



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE

Evaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) en cancérologie

Septembre 2019

Ce rapport d'évaluation technologique, réalisé en vue d'une prise en charge par l'assurance maladie obligatoire, est téléchargeable sur www.has-sante.fr

Haute Autorité de santé

Service communication - information

5, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Sommaire

Abréviations et acronymes	4
Résumé	5
1. Contexte de la demande.....	7
2. Introduction.....	8
2.1 Rappels terminologiques.....	8
2.2 Eléments généraux sur les tumeurs solides et leucémies concerné(e)s par l'évaluation	9
2.3 Principales techniques actuellement utilisées pour la détection des anomalies chromosomiques et géniques en cancérologie.....	11
3. Méthode.....	16
3.1 Champ, objectifs et méthode de l'évaluation	16
3.2 Recherche et sélection documentaires.....	16
3.3 Recueil de la position argumentée des parties prenantes.....	18
4. Résultats de l'évaluation	19
4.1 Analyse de la littérature	19
4.2 Position des Conseils nationaux professionnels (CNP).....	19
4.3 Synthèse des données recueillies.....	24
Conclusions	26
Annexe 1. Liste des sites Internet consultés pour la rédaction de la partie « Introduction » du présent document.....	27
Annexe 2. Classification OMS 2016 des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)	28
Annexe 3. Classification OMS 2016 des leucémies aiguës myéloïdes (LAM)	29
Annexe 4. Recherche documentaire	30
Annexe 5. Analyse des recommandations de bonne pratique (RBP) sélectionnées pour l'évaluation de l'intérêt potentiel de l'ACPA dans les trois types de tumeurs solides étudiés.....	33
Annexe 6. Analyse des RBP sélectionnées pour l'évaluation de l'intérêt potentiel de l'ACPA dans le contexte des trois types de leucémies étudiés.....	35
Annexe 7. Analyses des RBP apportant des préconisations de mise en œuvre des techniques de cytogénétique en oncologie.....	37
Annexe 8. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des neuroblastomes	38
Annexe 9. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP d'oncologie médicale pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des sarcomes	41
Annexe 10. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de neurochirurgie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des gliomes	44
Annexe 11. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de d'hématologie pour l'évaluation de l'ACPA en oncohématologie (LAL, LAM, LLC).....	46
Annexe 12. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des LAL.....	50
Annexe 13. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des LAM.....	55
Annexe 14. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire.....	57
Annexe 15. Liste des tableaux.....	60
Références	61
Fiche descriptive.....	63

Abréviations et acronymes

CNAMTS.....	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés
CNP	Conseil national professionnel
CNV	<i>copy number variants</i>
FISH.....	<i>fluorescence in situ hybridization</i>
INCa.....	Institut national du cancer
Kb.....	kilobase
LAL.....	leucémie aiguë lymphoblastique
LAM.....	leucémie aiguë myéloïde
LLC	leucémie lymphoïde chronique
LOH.....	<i>loss of heterozygosity</i>
Mb.....	mégabase
MLPA	<i>multiplex ligation-dependent probe amplification</i>
NABM.....	Nomenclature des actes de biologie médicale
NGS	<i>new generation sequencing</i>
NICE	<i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i>
RBP.....	recommandations de bonne pratique
RIHN	Référentiel des actes innovants hors nomenclature
RNA-seq	<i>RNA sequencing</i>
RT-PCR	<i>reverse transcriptase polymerase chain reaction</i>
SNP.....	<i>single nucleotide polymorphism</i>

Résumé

Contexte - Objectifs

La technique d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) est une technique de cytogénétique moléculaire qui permet de détecter des variations quantitatives du génome, correspondant à des pertes ou gains de matériel chromosomique (délétions, duplications, insertions, anomalies de nombre de chromosomes...), ceci à l'échelle de l'ensemble du génome et avec une résolution très supérieure à celle du caryotype conventionnel considéré comme la technique de référence depuis les années 1960. L'ACPA étant actuellement prise en charge par une modalité particulière et transitoire (« Liste complémentaire du Référentiel des actes innovants hors nomenclature »), elle a fait l'objet d'une demande d'évaluation par la HAS, conjointement par le ministère de la santé et l'Assurance maladie, en vue d'une prise en charge par une modalité plus pérenne (« Nomenclature des actes de biologie médicale »).

A l'heure actuelle, l'ACPA semble utilisée dans différents contextes médicaux, parmi lesquels la cancérologie¹, bien que les indications potentielles tout comme les objectifs de son utilisation dans ce domaine d'application n'apparaissent pas clairs d'emblée. Dans ce contexte, il a été décidé de limiter le champ de l'évaluation aux cancers pour lesquels une utilisation de l'ACPA a été rapportée par l'Institut national du cancer (INCa) en 2017, à savoir les sarcomes, neuroblastomes, gliomes, leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL), leucémies aiguës myéloïdes (LAM), et leucémies lymphoïdes chroniques (LLC).

Sur ces bases, les principaux objectifs de la présente évaluation ont été de déterminer, d'une part, à quelles fins (diagnostiques, pronostiques et/ou thérapeutiques) l'ACPA est utilisée en pratique courante dans les contextes cancéreux susmentionnés et, d'autre part, la place de l'ACPA au regard des techniques plus classiquement utilisées dans ces situations cliniques.

Méthode

La méthode utilisée pour la présente évaluation a reposé sur une analyse critique des recommandations de bonne pratique (identifiée par une recherche systématique) de stratégie diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique de prise en charge des patients dans les contextes cancérologiques choisis, et sur la position argumentée de différents Conseils nationaux professionnels auditionnés en tant que parties prenantes (oncologie médicale, neurochirurgie, hématologie, pédiatrie et génétique).

