

Jeudi 12 et vendredi 13 mai 2016 - Paris



LES MECANISMES DE RESISTANCE AUX THERAPIES CIBLEES APPROCHE THERANOSTIQUE DES GENES SUPPRESSEURS DE TUMEURS

Avec le soutien du GFCO « Groupe Français de Cytogénomique Oncologique »

Compte-rendu des plénières et des ateliers

Comité Scientifique :

- Etienne Rouleau, Institut Curie, Paris
- Cédric Le Marechal, Brest
- Pierre-Jean Lamy, Montpellier
- Ludovic Lacroix, IGR, Villejuif

Rationnel

La plupart des patients atteints d'un cancer et traités par une thérapie ciblée progressent suite à l'apparition de différents mécanismes de résistance. Pour le traitement de ces patients, l'application de la médecine de précision nécessite d'une part le développement des plateformes de diagnostic afin d'identifier les anomalies moléculaires impliquées dans la résistance et d'autre part, l'implication des bio-informaticiens et des biologistes dans les décisions thérapeutiques, de la biopsie effectuée chez les patients aux analyses moléculaires en participant également aux réunions de concertation pluridisciplinaire.

Quant aux mécanismes moléculaires conduisant à la perte de fonction des gènes suppresseurs de tumeurs, ils sont multiples et associés à des défis techniques en termes de détection et d'interprétation. L'identification des mutations des gènes BRCA1/2 au sein des échantillons tumoraux de cancer de l'ovaire a été initiée depuis un an, et il semble important de pouvoir partager les retours d'expériences des plateformes impliquées afin d'avancer sur les problématiques techniques (faux négatifs, faux positifs, non interprétables) et d'amorcer une approche qualité.

Discuter le contexte actuel de la médecine personnalisée chez ces patients, quels sont les enjeux, quels objectifs et partager l'expérience et le savoir-faire permettra une meilleure proposition thérapeutique personnalisée pour ces patients.

PLENIERE

Approche théranostique des gènes suppresseurs des tumeurs – applications cliniques

Par Isabelle Ray-Coquard

GENE SUPPRESSEUR DE TUMEUR : P53

- 50 % des cancers sont en rapport avec une mutation P53 (*IACR TP53 Database, 2012*).
- A l'heure actuelle, 2 voies d'approche thérapeutiques sont étudiées.
 - Perte de fonction associée à la mutation → Ré-activation de la fonction
 - La molécule APR-246 permet de restaurer l'activité de p53. Un essai de phase II, randomisé est actuellement en cours dans le cancer de l'ovaire. Le profil de tolérance est tout à fait satisfaisant (*Bykov, 2002*).
 - Un inhibiteur de Wee est également à l'étude. Celui-ci utilise la défaillance de p53. Quand p53 est muté, toute la régulation du cycle cellulaire au niveau de G1 est non fonctionnelle ; les mécanismes de réparation se focalisent alors sur G2. C'est à ce niveau qu'intervient Wee. Les résultats obtenus lors d'essais de phase I-II, dans le cancer de l'ovaire, sont également satisfaisants en termes de taux de réponse. Des essais sont aussi en cours en association avec la chimiothérapie, notamment dans les modèles de résistance à la chimiothérapie. Avec les inhibiteurs de Wee, il est possible de restaurer une sensibilité à la chimiothérapie.
 - Rôle oncogénique en cas de mutation → inhibition de l'onco-protéine
 - L'Hsp90 est une molécule chaperonne, déjà évaluée dans le cancer du poumon et en cours d'exploration dans le cancer de l'ovaire en combinaison avec la chimiothérapie pour réverser une résistance à la chimiothérapie. Il s'agit du principe du « Ganetespib » qui va bloquer Hsp90 et ainsi libérer le complexe muté p53 et permettre à MDM2 de restaurer l'activité de p53 (*Li, 2011*).



→ Les études de phase I et II sont en cours, ce qui suppose que les gènes suppresseurs de tumeurs vont prendre progressivement leur place dans la stratégie thérapeutique anti-cancéreuse.

GENE SUPPRESSEUR DE TUMEUR : BCRA

- L'olaparib est un inhibiteur de PARP qui, en présence de cassures double brin, induit une mort cellulaire (modèles *in vitro*). Son histoire du développement :
 - Sur la base de cette létalité synthétique, l'essai clinique de phase II, mené sur un petit groupe de patientes (n = 23) a confirmé l'efficacité de l'olaparib (*Fong, 2009*).
 - Ces résultats ont été à nouveau confirmés dans un essai de phase II randomisé : study 19 (*Ledermann, 2012*).
 - L'hypothèse suivante avait été émise : les patientes porteuses d'un cancer de l'ovaire sensible aux sels de platine représentaient le groupe de patientes où l'olaparib, par son mode d'action, allait probablement montrer son maximum d'efficacité.
 - Les résultats sont positifs pour le premier critère d'évaluation tous groupes de patientes confondus.
 - Dans le sous-groupe de patientes avec BCRA muté, le bénéfice de l'olaparib a été mis en avant sur des données de survie sans rechute (significativité) et de survie globale (tendance) → Ceci a permis l'obtention de l'AMM.
 - A l'heure actuelle, les essais de phase III confirmatifs sont attendus.

→ Avec une cible bien identifiée et un médicament dirigé sur cette cible, la réponse et l'efficacité s'obtiennent rapidement.

→ L'AMM obtenue pour l'olaparib est très précise et nécessite une identification des patientes : « En monothérapie pour le traitement d'entretien des patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial sévère de haut grade de l'ovaire, des trompes de Fallope ou péritonéal primitif, récidivant et sensible au platine avec une mutation du gène BRCA (germinale et / ou somatique) et qui sont en réponse (réponse complète ou réponse partielle) à une chimiothérapie à base de platine ».

IDENTIFICATION DES PATIENTES AVEC MUTATION BCRA

- Les patientes avec mutation germinale BCRA 1 ou 2 ont une survie globale significativement meilleure en comparaison aux autres patientes présentant un cancer de l'ovaire (HR : 0,18, IC95% : 0,10-0,31 ; p < 0,00001) (*Study 19 - Ledermann, 2012*). Pourtant, il faut les identifier le plus rapidement possible.
- Les patientes qui ont une mutation BCRA, déficit de la recombinaison homologue, présentent une sensibilité plus grande aux sels de platine (*Tan, 2008*). Mais, cela ne reste pas suffisant... d'où l'orientation vers les onco-généticiens !
 - Mais, selon les séries de la littérature, 15 à 44 % des patientes mutées BRCA constitutionnelles n'ont pas d'histoire familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire (*Alsop, 2012. Majdak, 2005. Jacobi, 2007. Rafnar, 2004. Sarantaus, 2001. Stratton, 1997. Yazici, 2002*). Ces patientes ne sont donc pas repérées par les onco-généticiens.
 - Un autre point important est lié à l'âge (*Antoniou, 2004*).
- Les conséquences histologiques associées aux anomalies moléculaires sont aussi à étudier. Les mutations BCRA 1 et 2 sont particulièrement retrouvées dans les cancers séreux de haut grade.
 - Malgré tout, ces mutations sont également retrouvées dans les tumeurs endométrioïdes, les carcinomes à cellules claires, les carcinosarcomes (*Alsop, 2012. Risch, 2006. Soegaard, 2008. Jacobi, 2007. Malander, 2004. Pennington, 2014*)
- Dans la study 19, 20 patientes présentaient une mutation somatique BCRA, sans identification de mutation germinale → Une autre voie de détection des patientes s'est alors ouverte.

