor RAS mutation status in CRYSTAL study patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) randomized to FOLFIRI with/without cetuximab. *J Clin Oncol.* 2014;32:5s(Suppl; abstr 3506).

13. Wan PTC, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell*. 2004 Mar 19;116(6):855–67.
14. Bokemeyer C, Van Cutsem E, Rougier P, Ciardiello F, Heeger S, Schlichting M, et al. Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical trials. *Eur J Cancer*. 2012 Jul;48(10):1466–75.
15. Lièvre A. Cancer colorectal BRAF muté : nouvelles stratégies thérapeutiques. *Hepato-Gastro Oncol Dig*. 2014;21(10):821–3.
16. Van Cutsem E, Cervantes A, Nordlinger B, Arnold D, ESMO Guidelines Working Group. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2014 Sep;25 Suppl 3:iii1–9.
17. National Comprehensive Cancer Network. Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN guidelines), Colon Cancer, Version 2. www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf, consulté le 17 juillet 2015.
18. Institut National du Cancer. Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides. www.e-cancer.fr/component/docman/doc_download/9521-bonnes-pratiques-pour-la-recherche-a-visee-theranostique-de-mutations-somatiques-dans-les-tumeurs-solides, consulté le 16 juillet 2015.
19. Hofman V, Ilie M, Gavric-Tanga V, Lespinet V, Mari M, Lassalle S, et al. Role of the surgical pathology laboratory in the pre-analytical approach of molecular biology techniques. *Ann Pathol*. 2010 Apr;30(2):85–93.
20. Bibeau F, Frugier H, Denouel A, Sabourin J-C, Boissiere-Michot F. Technical considerations for KRAS testing in colorectal cancer. The pathologist's point of view. *Bull Cancer (Paris)*. 2009 Dec;96 Suppl:S15–22.
21. Institut National du Cancer. Synthèse de l'activité des plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers en 2012, en vue d'optimiser leur évolution. www.e-cancer.fr/publications/59-recherche/757-synthese-de-lactivite-des-plateformes-hospitalieres-de-genetique-moleculaire-des-cancers-en-2012-en-vue-doptimiser-leur-evolution, consulté le 20 septembre 2015.
22. circulaire N°DGOS/R5/2010/325 du 3 septembre 2010 relative aux règles de recueil et de facturation des actes de biologie et d'anatomo-pathologie hors nomenclature, réalisés en cancérologie, http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/circulaire_325_030910.pdf, consulté le 18 mars 2015.
23. Institut National du Cancer. Plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers: faits marquants et synthèses d'activités 2013. www.e-cancer.fr/publications/59-recherche/810-

plateformes-hospitalieres-de-genetique-moleculaire-des-cancers-faits-marquants-et-synthese-dactivite-2013, consulté le 8 avril 2015.

24. Barone C, Pinto C, Normanno N, Capussotti L, Cognetti F, Falcone A, et al. KRAS early testing: consensus initiative and cost-effectiveness evaluation for metastatic colorectal patients in an Italian setting. *PloS One*. 2014;9(1):e85897.
25. Lièvre A, Artru P, Guiu M, Laurent-Puig P, Merlin JL, Sabourin JC, et al. The KRAS mutation detection within the initial management of patients with metastatic colorectal cancer: a status report in France in 2011. *Eur J Cancer*. 2013 Jun;49(9):2126–33.
26. Lapeyrere N, Mathoulin-Pélissier S, Merlio J-P, Rullier A, Belleannée G, LeBail B, et al. KRAS analysis management: Process and delays. *Ann Pathol*. 2012 Apr;32(2):81–90.
27. Bibeau F, Louvet C, Afchain P, Mitry E, Artru P, André T. Observational study on conditions for access to the analysis of KRAS mutation in patients with metastatic colorectal cancer receiving panitumumab treatment. *Bull Cancer (Paris)*. 2012 Aug;99(7-8):743–51.
28. Penault-Llorca F. Biomarqueurs en cancérologie: attentes et perspectives. Quelles types de réponses peuvent apporter les centres de ressources biologiques ? Les rencontres de la cancérologie française 2009. 15 et 16 décembre 2008. Cité Universitaire Internationale de Paris. Paris : France.
29. Ciardiello F, Tejpar S, Normanno N, Mercadante D, Teague T, Wohlschlegel B, et al. Uptake of KRAS mutation testing in patients with metastatic colorectal cancer in Europe, Latin America and Asia. *Target Oncol*. 2011 Sep;6(3):133–45.
30. Ahid S. La pharmacoépidémiologie : bases réglementaires, approches méthodologiques et champ d'application. *East Mediterr Health J*. 2012;18(1):85–93.
31. Directive 2001/20/CE du parlement européen et du conseil du 4 avril 2001 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à l'application de bonnes pratiques cliniques dans la conduite d'essais cliniques de médicaments à usage humain (JO L 121. 1 mai 2001: 34).
32. Ashraf. Predictive Biomarkers for Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Therapy: Beyond KRAS Testing. *J Natl Comp Canc Netw*. 2014;12:1433–42.
33. Dotan E, Browner I, Hurria A, Denlinger C. Challenges in the management of older patients with colon cancer. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. 2012 Feb;10(2):213–24; quiz 225.
34. Landre T, Uzzan B, Nicolas P, Aparicio T, Zelek L, Mary F, et al. Doublet chemotherapy vs. single-agent therapy with 5FU in elderly patients with metastatic colorectal cancer. a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2015 Jun 23;
35. Folprecht G, Köhne C-H, Bokemeyer C, Rougier P, Schlichting M, Heeger S, et al. Cetuximab and 1st line chemotherapy in elderly and younger patients with metastatic colorectal cancer: a pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS studies. *Ann Oncol*. 2010;21 (Suppl 8).