Conclusions

Au total, en se fondant sur les données de littérature et les positions argumentées des CNP, les conclusions de la HAS sont les suivantes :

- l'ACPA fait partie d'un panel de techniques de cytogénétique et génétique moléculaire (caryotype, FISH, MLPA, RT-qPCR, NGS ciblé...) qui présentent toutes des avantages et limites spécifiques, mais dont la combinaison appropriée permet de mener à bien la recherche des multiples anomalies génétiques, de diverses natures et dont le nombre croît régulièrement, recherche d'ores et déjà intégrée par les professionnels à la prise en charge courante des patients atteints par certains des cancers évalués. L'ACPA participe ainsi à répondre à des objectifs diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique. De par sa capacité à détecter conjointement en une seule technique et avec une haute résolution les anomalies de nombre de copies (*copy number variation*, CNV) à l'échelle du génome entier, les anomalies de ploïdie et les pertes d'hétérozygotie (SNP *array* uniquement), elle n'a pas d'équivalent parmi les techniques actuellement inscrites à la NABM ;

¹ Les contextes de diagnostic pré- et postnatal d'anomalies constitutionnelles seront traités dans d'autres rapports d'évaluation.

- le séquençage (très) haut débit de l'exome et du génome entier offre certes la perspective de détecter en une seule technique tous les types d'anomalies d'intérêt et de rendre ainsi obsolètes la plupart des techniques actuelles, mais il n'est pour l'heure pas possible de déterminer dans combien de temps cette technologie pourrait en pratique se substituer aux techniques actuelles pour un usage courant (en l'état ACPA et MLPA pour la détection conjointe hautement résolutive d'un large panel de CNV) ;
- la HAS précise que, la présente évaluation concluant à l'intérêt de l'ACPA en tant que technique de cytogénétique présentant certains avantages spécifiques au sein d'un arsenal de techniques disponibles, il ne semble pas y avoir de rationnel à restreindre cette technique à une liste limitative de cancers (en l'occurrence une partie de ceux évalués dans ce rapport) dès lors qu'il est préconisé de rechercher des anomalies génétiques relevant des capacités de détection de l'ACPA pour prendre en charge ces cancers. L'ACPA apparaît alors indiquée dans les : « contextes cancérologiques pour lesquels une recherche simultanée et hautement résolutive d'un panel d'anomalies de nombre de copies (*copy number variation*) est nécessaire », en précisant que seule l'utilisation des puces de type SNP *array* est recommandée ;
- enfin, la HAS souligne que les contextes cancérologiques pour lesquels une utilisation de l'ACPA a pu être initialement identifiée, correspondent (quasiment) tous à des cancers rares. Cette particularité implique une prise en charge des patients par des centres experts et la centralisation des analyses génétiques avancées par un nombre limité de laboratoires de référence relevant *a priori* tous d'établissements de santé de type centres hospitalo-universitaires ou de lutte contre le cancer. Dès lors, si la HAS estime que l'ACPA trouve bien sa place en cancérologie dans les conditions précisées ci-dessus, elle s'interroge sur le mode de financement le plus adapté car, dans la situation ainsi décrite, une inscription sur la NABM n'apparaît pas d'emblée comme la modalité qui s'impose naturellement.

1. Contexte de la demande

Pour rappel, les actes de biologie médicale inscrits sur la Liste complémentaire du Référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN), actuellement financés provisoirement en tant qu'actes hors nomenclature (MERRI G03), ont vocation à faire l'objet d'une évaluation par la HAS afin de décider de la pérennisation ou non de leur prise en charge *via* inscription sur la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM). Dans ce contexte, l'évaluation de la technique d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), actuellement inscrite sur cette Liste complémentaire sous les codes B034 (intitulé : « Hybridation sur puce à ADN [sans les vérifications] ») et B050 (intitulé : « Réinterprétation d'une puce à ADN »), fait l'objet d'une demande conjointe de la Direction générale de l'offre de soins (DGOS) et de la Caisse nationale de l'assurance maladie (CNAM).

L'ACPA est une technique de cytogénétique moléculaire qui permet de détecter des variations quantitatives du génome, correspondant à des pertes ou gains de matériel chromosomique (délétions, duplications, insertions, anomalies de nombre de chromosomes...) en comparaison avec un génome de référence diploïde. Il s'agit d'une technique pangénomique d'une résolution très supérieure à celle du caryotype conventionnel, examen considéré comme de référence pour l'analyse de l'ensemble du génome depuis les années 1960. Comme expliqué dans la feuille de route de cette évaluation (1), l'ACPA semble présenter à l'heure actuelle trois principaux domaines d'application, qui sont les suivants :

- **le diagnostic postnatal** de certaines pathologies constitutionnelles, tels que la déficience intellectuelle ou les syndromes malformatifs congénitaux ;
- **le diagnostic prénatal**, dans certains contextes restant à préciser mais incluant vraisemblablement celui de la présence d'anomalies échographiques non expliquées par le caryotype ;
- **la cancérologie**².

Conformément à la feuille de route :

- l'évaluation de l'ACPA sera traitée en distinguant les trois domaines d'application susmentionnés, en commençant par le volet cancérologique qui fait l'objet du présent rapport ;
- en l'absence de littérature identifiée lors de la feuille de route, ayant permis de déterminer les indications cancérologiques potentielles de l'ACPA, il a été décidé de limiter le champ de l'évaluation aux six types de cancers pour lesquels les plateformes de génétique moléculaire de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté à la HAS une utilisation de l'ACPA en 2017³, à savoir les sarcomes, neuroblastomes, gliomes, leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL), leucémies aiguës myéloïdes (LAM), et leucémies lymphoïdes chroniques (LLC).