→ Récemment, les cliniciens et le groupe Génétique & Cancer ont travaillé ensemble à une organisation du testing BCRA en France qui s'adresse aux patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire de haut grade.

→ Les patientes doivent être identifiées avant la rechute puisque différentes options sont disponibles et qu'elles ne se cumulent pas. La mutation BCRA est aujourd'hui un point stratégique dans la décision stratégique de l'oncologue médical, qui demande des délais courts et une prise en charge précoce.

→ A la rechute sensible, deux possibilités ont finalement été décrites pour le circuit rapide :

1) Statut BRCA constitutionnel inconnu → Consultation d'oncogénétique rapide (< 15j) et étude constitutionnelle rapide + initiation de l'analyse tumorale via l'oncologue ou l'onco-généticien

2) Pas de mutation BRCA constitutionnelle identifiée → initiation de l'analyse tumorale via l'oncologue

AU-DELA DE BCRA : TUMEURS RH-DEFICIENT

- 50 % des tumeurs séreuses de haut grade de l'ovaire ont une altération de la recombinaison homologue impliquant d'autres gènes que BCRA comme RAD51 (*Konstantinopoulos, 2015*). Les inhibiteurs de PARP sont en cours d'étude dans ces populations.
 - Les anomalies de réparation par recombinaison homologue entraînent une perte d'hétérozygotie qui peut être mesurée par une analyse génomique par NGS.

EVOLUTION INHIBITEURS DE PARP

- Sont en cours d'évaluation les combinaisons dès la 1^e ligne (PAOLA1), et l'efficacité dans d'autres tumeurs que les carcinomes ovariens.

CONCLUSION

→ Sont touchées environ 8 à 14 % des patientes puisqu'elles ont une mutation délétère BRCA constitutionnelle, 7 à 8 % avec une mutation somatique. Ces 2 groupes sont éligibles à un inhibiteur de PARP, en cas de rechute sensible aux sels de platine. Les tumeurs séreuses de haut grade sont particulièrement sur-représentées (4-5 % : bas grade). L'âge médian est de 56 ans mais peut concerner des patientes au-delà de 70 ans. D'où un besoin d'identifier précisément les patientes !

→ Il y a donc eu une transition d'un test pronostique utilisé par les onco-généticiens à un test prédictif de réponse à un traitement disponible.

→ La validation de marqueurs prédictifs d'activité au-delà de BRCA est essentielle et en cours d'exploration dans des essais cliniques.

→ La priorité est donnée au développement en première ligne et en association avec les anti-VEGF.

PLENIERE

Technologie Ultradeep sequencing

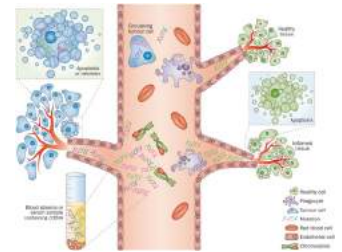
Applications pratiques

Par Pierre Laurent-Puig, Paris

- L'objectif de cette présentation a été d'aborder la détection de variants rares dans des effluents biologiques, en particulier dans le plasma.

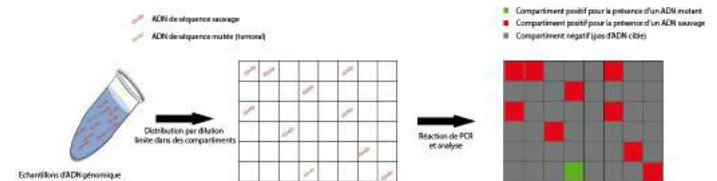
INTRODUCTION

- Détecter des mutations nécessite d'avoir accès à de l'ADN extrait de cellules tumorales.
 - Pour ce faire, il est possible de réaliser des biopsies, ce qui peut parfois se révéler compliqué en particulier dans le CBNPC au stade métastatique, la quantité de matériel obtenue pouvant être trop faible ou inexploitable.
 - Il existe alors l'alternative des prélèvements sanguins.
- De l'ADN provenant des cellules tumorales (destruction ou sécrétion active) circule dans le sang.
- On retrouve de l'ADN tumoral circulant dans presque tous les cancers à un stade avancé mais la quantité est extrêmement variable en fonction du type tumoral (de quelques fragments mutés – gliome – à plusieurs millions de fragments – neuroblastome, prostate, ovaire – pour 5 mL de plasma).



APPROCHES DE CES VARIANTS RARES

- Plusieurs approches ont été décrites.
 - La PCR digitale en gouttelettes (micro-compartiment avec moins d'une molécule d'ADN, 1 seule molécule présente dans le milieu réactionnel) permet un comptage discret des séquences ciblées et est donc à la fois très sensible et quantitative.
 - Il est possible de suivre des évolutions au fil du temps.
 - Les compartiments peuvent être des puits de microplaques ou des microcompartiments microfluidiques ou des microgouttelettes aqueuses.
 - La sensibilité de la PCR digitale dépend du nombre de compartiments (et donc de molécules uniques) analysés. A l'heure actuelle, il existe des machines avec 5 à 10 millions de capteurs par tube.
 - Le séquençage de nouvelle génération permet également d'approcher ces variants rares. Deux technologies sont actuellement présentes sur le marché :
 - Soit fixation de chaque brin d'ADN sur une bille → réaction d'amplification
 - Soit fixation et séquençage sur un support solide → ajout d'une base fluorescente pour l'obtention des images
- Ces techniques ont des sensibilités qui dépendent de la profondeur de séquençage.
- Ces technologies permettent d'obtenir un grand nombre de séquences. Les fragments obtenus sont alignés sur les régions d'intérêt ; puis, chacune des séquences va être regardée pour identifier les variants. Néanmoins, le bruit de fond, c'est-à-dire des variations de la séquence de référence générées en partie par les réactions de PCR, est relativement présent.



→ Les mutations réelles sont plus ou moins cachées dans le bruit de fond. Plus la fréquence allélique est faible (< 2 %), plus l'obtention de la réponse est difficile. S'agit-il d'une erreur de séquençage ou la mutation est-elle présente à une faible fréquence ?

→ Le bruit est extrêmement reproductible.