36. Douillard J-Y, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol*. 2010 Nov 1;28(31):4697–705.
37. Fourrier-Réglat. ICPE. 2015;Abstr No 5423.
38. Saltz LB. Progress in cancer care: the hope, the hype, and the gap between reality and perception. *J Clin Oncol*. 2008 Nov 1;26(31):5020–1.
39. Lenz H-J. CALGB/SWOG 80405: phase III trial of FOLFIRI or mFOLFOX6 with bevacizumab or cetuximab for patients with expanded RAS analyses untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum. *Ann Oncol*. 2014;(25(suppl 5)):v1–41.
40. Pericay C. Phase 2 randomized, non comparative, open label study of aflibercept and modified FOLFOX 6 in the first line treatment of metastatic colorectal cancer (AFFIRM). *Ann Oncol*. 2012;23(suppl 4)(iv16).
41. Karthaus M. Updated overall survival analysis of novel predictive KRAS/NRAS mutations beyond KRAS exon 2 in PEAK: a 1st line phase 2 study of FOLFOX6 plus panitumumab or bevacizumab in mCRC. *Eur J Cancer*. 2013;49 (suppl 2)(s516).
42. Langer C. Analysis of KRAS mutations in patients with metastatic colorectal cancer receiving cetuximab in combinaison with irinotécan: results from EPIC trial. *Ann Oncol*. 2008;19 (suppl8)(viii133).
43. Cohn. SPIRITT: A randomized phase II study of FOLFIRI with either panitumumab or bevacizumab as second line treatment in patients with wilde type KRAS mCRC. *J Clin Oncol*. 2013;31(suppl)(abstr 3616).
44. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2013 Jan 26;381(9863):303–12.
45. Price TJ, Peeters M, Kim TW, Li J, Cascinu S, Ruff P, et al. Panitumumab versus cetuximab in patients with chemotherapy-refractory wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer (ASPECCT): a randomised, multicentre, open-label, non-inferiority phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2014 May;15(6):569–79.
46. Hess GP, Wang PF, Quach D, Barber B, Zhao Z. Systemic Therapy for Metastatic Colorectal Cancer: Patterns of Chemotherapy and Biologic Therapy Use in US Medical Oncology Practice. *J Oncol Pr*. 2010 Nov;6(6):301–7.
47. Khattak MA, Martin H, Davidson A, Phillips M. Role of first-line anti-epidermal growth factor receptor therapy compared with anti-vascular endothelial growth factor therapy in advanced colorectal cancer: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Colorectal Cancer*. 2015 Jun;14(2):81–90.