En cancérologie, l'ACPA pourrait, dans certains types de tumeurs solides et leucémies, présenter un intérêt spécifique [à déterminer par l'évaluation] au regard des techniques plus classiquement utilisées, et ainsi participer au diagnostic, au pronostic et/ou au traitement du cancer concerné.

² Dans le présent document, on entend par « cancérologie » la spécialité médicale d'étude, de diagnostic et de traitement des cancers, sans distinguer sous le terme général de « cancer » les tumeurs solides et leucémies.

³ Données communiquées sur le site Internet de l'INCa, confirmées et complétées par des données internes transmises par l'INCa à la HAS (sur demande de la HAS).

2. Introduction

Ce chapitre d'introduction a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus essentiellement des revues générales et des recommandations de bonne pratique (RBP), et complétée par la consultation de différents sites Internet. Les références bibliographiques sont mentionnées au fil du texte, et les sites Internet consultés sont listés en Annexe 1.

2.1 Rappels terminologiques

- **Amplification** : augmentation du nombre de copies d'un ou plusieurs gènes, voire de régions chromosomiques entières.
- **Aneuploïdie** : perte ou gain d'un ou plusieurs chromosomes.
- **Anomalie chromosomique** : tout remaniement du nombre ou de la structure des chromosomes. Ces anomalies peuvent :
 - s'observer de manière **constitutionnelle** (présentes dès la naissance) ou de manière **acquise** au cours de processus malins (elles ne sont alors observées qu'au niveau des cellules tumorales). Elles peuvent impliquer un ou plusieurs chromosomes ;
 - être dites **homogènes** quand toutes les cellules examinées portent l'anomalie, ou **en mosaïque** quand une fraction seulement des cellules est anormale ;
 - être dites **équilibrées** quand, au total, il n'y a ni perte ni gain de matériel génétique, ou **déséquilibrées** dans le cas contraire.
- **Copy number variant (CNV)** : segment d'ADN de 1 000 paires de bases ou plus présent dans un nombre variable de copies comparé à un génome diploïde de référence.
- **Cytogénétique** : étude des chromosomes au niveau cellulaire.
- **Délétion** : perte de matériel génétique allant de la taille d'un exon à un ou plusieurs gènes, voire perte de régions chromosomiques entières.
- **Disomie uniparentale** : présence chez une personne de deux chromosomes d'une même paire provenant d'un seul de ses parents.
- **[technique de] Génétique moléculaire** : étude de la structure, de la fonction et/ou du niveau d'expression des gènes au niveau moléculaire (ADN, ARN).
- **Inversion** : changement d'orientation d'une région chromosomique entière.
- **Mutation** : anomalie de la séquence génomique portant sur une ou plusieurs bases d'un gène.
- **Perte d'hétérozygotie** (communément appelée LOH pour *loss of heterozygosity*) : perte d'un des deux allèles d'un organisme diploïde pouvant conduire à une hémizygotie (un seul allèle sur un locus donné) ou encore au remplacement de l'allèle manquant par une copie de l'allèle restant (cnLOH : *copy neutral loss of heterozygosity*).
- **Polyplôïdie** : nombre anormal de lots haploïdes entiers de chromosomes. Exemple : la triploïdie correspond à la présence de trois lots haploïdes de chromosomes dans la même cellule ($3N=23 \times 3=69$ chromosomes).
- **Translocation** : déplacement de régions chromosomiques entières entre deux chromosomes non homologues pouvant aboutir à la juxtaposition de parties de gènes habituellement séparées, conduisant à la création de **gènes de fusion**, dont le début correspond à une partie du gène porté par le premier chromosome et la fin correspond à une partie du gène porté par le second chromosome. Parfois ces gènes de fusion codent pour des protéines hybrides/chimériques ayant une activité oncogène.

2.2 Eléments généraux sur les tumeurs solides et leucémies concerné(e)s par l'évaluation

Les éléments présentés dans cette sous-partie du document se limitent à des données jugées directement utiles dans le cadre de la présente évaluation, à savoir :

- des données épidémiologiques (incidence, âge des patients) illustrant le fait que tous les cancers concernés par cette évaluation sont des cancers rares⁴ (à l'exception de la leucémie lymphoïde chronique chez le sujet âgé), et que plusieurs d'entre eux relèvent quasi-exclusivement de la cancérologie pédiatrique ;
- des éléments relatifs à la classification en différents sous-types de ces cancers ;
- certaines anomalies cytogénétiques essentielles dont la recherche est d'ores et déjà intégrée dans la stratégie diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique courante de ces cancers.

A noter par ailleurs que dans cette sous-partie comme dans la suite du rapport, les gènes concernés par des remaniements sont désignés par leurs acronymes communément utilisés dans la littérature (sans plus de précisions, jugées inutiles pour répondre aux objectifs de l'évaluation [cf. partie Méthodes pour ces derniers]).

2.2.1 Tumeurs solides

► Neuroblastomes

Le neuroblastome est une tumeur rare dont l'incidence est de l'ordre de 130 à 150 nouveaux cas par an en France. Bien que rare, il s'agit de la tumeur maligne solide extra-cérébrale la plus fréquente du jeune enfant. Elle atteint les cellules de la crête neurale donnant naissance au système nerveux sympathique. Dans 90 % des cas, le neuroblastome est diagnostiqué avant l'âge de cinq ans. La présentation clinique est très variable : elle dépend de la localisation de la tumeur, qui peut se développer à partir d'une quelconque partie du système nerveux sympathique, et de son stade. Ce type de tumeur se caractérise également par une extrême variabilité évolutive, allant de la régression spontanée sans traitement à la progression rapidement fatale.