CORRECTION DU BRUIT DE FOND PAR MODIFICATION DES LIBRAIRIES

- Plusieurs technologies sont aujourd'hui disponibles.
 - Safe-Seq : il s'agit de marquer chacune des molécules modifiables par un Tag, également appelé barre-code ou zip-code pour générer des « oligo dégénérés » d'une vingtaine de paires de bases. On a donc un codage unique de la molécule d'ADN ; la mutation va être associée systématiquement au même barre-code. Si apparaît un barre-coding différent, il faut considérer un artefact de la PCR.
 - Circle sequencing, variante de la technique précédente, pour laquelle les fragments linéaires d'ADN sont fermés en cercle par une cycling ligase, et barre-codés. L'avantage de cette technique est l'utilisation de primers identiques tête-bêche pour les fragments d'ADN, pour être séquencés dans les 2 sens. La mutation se trouve donc toujours à la même distance du Tag.

→ Grâce aux technologies disponibles et à la préparation des librairies, il est aujourd'hui possible d'atteindre des sensibilités élevées, de l'ordre de 1/1 000.

AUTRE APPROCHE POUR GAGNER EN SENSIBILITE : MODIFICATIONS DES PROCESS D'ANALYSE

- Il s'agit de modifier le « pipeline » d'analyse, pour atteindre une certaine sensibilité avec le même coût d'analyse. Les résultats de l'UMR-S 1147 « Médecine personnalisée, pharmacogénomique, optimisation thérapeutique », ont été présentés.
 - A partir d'un kit commercial, un bruit de fond moyen, base par base, a été calculé au cours de l'analyse d'ADN issu de lymphocytes T de patients sains (30 échantillons) pour qui il n'était pas attendu d'observer une mutation → Des positions se révèlent extrêmement « bruitées », et ce de façon systématique → Pour chaque position, a été calculé le 95^{ème} percentile du bruit de fond → Les positions « trop bruitées », ne permettant pas l'identification d'une mutation, ont été supprimées ; en parallèle, il a été vérifié que les hotspots du panel n'étaient pas éliminés → Au total, environ 8 300 positions sont analysées.
 - En ce qui concerne les indels, le bruit de fond était trop important pour détecter les délétions de 1 ou 2 paires de bases et les insertions de 1 ou 2 paires de bases → Au total, environ 8 700 positions sont analysées.
 - Cette méthode a, par la suite, été validée sur 373 plasmas de patients atteints de cancer (cancer pancréatique : 100 et cancer pulmonaire : 273). Une excellente corrélation a été observée entre le NGS et la PCR digitale, en termes de fréquence allélique et de séquençage.

→ Plus le bruit de fond est élevé, plus il est difficile d'identifier une mutation. Il est aussi important de noter que plus le séquençage est profond, plus le bruit de fond est augmenté et que la dilution influence les résultats de détection.

→ Pour chaque patient, est calculée une p valeur qui correspond à la différence entre le bruit de fond observé à la base donnée et la fréquence allélique, selon une loi binomiale. Puis, une distance entre les p valeurs est calculée.

CONCLUSION

→ La performance du NGS peut être améliorée en termes de sensibilité par des modifications des librairies (Tag de chaque molécule d'ADN). Néanmoins, cela entraîne un coût plus élevé.

→ La performance du NGS peut être améliorée par des modifications des procédures d'analyse (méthodologie statistique).

PLENIERE

Mécanismes de résistance aux thérapies ciblées chez les patients CBNPC EGFR mutés et ALK réarrangés

Diagnostic, arbre décisionnel et attitude thérapeutique

Par Benjamin Besse, Villejuif

La présentation s'est davantage axée sur les CBNPC EGFR mutés que sur les ALK réarrangés dans lesquels la place du crizotinib a été confirmée en 1^e ligne et celle du ceritinib en 2^e ligne quel que soit le mécanisme de résistance identifié. A la différence du CBNPC EGFR muté, la rebiopsie à la progression dans le CBNPC ALK réarrangé n'est pas recommandée. Plusieurs médicaments de 2^e (alectinib) et 3^e génération (lorlatinib) sont en cours de développement. Il a été rappelé que les patients sous crizotinib doivent être supplémentés en testostérone pour palier l'impuissance induite.

Ci-dessous sont rapportées les données dédiées au CBNPC EGFR muté.

EN PREAMBULE

- Aujourd'hui, environ 1 patient caucasien atteint d'un CBNPC sur 6 va être orienté vers une thérapie ciblée de première intention, ce qui nécessite l'obtention d'un profil moléculaire est nécessaire.
- Sur les 40 000 nouveaux cancers bronchiques diagnostiqués en France, chaque année, la moitié l'est au stade métastatique. Ceci rejoint les chiffres d'échantillons analysés.

→ *Nécessité d'établir un profil moléculaire afin de proposer une thérapie ciblée.*

PRESENTATION DE DONNEES COMPARATIVES : THERAPIE CIBLEE VS CHIMIOOTHERAPIE

- De nombreux essais ont comparé en première ligne dans le CBNPC EGFR+ un TKI-EGFR de 1^e génération à une chimiothérapie.
 - Ainsi, l'étude EURTAC, menée chez 174 patients européens naïfs de chimiothérapie (stade IIIB/IV ; PS : 0-2), a montré une SSP de 9,7 mois pour l'erlotinib vs 5,2 mois pour la chimiothérapie (HR 0,37, IC95% : 0,25-0,54 ; p < 0,0001) (Rosell, 2012).
 - Au final, 9 essais randomisés ont comparé en 1^e ligne un TKI EGFR à une chimiothérapie (IPASS, First-SIGNAL, WJTOG3405, NEJ002, OPTIMAL, EURTAC, ENSURE, LUX-Lung 3, LUX-Lung 6). Ils se sont tous révélés positifs pour la SSP mais pas pour la SG. En effet, les TKI-EGFR ont démontré une efficacité à la fois en 1^e et en 2^e lignes.

→ *Le standard en première ligne du CBNPC EGFR+ est le TKI-EGFR.*

→ *En cas de difficulté d'obtention d'un profil moléculaire (transmission des échantillons, rendu des données) et si le patient est très symptomatique, une chimiothérapie peut être proposée d'emblée sans perte de chance pour le patient. Il est reconnu que les patients présentant un CBNPC EGFR+ sont davantage sensibles à la chimiothérapie.*

- Aujourd'hui, sont aussi disponibles des inhibiteurs de 2^e génération.
 - Les essais vs chimiothérapie présentent des données similaires à ceux des précédents essais, tout en tenant compte des considérations méthodologiques.
 - De même, un essai comparant l'afatinib au gefitinib en 1^e ligne (LUX-Lung 7) n'a pas montré de différence sur les 12 premiers mois de traitement.

→ *Les standards vont évoluer avec les nouveaux traitements à venir. Le débat n'est plus d'actualité entre les TKI-EGFR de 1^e et 2^e génération, en 1^e ligne.*

→ *La durée de vie du patient, c'est la somme de tous les traitements qu'il va recevoir. Il s'agit d'avoir des séquences de traitement les plus longues possibles et donc, de ne pas arrêter trop précocement le TKI-EGFR en 1^e ligne, en particulier en cas de progression lente ou oligo-métastatique.*

EVOLUTION DE LA STRATEGIE THERAPEUTIQUE DANS LE CBNPC EGFR+

- Il existe des résistances acquises (Camidge, 2014).
 - Dans 1 cas sur 2, la mutation T790M est identifiée. Celle-ci caractérise une maladie plus indolente.