48. Heinemann, V. A study level meta-analysis of efficacy data from head to head first line trials of epidermal growth factor receptor inhibitors vs bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer. WCGC. 2015;PD – D13.
49. Wong. RAS testing of colorectal carcinoma - a guidance document from the Association of Clinical Pathologists Molecular Pathology and Diagnostics Group. J Clin Pathol. 67th ed. 2014;751–7.
50. Chuang S-C, Su Y-C, Lu C-Y, Hsu H-T, Sun L-C, Shih Y-L, et al. Risk factors for the development of metachronous liver metastasis in colorectal cancer patients after curative resection. World J Surg. 2011 Feb;35(2):424–9.
51. Vijayaraghavan A, Efrusy MB, Göke B, Kirchner T, Santas CC, Goldberg RM. Cost-effectiveness of KRAS testing in metastatic colorectal cancer patients in the United States and Germany. Int J Cancer. 2012 Jul 15;131(2):438–45.
52. Kircher SM, Mohindra N, Nimeiri H. Cost estimates and economic implications of expanded RAS testing in metastatic colorectal cancer. The Oncologist. 2015 Jan;20(1):14–8.
53. Blons H, Rouleau E, Charrier N, Chatellier G, Côté J-F, Pages J-C, et al. Performance and cost efficiency of KRAS mutation testing for metastatic colorectal cancer in routine diagnosis: the MOKAECM study, a nationwide experience. PloS One. 2013;8(7):e68945.
54. Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale (J.O 30 mai 2013).
55. Institut National du Cancer. Rapport scientifique 2013-2014. <https://itcancer.aviesan.fr/Local/itcancer/files/281/Rapport-scientifique-INCa-2014-FR.pdf>, consulté le 16 avril 2015.
56. Institut National du Cancer. Listes de gènes minimales à analyser dans le cadre d'un usage à visée diagnostique du NGS. www.e-cancer.fr/content/.../file/Liste-minimale-genes-analyses-NGS.pdf, consulté le 17 août 2015.
57. Thierry AR, Mouliere F, Messaoudi S El, Mollevi C, Lopez-Crapez E, Rolet F, et al. Clinical validation of the detection of KRAS and BRAF mutations from circulating tumor DNA. Nat Med. 2014 Apr;20(4):430–5.
58. Misale S, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Siena S, Bardelli A. Resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer: from heterogeneity to convergent evolution. Cancer Discov. 2014 Nov;4(11):1269–80.
59. Misale S, Yaeger R, Hobor S, Scala E, Janakiraman M, Liska D, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. Nature. 2012 Jun 28;486(7404):532–6.
60. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. Nat Rev Clin Oncol. 2013 Aug;10(8):472–84.
61. De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in

chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol.* 2010 Aug;11(8):753–62.

62. Seymour MT, Brown SR, Middleton G, Maughan T, Richman S, Gwyther S, et al. Panitumumab and irinotecan versus irinotecan alone for patients with KRAS wild-type, fluorouracil-resistant advanced colorectal cancer (PICCOLO): a prospectively stratified randomised trial. *Lancet Oncol.* 2013 Jul;14(8):749–59.

63. Peeters, Marc. Analysis of KRAS/NRAS mutations in phase 3 study 20050181 of panitumumab (pmab) plus FOLFIRI versus FOLFIRI for second-line treatment (tx) of metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol.* 32(Suppl 3):LBA 387.

64. Pietrantonio F, Petrelli F, Coinu A, Di Bartolomeo M, Borgonovo K, Maggi C, et al. Predictive role of BRAF mutations in patients with advanced colorectal cancer receiving cetuximab and panitumumab: a meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2015 Mar;51(5):587–94.

65. Rowland A, Dias MM, Wiese MD, Kichenadasse G, McKinnon RA, Karapetis CS, et al. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2015 May 19;

66. Yaeger R, Cercek A, O'Reilly EM, Reidy DL, Kemeny N, Wolinsky T, et al. Pilot trial of combined BRAF and EGFR inhibition in BRAF-mutant metastatic colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2015 Mar 15;21(6):1313–20.

67.
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01750918?term=BRAF+inhibitor+colorectal+cancer&rank=1>, consulté le 29 août 2015.

68. De Stefano A, Carlomagno C. Beyond KRAS: Predictive factors of the efficacy of anti-EGFR monoclonal antibodies in the treatment of metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014 Aug 7;20(29):9732–43.

69. Jhaver M, Goel S, Wilson AJ, Montagna C, Ling Y-H, Byun D-S, et al. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res.* 2008 Mar 15;68(6):1953–61.

70. Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 2009 Mar 1;69(5):1851–7.

71. Saridaki Z, Tzardi M, Papadaki C, Sfakianaki M, Pega F, Kalikaki A, et al. Impact of KRAS, BRAF, PIK3CA mutations, PTEN, AREG, EREG expression and skin rash in ≥ 2 line cetuximab-based therapy of colorectal cancer patients. *PloS One.* 2011;6(1):e15980.

72. Sood A, McClain D, Maitra R, Basu-Mallick A, Seetharam R, Kaubisch A, et al. PTEN gene expression and mutations in the PIK3CA gene as predictors of clinical benefit to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapy in patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2012 Jun;11(2):143–50.

73. Therkildsen C, Bergmann TK, Henrichsen-Schnack T, Ladelund S, Nilbert M. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol.* 2014 Jul;53(7):852–64.
74. Stintzing S. Mutations within the EGFR signaling pathway: Influence on efficacy in FIRE-3—A randomized phase III study of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab as first-line treatment for wild-type (WT) KRAS (exon 2) metastatic colorectal cancer (mCRC) patients. *J Clin Oncol.* 2014;32(Suppl 3 ; abstr 445).
75. Frattini M, Saletti P, Romagnani E, Martin V, Molinari F, Ghisletta M, et al. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer.* 2007 Oct 22;97(8):1139–45.
76. Loupakis F, Pollina L, Stasi I, Ruzzo A, Scartozzi M, Santini D, et al. PTEN expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Jun 1;27(16):2622–9.
77. Tejpar S. Awareness and understanding of stratified/personalized medicine in patients treated for cancer: a multinational survey. *Ann Oncol.* 2012;23 (Suppl 9):Abstract No.1342P.
78. Schwartzberg LS, Rivera F, Karthaus M, Fasola G, Canon J-L, Hecht JR, et al. PEAK: a randomized, multicenter phase II study of panitumumab plus modified fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (mFOLFOX6) or bevacizumab plus mFOLFOX6 in patients with previously untreated, unresectable, wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2014 Jul 20;32(21):2240–7.

L'ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon I n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses : ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs

Pauline CHOMETTE

Etude observationnelle rétrospective faisant état des lieux des pratiques de prescription et de réalisation des tests KRAS et NRAS en 2014 chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2015, 107 p.

RESUME

Jusqu'en 2013, les anti-EGFR étaient réservés aux patients atteints de cancer colorectal métastatique présentant une tumeur de type KRAS exon 2 sauvage. En 2013, il a été démontré que de nouvelles mutations sur les gènes KRAS et NRAS (exons 2, 3 et 4) étaient prédictives d'une résistance aux traitements anti-EGFR. La recherche de ces mutations est désormais obligatoire avant l'initiation d'un traitement par cetuximab ou par panitumumab.

L'étude « Flash RAS » a été mise en place en 2014 pour évaluer les pratiques de prescription et de réalisation du test RAS en France. Elle fait suite à une enquête similaire qui avait été menée en 2011 pour déterminer les modalités de réalisation de la recherche de mutation KRAS exon 2. L'étude pharmaco-épidémiologique, observationnelle et rétrospective « Flash RAS » a été réalisée entre le 15 juin et le 30 septembre 2014 auprès de 406 patients atteints de cancer colorectal métastatique.

L'objectif principal de l'étude était de déterminer le taux de prescription et de réalisation du test RAS chez les patients traités en 1^{ère} ligne pour leur cancer. L'évolution de la prescription du test KRAS entre 2011 et 2014, les raisons de prescription/non prescription du test et l'impact des résultats sur le choix thérapeutique du médecin ont également été décrits. Par ailleurs, l'étude a permis de déterminer le délai d'obtention des résultats du test ainsi que les méthodes d'analyses employées en 2014.

MOTS CLES

Cancer colorectal métastatique
Anti-EGFR
Génotypage
Médecine personnalisée

JURY

M. AULAGNER Gilles, Professeur
M. MERLIN Jean Louis, Professeur
M. SOUQUET Jean Christophe, Professeur
M. AUDHUY François, Ingénieur

DATE DE SOUTENANCE

Vendredi 23 octobre 2015

ADRESSE DE L'AUTEUR

Erbacher Straße, 10 - 64284 Darmstadt –Allemagne