En pratique, le stade de progression tumorale et l'âge du patient au moment du diagnostic sont les marqueurs pronostiques les plus importants pour ces tumeurs, le taux de survie étant globalement très bon chez l'enfant en bas âge et/ou avec une forme localisée, et le pronostic plus sombre chez l'enfant plus grand et/ou en situation métastatique. Néanmoins, le développement de l'analyse moléculaire des neuroblastomes a par ailleurs permis d'identifier un grand nombre de remaniements impliqués dans l'extrême variabilité évolutive de cette pathologie. Parmi ces remaniements, l'amplification de l'oncogène *MYCN* est un facteur reconnu de mauvais pronostic, tout comme certaines anomalies segmentaires chromosomiques (perte du 1p, du 11q, gain du 17q...).

► Sarcomes

Les sarcomes sont également des tumeurs rares. Tous sous-types confondus, ils représentent environ 4 000 à 5 000 nouveaux cas par an en France (2).

Un sarcome est une tumeur qui se développe à partir des tissus conjonctifs (mésenchymateux) de l'organisme. Il existe plus de 50 histotypes différents et plus de 150 sous-types moléculaires, dont le retentissement et la gravité sont très variables selon leur localisation, leur degré d'agressivité (bénignes ou malignes, alors classées en différents grades en fonction de leur agressivité), leur nature (type de cellules à l'origine de la tumeur) et leurs caractéristiques génétiques (présence ou non de remaniements spécifiques du matériel génétique).

On distingue deux grands types de sarcomes : les sarcomes des tissus mous et les sarcomes osseux.

⁴ On parle de cancer rare lorsque l'incidence annuelle de ce cancer est inférieure à 6/100 000 personnes (2).

Les sarcomes des tissus mous se développent principalement chez des adultes autour de la cinquantaine, mais ils peuvent survenir à tout âge et 10 % des patients sont des enfants et des adolescents. En l'occurrence, certains sarcomes prédominent chez les patients de tranches d'âge particulières. Peuvent être notamment cités les rhabdomyosarcomes, plus fréquents chez les enfants, les liposarcomes plus fréquents chez les adultes entre 40 et 50 ans, ou les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) pour lesquelles l'âge moyen des patients est de 60-65 ans.

Les sarcomes osseux touchent essentiellement des patients jeunes. Parmi ces sarcomes, on retrouve notamment :

- les ostéosarcomes, qui sont les tumeurs osseuses malignes les plus répandues, bien que restant rares dans l'absolu (150 nouveaux patients par an en France). Ils touchent principalement les enfants et les jeunes adultes de sexe masculin (10-20 ans), mais peuvent survenir à tout âge ;
- le sarcome d'Ewing, également rare (100 nouveaux patients par an en France), qui concerne principalement les enfants et adolescents, mais aussi l'adulte de moins de 30 ans ;
- les chondrosarcomes, qui touchent plutôt les adultes de 30 à 60 ans.

Les sarcomes étant des tumeurs rares et très variées, leur diagnostic est complexe. Celui-ci est posé sur l'analyse de critères morphologiques et des études complémentaires immunohistochimiques, auxquelles s'ajoute notamment la recherche de certaines anomalies cytogénétiques. En effet, la détection de certaines anomalies chromosomiques spécifiques, telles que certaines translocations spécifiques ou l'amplification de la région chromosomique 12q13-15 (qui entraîne une surexpression des oncogènes *MDM2* et *CDK4*), permet de distinguer certains sous-types de sarcomes en complément du diagnostic histologique/immunohistochimique.

► Gliomes

Avec une prévalence d'environ 5 à 8 cas pour 100 000 habitants et par an, les gliomes sont les tumeurs cérébrales primitives de l'adulte les plus fréquentes. De 2 500 à 3 000 nouveaux cas sont diagnostiqués par an en France.

Les gliomes proviennent des cellules contenues dans le tissu de soutien du cerveau, la glie. Ils sont classés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (version 2016 actuellement) en fonction de la cellule gliale d'origine et du degré de différenciation, et peuvent présenter quatre grades de malignité (3-7) :

- les gliomes de grade I, ou astrocytomes pilocytiques ;
- les gliomes de grade II, ou gliomes diffus de bas grade, qui représentent approximativement 10-15 % des gliomes). Ils affectent essentiellement les patients jeunes ;
- les gliomes anaplasiques ou gliomes de grade III, définis par leur type cellulaire. Ils se déclinent en astrocytomes, oligodendrogliomes ou oligo-astrocytomes anaplasiques. Survenant en moyenne chez l'adulte autour de 45 ans, ces tumeurs représentent environ 20-30 % des cas de gliomes ;
- les gliomes de grade IV ou glioblastomes, qui représentent environ 60 % des cas de gliomes. L'incidence des glioblastomes est de l'ordre de 2 à 5 cas/100 000 habitants en Europe. Très faible chez l'enfant, elle augmente de manière linéaire jusqu'à 75 ans pour diminuer ensuite. On peut estimer à 2 000 le nombre de nouveaux cas de glioblastomes en France par an.

Outre le grade de malignité, auquel le pronostic est directement lié, les principaux facteurs pronostiques liés au patient sont l'âge, l'indice de performance (échelle de l'*Eastern Cooperative Oncology Group* [ECOG] ou Karnofsky), la présence de déficits neurologiques et la présence ou absence de biomarqueurs tumoraux parmi lesquels une anomalie cytogénétique associée à un pronostic favorable, qui est la perte génétique du fragment de chromosome 1p/19q (codélétion ou perte d'hétérozygotie) (3-5).