- Environ 5 % des patients vont présenter une transformation phénotypique en petites cellules. Pourtant, on pourrait considérer que cela n'a pas lieu d'être chez un non-fumeur. Ce cas doit être évoqué plus particulièrement en cas de progression rapide ; une biopsie tissulaire doit alors être proposée.
- D'autres mécanismes existent mais ne sont pas encore clairement identifiés.
- Un des problèmes principaux de la rebiopsie au moment de la progression reste le délai d'obtention des résultats pouvant atteindre 2 mois (Lim, 2016). D'où l'intérêt potentiel de l'ADN tumoral circulant.

➔ Il va être important d'identifier le bon moment pour réaliser une recherche de mutation de résistance.

STRATEGIES THERAPEUTIQUES A LA PROGRESSION

- L'essai IMPRESS a étudié l'association d'une chimiothérapie et d'un TKI-EGFR au moment de la progression, après un traitement de 1^e ligne par TKI-EGFR (Soria, 2015). Les résultats sont négatifs voire même délétères.
- Une association TKI-EGFR + anticorps anti-EGFR, pour une inhibition supplémentaire en extra-membranaire, a également été étudiée (Janjigian, 2014). Un bon taux de réponse est obtenu mais l'association se révèle avoir une toxicité très élevée.
- Un essai est même actuellement en cours en 1^e ligne pour comparer cette association vs un TKI-EGFR seul (IFCT 1503 – ACE). Il est, par ailleurs, important de noter que la posologie de l'anticorps anti-EGFR est d'une injection toutes les 2 semaines, nécessitant donc un rendez-vous hospitalier.
- Une autre stratégie a été étudiée : TKI-EGFR + anti-angiogénique, mais dans un essai en ouvert (Seto, 2014. Stahl, ESMO 2015).
- Des TKI-EGFR de 3^e génération (osimertinib et rociletinib) ont été spécifiquement développés en cas d'identification d'une mutation T790M à la progression.
 - En raison de résultats non confirmés et de la survenue d'un diabète chez la majorité des patients (ajout d'une comorbidité), le développement du rociletinib a été suspendu suite au rapport de la FDA.
 - La question de la place des TKI-EGFR de 3^e génération d'emblée en 1^e ligne a été soulevée (FLAURA) tout comme l'apparition de mutation de résistance à ces TKI (ex : C797S)
- Par ailleurs, il a été rappelé qu'une mutation B-RAF peut être associée à une mutation activatrice de l'EGFR. Une association inhibiteur de B-RAF + inhibiteur de MEK a de plus en plus de preuves cliniques de son efficacité et de sa tolérance, à la fois dans le mélanome et le cancer bronchique.
 - En revanche, l'association TKI-EGFR + inhibiteur de m-TOR n'est pas à envisager en regard de la tolérance, tout comme les associations des inhibiteurs de tyrosine kinase.

A la progression

➔ La stratégie chimiothérapie + TKI-EGFR n'est pas à retenir.

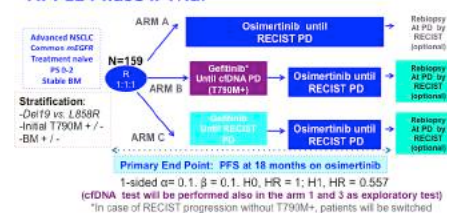
➔ Il est important de tenir compte de la toxicité des associations.

➔ L'osimertinib, TKI-EGFR de 3^e génération, est indiqué en cas d'identification de la mutation T790M à la progression.

Quelles séquences thérapeutiques ?

➔ Les débats restent ouverts quant à la définition de la séquence thérapeutique optimale dans le CBNPC EGFR+. Un essai de phase II randomisé, APPLE, avec suivi sur ADN tumoral circulant pour un des bras, va tenter d'apporter des réponses.

APPLE Phase II Trial



- L'immunothérapie a également été évoquée en 2^e ligne. Les meilleurs répondeurs seraient les patients fumeurs.
 - Les associations avec l'immunothérapie s'avèrent difficiles à mettre en place en termes de toxicité pulmonaire.

CONCLUSION

➔ Avec la connaissance des mutations de résistance, le traitement va de plus en plus se personnaliser.

➔ Les associations ne sont pas plus efficaces mais s'avèrent plus toxiques.

➔ Les immunothérapies ne sont pas destinées à la 1^e ligne, mais davantage après les TKI-EGFR de 3^e génération ciblant la mutation T790M.

ATELIER 1 – RESTITUTION EN PLENIERE
Gènes suppresseurs de tumeur
Exemple BCRA 1/2

Par Isabelle Soubeyran, Bordeaux et Stéphane Béziau, Nantes

AFFIRMATION	DECISION	RESTITUTION
Au vu de la fréquence des mutations dans le cancer de l'ovaire, il faut élargir l'indication à toutes les histologies de haut grade (à l'exception des mucineux).	<u>OUI</u> endométrioides, cellules claires, carcinosarcomes <u>NON</u> pour les mucineux	L'extension de l'indication à toutes les histologies de haut grade a été acceptée. Il a été soulevé les difficultés au diagnostic en anatomopathologie pour différencier les hauts grades des types endométrioides ou encore des cellules claires. Le groupe a été plutôt favorable à cette évolution, en rappelant toutefois l'absence d'indication chez les mucineux.
Au diagnostic, la question de la prédisposition génétique prédomine : - L'analyse moléculaire des gènes <i>BRCA1/2</i> doit être proposée dès le diagnostic du cancer de l'ovaire indépendamment de la réponse au platine quel que soit l'âge. - Il est préférable de commencer d'abord par le constitutionnel et un panel large, puis par une analyse somatique en fonction du résultat.	Au diagnostic, la question de la prédisposition génétique prédomine : - L'analyse moléculaire <u>constitutionnelle</u> des gènes <i>BRCA1/2</i> doit être proposée dès le diagnostic du cancer de l'ovaire indépendamment de la réponse au platine quel que soit l'âge (quid > 75 ans) - il est préférable de commencer d'abord par <u>l'analyse</u> constitutionnelle et un panel large	<u>Au diagnostic</u> La question de la prédisposition prédomine, et de ce fait l'analyse moléculaire constitutionnelle avec la consultation d'oncogénétique. L'âge a, dans cette situation, été discuté (sachant que 0,1 % des patientes ont plus de 75 ans). ➔ Il s'agit de débiter par l'analyse constitutionnelle et un panel large.
En situation de rechute, la question thérapeutique est prioritaire dans la prise en charge. En l'absence de résultat constitutionnel, il est préférable de réaliser - l'analyse somatique en priorité, - voire les deux en parallèle.	- Dans le cadre de l'AMM : platinosensible & répondeuse - En l'absence de résultat constitutionnel, il est préférable de réaliser l'analyse somatique en priorité, voire les deux en parallèle. Sans oublier la recherche de grands réarrangements en constitutionnel.	<u>A la rechute</u> Comme le précise l'AMM, les patientes doivent être platinosensibles et répondeuses. ➔ Si les données de l'analyse constitutionnelle ne sont pas disponibles, l'analyse somatique doit être réalisée en priorité voire les deux réalisées en parallèle. ➔ Si l'analyse somatique est réalisée prioritairement et que les résultats obtenus se révèlent négatifs, une analyse des grands réarrangements en constitutionnel doit être demandée.
L'analyse doit être faite de préférence sur le prélèvement avant toute chimiothérapie.	- L'analyse doit être faite de préférence sur le prélèvement <u>somatique</u> avant toute chimiothérapie. - Alerter les chirurgiens sur la quantité de matériel minimum à prélever sous coelioscopie	L'analyse somatique doit être réalisée préférentiellement sur le prélèvement de diagnostic initial avant chimiothérapie. Un travail d'information sur la quantité de matériel à obtenir au moment de la coelioscopie est à prévoir auprès des chirurgiens.