2.2.2 Oncohématologie

► Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)

Les LAL sont des proliférations malignes aboutissant à l'accumulation clonale dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, de cellules immatures de la lignée lymphoïde arrêtées au stade de lymphoblastes de la voie normale de différenciation. Près de 85 % des cas de LAL proviennent des lymphocytes B, et 15 % proviennent des lymphocytes T. L'incidence des LAL est de l'ordre de 1,5 nouveau cas pour 100 000 habitants par an en France, soit environ 1 000 nouveaux cas annuels. Cette pathologie représente 80 % des leucémies aiguës de l'enfant et 20 % de celles de l'adulte, avec deux pics de fréquence : chez l'enfant de deux à dix ans (75 % des cas sont diagnostiqués avant six ans) et chez l'adulte à partir de 50 ans.

La distinction de différents sous-types de LAL sur la base de la classification OMS 2016 repose sur la recherche d'un certain nombre d'anomalies cytogénétiques conditionnant le pronostic et impactant la nature du traitement. Ainsi, pour ce qui est des LAL de type B, qui sont les plus fréquentes, la classification OMS 2016 distingue neuf sous-types (dont deux entités provisoires) en fonction de la présence/absence des anomalies cytogénétiques récurrentes. Ces anomalies sont détaillées dans l'Annexe 2 du présent document (8-10).

► Leucémie aiguë myéloïde (LAM)

Les LAM constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes caractérisées par l'accumulation dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, de progéniteurs des cellules sanguines de nature myéloïde qui ont perdu totalement ou partiellement leur capacité à se différencier. L'incidence annuelle des LAM est d'environ 5 nouveaux cas pour 100 000 habitants en France, soit environ 3 000 nouveaux cas par an, avec un âge médian de présentation autour de 65-70 ans.

La cytogénétique, associée à la détection moléculaire de certaines mutations géniques, joue un rôle majeur dans la classification OMS 2016 des LAM et dans la stratification du risque de rechute/décès des patients (8, 10). Les anomalies concernées sont détaillées dans l'Annexe 3.

► Leucémie lymphoïde chronique (LLC)

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est définie comme une prolifération monoclonale d'une population mature de lymphocyte B. Il s'agit de la plus fréquente des leucémies de l'adulte. Son incidence annuelle augmente avec l'âge : de 5 cas après 50 ans à 30 cas après 80 ans pour 100 000 habitants. On a dénombré en France 4 680 nouveaux cas de LLC en 2018. L'âge médian de découverte est de l'ordre de 70 ans (10).

Par opposition aux leucémies aiguës, la leucémie lymphoïde est dite chronique car elle évolue lentement sur plusieurs années. Le démarrage d'un traitement dépend du stade de la maladie et les critères pronostiques orientent vers une simple surveillance ou la prescription d'une chimiothérapie. Les anomalies cytogénétiques sont des critères pronostiques majeurs, et trois d'entre elles sont actuellement classiquement recherchées (11) : la délétion 13q14 de bon pronostic, la délétion 11q généralement de mauvais pronostic, et la délétion 17p de mauvais pronostic.

2.3 Principales techniques actuellement utilisées pour la détection des anomalies chromosomiques et géniques en cancérologie

Les revues générales et RBP utilisées pour rédiger cette partie 2.3 sont les publications référencées (10, 12-16).

2.3.1 Cytogénétique conventionnelle - caryotype

Le caryotype a été mis au point dans les années 1960 ; c'est la technique historique de référence de détection des anomalies chromosomiques.

Principe de la technique

Le caryotype permet une étude globale et cellulaire du génome avec une résolution limitée à environ 5 Mb (mégabases). La réalisation du caryotype impose une étape de culture cellulaire. Les chromosomes sont analysés au stade métaphasique (ou prométaphasique) du cycle cellulaire. Les cellules sont fixées, puis étalées sur une lame. Les chromosomes sont colorés à l'aide de divers colorants, généralement le Giemsa (bandes G et bandes R), qui produisent des motifs de bandes sur les chromosomes avec une résolution de 400 à 650 bandes par lot haploïde de chromosomes. Les chromosomes et leurs bandes sont ensuite examinés au microscope à la recherche d'anomalies, par exemple la perte ou le gain de chromosomes entiers, ou des translocations de tout un bras (ou d'une partie de celui-ci) d'un chromosome à un autre.

Principaux intérêts dans le contexte cancérologique

Le caryotype permet de visualiser l'intégralité du génome (technique dite pangénomique) tout en distinguant les chromosomes individuels. En pratique, il permet essentiellement la détection d'anomalies du nombre de chromosomes et de réarrangements chromosomiques de taille supérieure à 5 Mb.

Principales limites dans le contexte cancérologique

L'intérêt du caryotype est notamment limité par sa résolution assez faible (au maximum 5 Mb) et la nécessité d'obtenir des mitoses (du fait de l'étape nécessaire de réussite de la culture cellulaire).

2.3.2 Cytogénétique moléculaire

► Technique d'hybridation fluorescente *in situ* ou FISH (*fluorescent in situ hybridization*)

La mise au point de la technique FISH remonte au début des années 1980.

Principe de la technique

Cette technique repose sur l'hybridation de sondes de séquences d'ADN spécifiques, couplées à un marqueur fluorescent, avec de l'ADN du patient, suivie par la détection ultérieure au microscope de la présence, de l'absence, du nombre anormal d'exemplaires ou d'emplacements pathologiques d'un signal de fluorescence donné. Sa résolution est de l'ordre de l'ordre de 100-300 kb (kilobases).

Principaux intérêts dans le contexte cancérologique

La FISH permet notamment :

- la détection/confirmation d'anomalies de nombre de chromosomes ;
- la détection/confirmation de translocations à l'origine de la formation de gènes de fusion, *via* l'utilisation de deux sondes chromosomiques fluorescentes de couleurs différentes, qui reconnaissent des régions chromosomiques placées de part et d'autre des points de cassure et mettent ainsi en évidence la cassure du chromosome et la fusion des deux chromosomes anormaux ;
- la détection d'amplifications et délétions géniques, en utilisant une sonde marquée se fixant dans la région chromosomique du gène d'intérêt.

Principaux avantages par rapport au caryotype

La FISH offre un niveau de résolution très supérieur à celui du caryotype pour identifier les délétions, insertions, duplications et points de cassure des translocations (100-300 kb vs 5 Mb).

La FISH interphasique présente en outre l'avantage de s'affranchir de la culture cellulaire car les sondes d'une taille de plus de 150 kb sont visualisables dans le noyau interphasique.

Principales limites dans le contexte cancérologique

- La FISH ne permet qu'une étude ciblée du génome, car elle ne peut détecter que les séquences d'ADN spécifiques dont les sondes utilisées sont complémentaires et auxquelles elles peuvent s'hybrider.
- L'utilisation de la FISH oblige à recourir à un grand nombre de sondes (processus coûteux et chronophage) lorsque le nombre de remaniements d'intérêt à rechercher est conséquent.

► Analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) - technique faisant l'objet de la présente évaluation

La mise au point de la technique d'ACPA remonte à la fin des années 1990 et le développement des puces à ADN oligonucléotidiques (celles actuellement utilisées) au milieu des années 2000.

Principe de la technique

Comme évoqué précédemment, l'ACPA est une technique de cytogénétique moléculaire pangénomique qui permet de détecter des variations quantitatives du génome, correspondant à des pertes ou gains de matériel chromosomique en comparaison avec un génome de référence diploïde. Ces variations quantitatives sont appelées variations du nombre de copies ou *copy number variants* (CNV). La résolution de cette technique est élevée, actuellement de l'ordre de 10-100 kb pour les puces utilisant des sondes oligonucléotidiques.

Cette technologie dite sur « puces à ADN » utilise le principe de l'hybridation génomique comparative (ou *comparative genomic hybridization*, CGH) qui consiste à cohybrider une même quantité d'ADN d'un patient et d'un témoin contrôle, marqués chacun par un fluorochrome de couleur différente, sur un réseau de séquences d'ADN, appelées sondes, complémentaires de séquences précises d'emplacement connu dans le génome et réparties sur l'intégralité du génome. C'est l'ensemble de ce dispositif qui est appelé « puce à ADN » ou *microarray*. Après hybridation, les signaux générés par les deux fluorochromes sont numérisés, et un rapport de leurs intensités respectives (reflet du rapport de la quantité d'ADN du patient par rapport à celle du témoin) est établi au niveau de chaque fragment d'ADN fixé. Des logiciels dédiés effectuent un traitement statistique des données puis les résultats sont présentés sous forme de représentation graphique. Les rapports d'hybridation sont proches de zéro pour toutes les régions sans anomalie structurale alors qu'une déviation significative de cette valeur sur plusieurs signaux d'une même région génomique suggère la présence d'anomalies, perte ou gain d'ADN. Cette analyse est répétée à l'ensemble du génome.

En marge des puces « classiques » de CGH *array*, d'autres types de puces, dites « puces à SNP » (pour *single nucleotide polymorphisms*) ou SNP *array*, ont été développés. Il est en effet possible de fixer sur les lames des sondes oligonucléotidiques contenant des SNPs. Pour rappel, les SNPs sont des variations portant sur une seule paire de base, distribuées uniformément dans le génome humain toutes les 100 à 1 000 paires de bases. La carte des SNPs étant établie, différents procédés ont été mis au point pour synthétiser des oligonucléotides contenant pour un locus donné les deux allèles du SNP. Ainsi, ces puces permettent non seulement d'étudier les variations de nombre de copies d'ADN aux *loci* étudiés, mais également de détecter les pertes d'hétérozygotie (ou LOH, pour *loss of heterozygosity*).

A noter qu'en France, le terme d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) a été choisi par le réseau français de cytogénéticiens s'intéressant à cette technique, appelé « AChro-Puce », pour désigner aussi bien l'analyse par CGH *array* que par SNP *array*.

Principaux intérêts dans le contexte cancérologique

- L'ACPA permet une étude globale des gains et pertes de matériel génétique à l'échelle de l'ensemble du génome avec un haut niveau de résolution (détection de microremaniements). Elle dépasse ainsi des limites importantes du caryotype (faible résolution) et de la FISH (étude ciblée du génome).

- L'ACPA permet de rechercher conjointement un grand nombre d'anomalies diverses incluant les aneuploïdies, microdélétions, amplifications/duplications et, en sus pour la SNP *array*, les polyploïdies et pertes d'hétérozygotie.
- L'ACPA ne requiert pas d'étape de culture cellulaire, et est donc utilisable lorsque le caryotype est irréalisable par échec de culture, et plus rapide à réaliser que le caryotype.
- L'ACPA est un examen automatisable, dont la lecture/interprétation des résultats n'est pas soumise à l'expertise de l'œil humain. L'automatisation permet en outre l'étude simultanée d'un plus grand nombre de patients (gain de temps technique).

Principales limites dans le contexte cancérologique

L'ACPA ne détecte pas les remaniements chromosomiques équilibrés sans perte ni gain de matériel chromosomique, telles que les translocations ou les inversions, ni les anomalies en faible mosaïque (*i.e.* lorsque moins de 10-20 % des cellules sont porteuses de l'anomalie).