L'analyse peut être réalisée sur bloc de paraffine ou tumeur congelée. Pour les gènes suppresseurs, la cellularité tumorale exigée doit être au moins de 30 %. La quantité de matériel demandée nécessite au moins 6 lames de 5µ ou 3 lames de 10µ en fonction de la surface tumorale (> 5mm²).	- Seuil de 30 % évolutif selon expérience et technique - Mais pas de refus si < 30% : macrodissection	Il a été confirmé que les techniques ont un bon rendu sur la paraffine. Les discussions avec les participants ont fait évoluer le seuil de cellularité. Ce seuil peut en effet être évolutif en fonction de l'expérience acquise par les plateformes et des techniques mises en place. A chacun de faire sa validation technique. Une macrodissection est recommandée en cas de seuil < 30 %. La quantité de matériel est peut-être un peu plus importante que celle initialement exigée pour les biopsies coliques ou pulmonaires.
Cas rendus non contributifs - Aucune mutation avec une cellularité inférieure à 30 % - Défaut de couverture en l'absence de mutation	- Validation de méthode dans chaque laboratoire pour définir le seuil de sensibilité - Recommander d'indiquer le pourcentage de couverture pour chaque gène	La question de la non-contributivité en cas d'absence de mutation identifiée et d'une cellularité < 30 % a été débattue. Chaque laboratoire avec sa méthode de validation interne doit définir son seuil de sensibilité et le ré-ajuster. Pour les gènes suppresseurs de tumeurs, il est capital de couvrir l'ensemble des gènes. Il ne s'agit pas d'une problématique de hotspots comme les oncogènes. De ce fait, il est recommandé d'indiquer le pourcentage de couverture pour chaque gène. En cas de défaut de couverture de certains exons, il est important d'essayer de le rattraper ou de le signifier au niveau du compte-rendu.
Le niveau de profondeur doit être de 300X sur l'ensemble des gènes. En cas de défaut de couverture, une analyse complémentaire en Sanger peut être proposée si possible.	Niveau d'exigence à établir par chaque laboratoire en fonction de sa technique amplicon vs hybridation : validation de méthode	Le niveau d'exigence de profondeur est à établir avec la validation de méthode en fonction de la technique.
En cas d'identification d'une mutation somatique, une vérification en Sanger doit être réalisée si on ne dispose pas des résultats constitutionnels en parallèle ou si ceux-ci sont WT.	- Pas d'obligation - Soulève la question de l'identitovigilance	Il n'y a pas d'obligation de vérification. Un problème soulevé par ces WT est celle de l'identitovigilance (sans être spécifique à BRCA).
Les variants de signification inconnue ne doivent pas être rendus en thérapeutique pour éviter toute erreur d'interprétation. Ils pourraient être collectés dans le cadre	- Proposition d'indiquer clairement les variants de signification inconnue (VSI) dans le compte-rendu pour permettre d'anticiper un reclassement en 4 ou 5 - Base de mutations unanimement	Un avis contraire a été émis par rapport à l'affirmation. Les variants de signification inconnue doivent être rapportés dans le compte-rendu afin d'anticiper tout

d'une base nationale de données.	souhaitée	reclassement vers une mutation salulaire. Suite aux remontées d'expérience, les VSI semblent moins fréquents qu'en néo-constitutionnel. Le résultat concernant le VSI doit, dans le compte rendu, être bien séparé de la mutation actionnable. Pour aider à cette interprétation de variants, une base de mutations devrait être constituée, peut-être à partir de celle de Paola.
Le statut de perte d'hétérozygotie doit être indiqué, dans la mesure du possible. On tient compte de la cellularité et la fréquence allélique de la mutation.	Pas d'obligation car identification de mutation ponctuelle seule pré-requis aux anti-PARP	Il n'a pas été retenu comme obligatoire de rendre la perte d'hétérozygotie à partir de l'analyse NGS ou autre.
L'analyse somatique des gènes suppresseurs est limitée à ce jour à la recherche de mutation ponctuelle. Il est difficile d'assurer l'absence de grands réarrangements (délétions/duplications d'exon). En l'absence de vérification des grands réarrangements, il faut rendre le résultat : « Absence de mutation ponctuelle »	Mutations ponctuelles incluant les indels	En cas d'analyse somatique, il est difficile d'assurer l'absence de grands réarrangements.
En cas de détection de mutation somatique, il est important d'assurer le lien avec la génétique constitutionnelle. - Le compte-rendu doit comporter la mention « Il convient d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique ». - Dans la feuille de prescription, il doit être recueilli la réalisation ou non de cette consultation. - Le prescripteur (oncologue) peut rendre un résultat de mutation somatique.	Le rendu de résultat nécessite une interaction maximale entre les acteurs en tenant compte des compétences spécifiques oncogénéticien/oncologue	La communication avec la génétique constitutionnelle est capitale, en cas de différenciation de laboratoires pour les analyses somatiques et de génétique constitutionnelle. Les compétences de chacun doivent être prises en compte dans le rendu des résultats.
Actuellement, les gènes suppresseurs de tumeur pertinents à étudier sont en théranostique : - BRCA1/2 - STK11 - PTEN - TSC1/2 - TP53 - NF1 Pour le cancer de l'ovaire, on pourrait proposer un panel de gène impliqué dans la recombinaison homologe – RAD51C en priorité.	- Seulement BRCA1 et 2 en routine aujourd'hui - En réflexion : l'évolution vers le HRness test	Aujourd'hui, il apparaît que seuls les gènes BRCA1 et 2 sont étudiés en routine pour des implications théranostiques. PTEN est actuellement investigué. L'analyse du phénotype HRness est en cours de réflexion.
Dans les autres analyses moléculaires à mettre en place pour les gènes suppresseurs de tumeur, il peut être intéressant d'étudier la méthylation (ex.	A mettre en place mais difficile en NGS	L'étude de la méthylation serait à mettre en place. Néanmoins, cela reste difficile en NGS.