2.3.3 Génétique moléculaire

► *Reverse transcriptase polymerase chain reaction* ou RT-PCR

La RT-PCR repose sur l'extraction de l'ARN du prélèvement, la transformation des ARNm en ADN complémentaire (ADNc) grâce à une transcriptase inverse, puis l'amplification par PCR de l'ADNc. La RT-PCR peut être qualitative ou permettre de faire des mesures quantitatives (quantitative RT-PCR ou RT-qPCR).

En cancérologie, la RT-qPCR est essentiellement utilisée pour détecter/confirmer des réarrangements chromosomiques connus (recherche ciblée), en particulier des translocations, en permettant de détecter et quantifier l'expression de gènes de fusion *via* la recherche des transcrits de fusion (ARNm anormaux codés par le gène de fusion). A cet effet, l'une des deux amorces est située sur le premier gène et la seconde amorce est située sur le second gène. Dans les conditions normales, il n'y a pas d'amplification puisque les deux amorces ne s'hybrident pas sur le même fragment d'ADNc (les deux gènes codent des ARNm différents). En cas de translocation, les deux amorces s'hybrident sur le même ADNc et il y a amplification.

► *Multiplex ligation-dependent probe amplification* ou MLPA

La MLPA est une méthode de PCR multiplex dépendant d'une étape de ligation, qui permet de détecter simultanément les anomalies de nombre de copies (CNV), en pratique essentiellement des délétions et duplications d'intérêt connu, pour jusqu'à 60 *loci* différents au sein du génome, identifiés par des sondes oligonucléotidiques de très petite taille. Cette technique est en outre capable de distinguer des séquences différant par un seul nucléotide et donc d'identifier certaines mutations ponctuelles. Elle permet également d'étudier les statuts de méthylation génique.

Techniquement, après avoir défini la séquence cible sur l'ADN génomique, deux sondes sont utilisées : l'une contient la première moitié de la séquence complémentaire à la séquence cible, la seconde contient la suite directe de la séquence complémentaire. Après une étape d'hybridation entre les sondes et l'ADN génomique, l'ajout d'une ligase permet l'assemblage des deux sondes en une sonde unique. Cette étape est spécifique des extrémités du site de ligation et ne permet aucun mésappariement. A l'extrémité de chaque sonde est ajoutée une séquence additionnelle universelle qui permet l'amplification par PCR des oligonucléotides ayant subi une ligation. Les oligonucléotides qui ne sont pas parfaitement hybridés à l'ADN cible ne sont pas amplifiés (16, 17).

Cette technique permet de rechercher avec une haute résolution, et en une seule analyse, un panel de délétions et duplications connues, y compris de très petites tailles. Elle est facile à mettre en œuvre grâce à la disponibilité de kits commerciaux dédiés à la recherche de CNV dans une multitude de cancers différents (dont les neuroblastomes, sarcomes, gliomes et diverses leucémies). Ses principales limites sont son caractère ciblé (*i.e.* non pangénomique), et son incapacité à détecter les anomalies chromosomiques équilibrées.

► Séquençage haut-débit, couramment appelé *new generation sequencing* (NGS)

A l'heure actuelle, en cancérologie, l'utilisation en pratique courante du séquençage haut (ou moyen) débit se limite essentiellement au séquençage d'un panel de gènes ciblé permettant de rechercher de façon simultanée un grand nombre de mutations somatiques dont on connaît l'implication dans la pathologie et qui peuvent notamment permettre d'orienter certains patients vers des thérapies dites ciblées.

En marge de cette utilisation actuelle, des techniques pangénomiques de séquençage très haut débit sont en cours de développement plus ou moins avancé :

- le séquençage du transcriptome entier (RNAseq, pour *RNA sequencing*) commence à intégrer la pratique courante de certains centres ayant les ressources et l'expertise pour le développer (et le valider pour la pratique courante). Il s'agit d'une technique pangénomique qui identifie et quantifie les ARNm issus de la transcription du génome, à l'heure actuelle essentiellement développée à des fins de détection simultanée d'un panel de translocations/transcrits de fusion (pour ce qui est du domaine cancérologique). Du fait de sa capacité à n'explorer que les gènes exprimés, cette technique n'apparaît pas être une technique de choix pour détecter les pertes et gains de matériel génétique ;
- le séquençage très haut débit de l'exome et du génome complet est encore en cours de développement et non accessible pour la pratique courante, mais il offre la perspective de rechercher en une seule analyse tous les types d'anomalies génétiques d'intérêt en cancérologie.

2.3.4 Modalités de financement actuelles des principales techniques permettant d'identifier des variations quantitatives du génome en cancérologie

Le caryotype et la FISH sont pris en charge *via* une inscription sur la NABM (voir Tableau 1 ci-dessous), alors que l'ACPA est prise en charge *via* une inscription sur la Liste complémentaire du RIHN. Parmi les autres techniques présentées dans le sous-chapitre 2.3 précédent, la MLPA figure également sur la Liste complémentaire et le séquençage haut débit sur le RIHN.

Tableau 1. Modalités de financement actuelles des principales techniques permettant d'identifier des variations quantitatives du génome en cancérologie.

Intitulé de l'examen	Modalité de financement
Caryotype oncologique	NABM - codes 0906 et 0907
Hybridation sur chromosomes métaphasiques / hybridation sur noyaux interphasiques (FISH)	NABM - codes 0903 et 904 / code 905
Hybridation sur puce à ADN / réinterprétation d'une puce à ADN (ACPA)	Liste complémentaire du RIHN - code B034 / code B050
Recherche de réarrangements génomiques ciblés par <i>multiplex ligation-dependent probe amplification</i> (MLPA)	Liste complémentaire du RIHN - code N318
Séquençage haut-débit	RIHN

NABM, nomenclature des actes de biologie médicale ; RIHN, référentiel des actes innovants hors nomenclature.