BRCA1) et l'expression protéique en IHC (ex. PTEN).		
La cotation RIHN de BRCA1/2 somatique est estimée au premier niveau NGS du RIHN soit à 20kb maximum. Le désarchivage n'est pas compris dans cette cotation. Une convention peut être signée entre l'établissement et le cabinet privé d'anatomie pathologique.	<u>OUI</u> Cotation admise par tous	

ATELIER 2 – RESTITUTION EN PLENIERE

Applications de l'analyse de l'ADN tumoral circulant

Par Marc Denis, Nantes et Pierre-Jean Lamy, Montpellier

AFFIRMATION	DECISION	RESTITUTION
Indications de l'analyse de l'ADN circulant (CBNPC) : - Valeur pronostique - Recherche de mutations au diagnostic si pas de biopsie disponible - Suivi de la maladie - Détection de la maladie résiduelle - Détection de mutations de résistance (T790M)	- Il existe une valeur pronostique / Pas d'indication clinique – usage un peu sauvage dans certains centres (certains cliniciens) - Oui accord (pas de biopsie, test tissulaire non contributif, urgences médicales – tendance à une demande d'emblée si test tissulaire non contributif) - Suivi et maladie résiduelle : dans le cadre des TKI - demande variable - pas de recommandations. Besoin d'études cliniques - Au moment de la récurrence (progression clinique). - Recommandation : tester BL et prévoir rebiopsie pour un maximum de chance- ne pas hésiter à répéter l'analyse (cf logigramme Oxnard) - Penser au LCR (culot et cfDNA) liquide pleural !	Il a été rappelé que les discussions se sont centrées sur les mutations activatrices de l'EGFR dans le CBNPC. Deux grandes indications pour l'analyse de l'ADN tumoral circulant ont été identifiées : 1) Au diagnostic - Si absence de tissus analysables - Si tissu disponible mais non interprétable - Urgence médicale 2) A la progression La recherche de mutation de résistance au moment de la rechute clinique, quand le patient peut être éligible à un TKI-EGFR de 3^e génération. A la rechute, ce qui peut être proposé au clinicien est de mettre en place une démarche de rebiopsie, en réalisant en parallèle un prélèvement sanguin. En cas de résultat positif pour la mutation T790M, le rendez-vous pour la biopsie sera alors annulé. A l'inverse si la mutation T790M n'est pas détectée, il n'y aura ainsi pas de retard à la prise en charge et à la réalisation de la rebiopsie. L'importance du liquide céphalo-rachidien (LCR) a aussi été soulignée.
Feuille de prescription Informations supplémentaires à récupérer : date et heure, nom.... Contexte de prescription Circuit de prélèvement	<u>Demande spécifique avec les items habituels</u> : procédure décrivant les exigences pré-analytiques - Date et heure de prélèvement - Contexte : localisation, diagnostic ou recherche de mutation de résistance (statut tumoral, progression radiologique ou clinique, dernier traitement – CT ou TKI-EGFR, diagnostic/progression ou suivi de traitement) - Circuit organisé (voir pb des tubes et leur stabilité) - Feuille de prélèvement dédiée	
Type de prélèvement - Tubes EDTA, Streck, Roche, ... Prise en charge - Circuits	Majorité tubes EDTA car circuit organisé (centrifugation < 4h) - expérience de Streck (peu pour Roche et Paxgene)	Un consensus a globalement été exprimé. Le circuit est aujourd'hui bien identifié.

• Temps d'acheminement • Centrifugation (simple ? double ?) Conservation du plasma • -20°C pour le court terme • -80°C pour le long terme	- Circuit identifié – heure de réception et de centrifugation notées. Une première centri 1600 à 2000G, 10 min, température ambiante puis une plus rapide (pratiques variables) pour éliminer les cellules puis congélation. Recentrifugation obligatoire après décongélation (à 37°C) - Conservation à -20°C : maximum 15 jours (en l'absence d'études plus précises) puis -80°C	Les échanges ont été riches autour de la centrifugation. Globalement, en cas de congélation, deux centrifugations sont nécessaires. Une décongélation à 37°C, suivie d'une recentrifugation obligatoire, a été suggérée. Aucun débat ne s'est tenu pour la conservation. Elle s'effectue à -20°C pendant 15 jours maximum puis à -80°C.
Extraction d'ADN circulant • Techniques manuelles ? • Systèmes automatisés ? • Quel volume à traiter ? • Mesure de la quantité – Problématique du dosage • Conservation des ADN – -20°C ? – -80°C ?	- Manuelles majoritairement (Qiagen, Roche) sinon Maxwell (1mL) ou Qiamajic - Volume 2 mL - mini ? (jusqu'à 10 mL !) - Quantité : pratique variable – info clinique ou cq (infection par ex) - Qbit - dPCR - Conservation : -20°C (tubes low-binding)	Les techniques d'extraction sont majoritairement manuelles. Le volume de 2 mL semble être un consensus ; certains laboratoires utilisent des volumes plus importants ou plus petits. En ce qui concerne la mesure de la quantité, il existe une grande variabilité des pratiques. Il s'agit davantage d'une information interne pour le contrôle Qualité. La conservation de l'ADN à -20°C semble suffisant, dans des tubes low-binding.
Techniques envisageables : PCR digitale, PCR spécifique d'allèle, NGS, Pyroséquençage, Sanger Critères de choix : • Sensibilité • Spécificité • Couverture • Délai de réponse • Coût ➔ Retours d'expérience, en fonction de la situation clinique, et position du NGS par rapport aux autres approches Rendu des résultats • Fréquence allélique ou quantification absolue ? Limite de détection	- Variable NGS, PCR allèle et dPCR (pyroseq) - Sensibilité et spécificité sont des critères majeurs de choix mais seulement liés à la technique (extraction, etc) - Délai : moins de 15 jours - Fréquence allélique et quantité non rendue – pb d'interprétation clinique - Limite de détection précisée	En ce qui concerne les tests analytiques, les techniques sont davantage choisies selon les habitudes de chacun. Les informations obtenues selon les techniques ne sont pas identiques. C'est pourquoi la fréquence allélique à l'heure actuelle n'est pas rendue. Il est important de tenir compte des possibles mauvaises interprétations de la part des cliniciens (ex : en cas de fréquence allélique basse). Les limites de détection doivent être précisées ou au moins être connues.
Rendu des résultats • Contexte de la prescription – Traitement, accès biopsie • Volume de sang prélevé • Type de tube de prélèvement • Quantification • Description de la technique utilisée • Comment interpréter les résultats dans le cas de résistance ? – ex : résistance T790M avec présence de la mutation de sensibilité	- Contexte : type de cancer - Volume prélevé : non / plasma utilisé : oui (dans détail technique) - Type de tube de prélèvement : oui - Quantification : non - Technique : oui - Présence d'une mutation précisée ou mutation non détectée (T790neg en présence ou absence de mutation activatrice)	Au niveau du post-analytique, il a été convenu d'inscrire dans le rapport d'analyse : - type de cancer - tube utilisé - technique et volume du plasma utilisés - présence d'une mutation précisée ou mutation non détectée (T790neg en présence ou absence de mutation activatrice) Le test doit être réalisé sur l'ensemble des exons de l'EGFR.

Contrôles - Interne : positif / négatif - Externe : proposition d'un EEQ ?	- CQ internes type Horizon ou faits maison (neg) - Externe : capital - Voir CQ ECAT	L'avenir de la technique a été discuté tout comme la cotation.
Indications à venir : - Poumon : Mécanismes de résistance (mutations ALK, ampli MET, ...) - Colon : RAS au diagnostic ? - Mélanome : BRAF au diagnostic ? - Cotation Financement (projets de recherche)	- ALK : demande qui se développe - RAS : peu demandé - Mélanome : idem – métastase Essai clinique en cours / inclusion en phase I / CNV : EGFR/MET à développer - Cotation : groupe de travail pour LI RIHN	

ATELIER 3 – RESTITUTION EN PLENIERE

Caractérisation des RCP moléculaires – Production des données

Cédric Le Maréchal, Brest et Etienne Rouleau, Villejuif

AFFIRMATION	DECISION	RESTITUTION
Les analyses proposées en RCP moléculaire doivent comporter une analyse NGS, CGH-array, IHC pour être complètes En NGS, il peut être proposé - un panel simple en première intention avec des gènes actionnables - un panel complet avec le maximum de gènes en cas de rechute / échappement thérapeutique - Quelle est la place de l'exome ? Il faut privilégier un nombre limité de panels pour la RCP moléculaire. Les panels commerciaux restent plus attractifs	NGS-IHC/FISH (CGHarray : pas d'enjeu d'inclusion en essais, gliomes) Amplifications (NGS, PCR digitale) Panels commerciaux : couverture non-exhaustive (MET, ALK...) → technique complémentaire (délais rendu) - Evolution en cours, évolutivité, flexibilité (Access array) - Avantages de la capture Panels niveau 1 / niveau 2 ? - Peu opérationnel - Quelles cibles (niveaux 2) ? « Core-genes » Exomes : préciser les indications	Une RCP moléculaire doit comporter du NGS, de l'immunohistochimie et du FISH. En ce qui concerne l'analyse CGH-array, il s'agit davantage de la pathologie concernée. Des problèmes de couverture ont été soulevés avec les panels commerciaux. Certains laboratoires ont aménagé d'autres analyses associées pour pallier le manque d'exhaustivité. Il a alors été envisagé de travailler sur 2 panels : un panel classique calibré avec des marqueurs (peut-être encore à valider) et un panel plus large à proposer selon l'évolution clinique du patient et des lignes de traitement reçues. L'obtention d'un « core-genes » semble faire l'unanimité. Pour les exomes, la réflexion a porté sur leur accès. Certaines indications pourraient en effet être concernées et restent à discuter.
Le seuil de validation d'un variant rare est différent des hotspots de mutation (fréquence allélique, couverture, biais de brin)	Critères d'analyse uniques : pas de distinction rare-fréquent Hotspot : si < seuil → confirmation avant rendu - Rendu des variants de faible fréquence alléliques - Qualité du prélèvement (% cellules, fixation) - Commentaires modulation de l'interprétation (<u>demande autre prélèvement</u>, confirmation avec autre technique) Variants rares, faible % allélique - Quantité matériel disponible - Duplicat - Comment confirmer ?	Aucune distinction n'est ressortie dans les échanges sur les différents algorithmes définis sur les panels. En revanche, en cas de résultats inférieurs au seuil défini pour un hotspot, un processus de confirmation est alors mis en place sous la forme de : - confirmation simple avec une vérification Qualité - confirmation de la qualité en pré-analytique - nouvelle analyse sur les hotspots si du matériel est disponible, par l'utilisation d'une autre technique - redemande d'échantillons pour une nouvelle analyse complète Pour les variants rares à faible fréquence allélique, la possibilité d'un

		duplicat a été discutée. Trouver un variant potentiellement constitutionnel est une situation considérée comme plutôt rare. L'importance d'orienter vers des consultations d'oncogénétique a été mise en avant. Au-delà de BCRA, il serait intéressant d'avoir un listing des mutations potentiellement germinales pour lesquelles une consultation d'oncogénétique doit être proposée. Prévoir un consentement des patients avec les panels larges semble à recommander. Un consentement doit être obligatoirement demandé en cas de vérification sur tissu sain. Ces dernières vont se révéler de plus en plus nécessaires. Un consensus s'est dégagé pour l'utilisation des logiciels de prédiction, mais cela reste une utilisation intra-laboratoire. Il manque aujourd'hui un consensus sur l'analyse et le rendu des résultats d'autant plus que des bases de données arrivent avec des algorithmes pour classer les variants non ou non basés sur la littérature (littérature permettant de savoir si une mutation est actionnable ou pas).
Il faut confirmer un variant avec une fréquence allélique de 50-100 % qui peut être constitutionnel Les scores SIFT ou POLYPHEN peuvent être utilisés pour le classement des variants Une étude de l'effet d'épissage doit être systématiquement réalisée (oncogène – en phase, gène suppresseur – décalage du cadre de lecture)	Situations rares : orientation vers consultation oncogénétique, analyse du tissu sain avant ? - Listing des mutations potentiellement germinales - Consentement avec les panels larges (découvertes fortuites et vérification sur tissu sain) Logiciel prédiction : gènes suppresseurs > oncogènes - Pas mentionné sur compte-rendu - Nouvelles bases de données/logiciel prédiction « actionnabilité » (à évaluer)	
Sur le compte-rendu d'analyse : • Les résultats doivent être hiérarchisés en 3 sections (variant d'impact clinique connu (classe 5), variant à discuter en RCP moléculaire, (classe 4 et 5 sans AMM), autre variant – pathogénicité inconnue) Mentionner en cas de VPI → « Présence d'une mutation à discuter en RCP moléculaire »	Accord sur 3 niveaux - Organisation du compte-rendu (classe 5 puis autres dans une section séparée) - Connaissance de l'information pour suivi avec le parcours de soin du patient - Interprétation uniquement des indications AMM Variants rares : Accord pour indiquer dans compte-rendu d'orienter vers RCP et ne pas mentionner un choix de traitement - Lien avec les informations cliniques - Utilisation de cette information en clinique	Au niveau du compte-rendu d'analyse, il est nécessaire de bien distinguer : - les mutations clairement actionnables - les cas où une RCP moléculaire est nécessaire - les cas où l'on ne dispose pas d'informations Pour les variants rares ou incidents, la phrase « A discuter en RCP moléculaire » doit être indiquée au niveau du compte-rendu.
Pour le rendu des résultats, il est nécessaire de connecter les variants rares détectés avec des essais cliniques (Phase I) Le laboratoire peut se renseigner dans le cadre d'un réseau ou de base de	Catalogue des essais ouverts accessible aux laboratoires	Les plateformes doivent avoir accès aux essais en cours.

données nationale / internationale		
L'évolution des panels doit prendre en compte les essais ouverts		
Dans le cadre de la RCP moléculaire, le compte-rendu de l'analyse doit être un document unique avec l'ensemble des anomalies identifiées (actionnable ou non actionnable) en hiérarchisant l'utilité clinique	Document unique avec compilation des résultats Intégration des résultats pathologie + moléculaire Serveur résultats Formaliser les décisions de RCP : compte-rendu	Un document unique doit rassembler l'ensemble des résultats concernant le patient en amont de la RCP. Quand la RCP a eu lieu, les décisions doivent être formalisées au sein d'un compte-rendu.

ATELIER 4 – RESTITUTION EN PLENIERE

Organisation d'une RCP moléculaire

Benjamin Besse, Villejuif et Ludovic Lacroix, Villejuif

En pratique, les RCP moléculaires peuvent être hebdomadaires ou mensuelles. Selon les structures et la préparation des régions, entre 5 et 60 cas patients sont étudiés mensuellement en RCP moléculaire. Une équipe a même rapporté la présence d'un comité technique pour travailler en amont sur les données moléculaires. Quelques RCP moléculaires impliquent plusieurs établissements.

AFFIRMATION	DECISION	RESTITUTION
Prévoir une transition de la RCP d'organe vers RCP dédiée ? Uniquement des RCP moléculaire pan-tumorale ? (selon l'activité des PTF) Composition de la RCP ?	Articulation avec la RCP classique ? - Besoin de lien/ continuum car décision finale (plan thérapeutique) en RCP classique/par le prescripteur. → Mais généralement séparée Pan-tumorale ou organe spécifique ? Les deux cas. - Lien avec recrutement → + tendance pan-tumeur Composition de la RCP moléculaire : clinicien*, biologiste* (somatique et/ou constitutionnel), pathologiste*, ARC, IRC... rarement autre (bio-informaticien, radiologue, pharmacien...). Représentant de l'ANSM ? - Doit aider à inclure les patients au de-là « territoire » de la plateforme... tous doivent jouer le jeu. *obligatoire	Un lien est toujours nécessaire entre la RCP conventionnelle et la RCP moléculaire, la première restant la pierre angulaire de la décision concernant l'attitude thérapeutique à adopter pour le patient. La RCP moléculaire permet de discuter spécifiquement des anomalies. Quelques RCP sont dédiées à l'oncologie thoracique, et d'autres plutôt pan-tumorales selon la file active des patients et l'organisation des plateformes et des services d'oncologie. Les 2 cas existent donc. Néanmoins, l'évolution tend vers des RCP pan-tumorales avec l'intérêt de pouvoir partager l'expérience des cliniciens et de chacun par rapport à des thérapeutiques qui ont des indications dans une certaine localisation. Ceci permet de renforcer les échanges. Selon les recommandations de l'InCA trois corps de métiers sont indispensables pour composer une RCP. Ceux qui se révèlent indispensables sont : clinicien, biologiste et pathologiste. En fonction des RCP, la population de participants peut être très variable et inclure des ARC, IRC ou encore bio-informaticien, radiologue, pharmacien... Il a même été suggéré la présence souhaitée d'un représentant de l'ANSM. La RCP moléculaire doit aider à inclure les patients au-delà du territoire de la plateforme pour offrir à chaque patient l'accès à toutes les innovations thérapeutiques.

Objectif des RCP • Discussion des variants rares / non liés à une AMM. Uniquement discuter des résultats atypiques ? • Orientation vers des essais cliniques uniquement ? Place du hors AMM ? • Faut il un référentiel sur le rôle d'une RCP moléculaire ?	Uniquement les variants atypiques pour la pathologie (éviter redondance avec RCP conventionnelle) Recommandation sur les possibilités mais pas choix direct du traitement hors AMM plutôt que Essais etc. - Représentation de l'ANSM en RCP Rôle de l'InCA pour proposer un référentiel (<i>Annals of Onco 2014 – référentiel thorax proposé</i>) Nécessité de consentement (ut. Recherche ? Constitutionnel ?)	Les RCP moléculaires ont surtout un intérêt pour les variants rares voire atypiques pour la pathologie. Les variants standards qui correspondent à une AMM doivent rester au sein des RCP conventionnelles. Ce ne sont pas les RCP moléculaires qui vont décider de la stratégie thérapeutique à proposer à un patient. Leur rôle est de donner des orientations pour des choix qui peuvent être effectués en fonction des molécules. D'où l'intérêt de la participation d'un représentant de l'ANSM. Une unanimité s'est dégagée en faveur de la mise à disposition d'un référentiel afin d'uniformiser le rôle de la RCP moléculaire. Ce référentiel devrait être proposé par l'InCA. Un débat a aussi porté sur les consentements, en particulier en dehors du cadre de l'AMM et dans le cadre de la recherche clinique.
Rôle de la RCP dans la prescription des analyses étendues ? • En aval ou en amont ? • Contenu des comptes rendus de RCP ? • Suivi des recommandations Retour des bénéfices pour la prise en charge Nécessité d'une base de donnée, par site, ou nationale	Lien aussi avec les propositions de RIHN - Panels standards en aval - Panels élargis plutôt en amont → Pas évident pour tous. Possibilité de contexte précis de prescription ? Recommandation sur la possibilité mais pas directement de prescription (avis consultatif) Suivi activité - Oui nécessaire	La RCP moléculaire interviendrait aussi dans la décision du panel élargi pour un patient donné. Cela ne s'est pas révélé évident pour l'ensemble des participants. Peut-être qu'une identification de groupes de patients éligibles d'emblée à une analyse élargie (avant la RCP moléculaire) doit être discutée ? La RCP moléculaire rend des recommandations, un avis consultatif.
Rôle de la RCP dans le recueil : • Du suivi des recommandations ? • Des bénéfices observés lors la prise en charge en fonction de ces recommandations ? Nécessité d'une base de donnée standardisée ? par site ? nationale ?	Beaucoup de discussion sur le format. - Beaucoup de travail pour les mettre en place Risque de biais vers hors AMM A structurer en nationale - Difficile au-delà - Peut être plus facile par site ? (SIH)	Une base de données standardisée de suivi d'activité semble nécessaire, même implémenter les données cliniques semble difficile. Le plus simple, à l'heure actuelle, serait la mise en place de bases de données par site.

Abréviations utilisées :

ADN : acide désoxyribonucléique

AMM : autorisation de mise sur le marché

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament

ARC : attaché de recherche clinique

CBNPC : cancer bronchique non à petites cellules

IRC : infirmier de recherche clinique

EGFR : récepteur du facteur de croissance épidermique (epidermal growth factor receptor)

FDA : food drug administration

IHC : immunohistochimie

NGS : next generation sequencing (séquençage de nouvelle génération)

PCR : polymerase chain reaction

RCP : réunion de concertation pluridisciplinaire

SG : survie globale

SSP : survie sans progression

TKI : inhibiteur de tyrosine kinase (tyrosine kinase inhibitor)

VSI : variants de signification inconnue

WT : wild type

FIN DU DOCUMENT