3. Méthode

3.1 Champ, objectifs et méthode de l'évaluation

3.1.1 Champ et objectifs de l'évaluation

Conformément à la feuille de route (1), le champ de l'évaluation de l'intérêt de l'ACPA en cancérologie a été limité aux six contextes oncologiques et oncohématologiques suivants : sarcomes, neuroblastomes, gliomes, LAL, LAM, et LLC ; il s'agit des six contextes pour lesquels une activité d'ACPA a été rapportée en 2017 par les plateformes de génétique moléculaire de l'INCa².

Par ailleurs, les principaux objectifs de la présente évaluation ont été de déterminer :

- à quelles fins (diagnostiques, pronostiques et/ou thérapeutiques) l'ACPA est réalisée dans ces contextes cliniques ;
- la place de l'ACPA au regard des techniques plus classiquement utilisées dans ces contextes ;
- si cette technique est actuellement intégrée ou non à la pratique courante pour tout ou partie des patients.

3.1.2 Méthode d'évaluation

Conformément à la feuille de route également, le volet cancérologique de l'évaluation de l'ACPA a été traité selon une méthode consistant à :

- réaliser une analyse critique de la littérature issue de la recherche documentaire systématique des recommandations de bonne pratique (RBP) portant sur la prise en charge courante actuelle (stratégie diagnostique, recherche d'éléments pronostiques, choix de la thérapeutique...) des patients dans les contextes cliniques entrant dans le champ de l'évaluation et/ou jugées informatives à l'égard d'un ou plusieurs des objectifs susmentionnés ;
- recueillir les positions argumentées des Conseils nationaux professionnels (CNP) concernés sur les pratiques professionnelles actuelles relevant de leur expertise en matière d'utilisation de l'ACPA (interrogation en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013) ;
- réunir ces éléments dans un rapport, soumis au Collège pour validation.

3.2 Recherche et sélection documentaires

3.2.1 Recherche documentaire

Une recherche systématique des RBP portant globalement sur les combinaisons de mots-clés « ACPA et cancer », « cytogénétique et cancer » et « ACPA et neuroblastomes/sarcomes/gliomes⁵ » a été menée selon la stratégie de recherche bibliographique détaillée dans le Tableau 2. Les équations de recherche, les mots-clés utilisés et la liste des sites Internet consultés sont détaillés en Annexe 4.

⁵ Cette recherche spécifique à ces tumeurs solides a été réalisée en complément des deux autres recherches d'ordre plus général parce que les RBP identifiées par ces dernières n'apparaissaient contributives à l'évaluation que pour l'oncohématologie.

Tableau 2. Stratégie de recherche bibliographique.

Bases de données interrogées	Medline, LiSSa, Cochrane Library
Recherches complémentaires	Sites Internet d'agences d'évaluation de technologies de santé, de structures gouvernementales, d'institutions sanitaires et de sociétés savantes compétentes dans les domaines étudiés (françaises et étrangères) ; références des publications identifiées ; références suggérées par les représentants de CNP
Période de recherche	Janvier 2007 - Janvier 2019 (puis veille bibliographique jusqu'au mois de juin 2019 inclus)
Langues	Français ou anglais

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données bibliographiques est 125. Les recherches complémentaires ont identifié 28 publications.

3.2.2 Sélection bibliographique

► Critères de sélection

Conformément à la méthode d'évaluation retenue (*cf.* ci-dessus), ont été sélectionnées les RBP portant sur la prise en charge courante actuelle (stratégie diagnostique, recherche d'éléments pronostiques, choix de la thérapeutique...) des patients dans les contextes cliniques entrant dans le champ de l'évaluation (sarcomes, neuroblastomes, gliomes, LAL, LAM, et LLC) et/ou jugées informatives à l'égard d'un ou plusieurs des objectifs définis pour l'évaluation.

► Critères de non sélection

Le processus de sélection bibliographique a exclu les publications présentant un ou plusieurs des critères de non sélection suivants :

- publications n'abordant pas les anomalies génétiques d'intérêt en pratique courante dans le(s) contexte(s) cancéreux concerné(s) par cette publication ;
- publications rendues obsolètes par une version actualisée identifiée ;
- doublons.

► Processus et résultats de la sélection

Une 1^{ère} étape de sélection bibliographique a été réalisée sur titres et *abstract*, puis une 2^{nde} étape de sélection a été menée sur lecture intégrale des publications conservées à l'issue de la 1^{ère} étape de sélection. Ce processus séquentiel de sélection a abouti à retenir les nombres respectifs de RBP suivants :

- deux RBP pour les neuroblastomes ;
- six RBP pour les sarcomes ;
- sept RBP pour les gliomes ;
- deux RBP pour les LAL ;
- trois RBP pour les LAM ;
- deux RBP pour les LLC ;
- quatre RBP dédiées à la bonne mise en œuvre des techniques de cytogénétique, incluant l'ACPA, dans le contexte des tumeurs solides et/ou de l'oncohématologie.

3.3 Recueil de la position argumentée des parties prenantes

Conformément à la feuille de route, les cinq CNP suivants ont été consultés en tant que parties prenantes au cours d'audition de sept représentants désignés par les Présidents de CNP :

- CNP d'oncologie médicale (dont relève le Groupe sarcome français) [un représentant pour les sarcomes] ;
- CNP d'hématologie [une représentante pour l'oncohématologie, interrogée sur les LAL, LAM et LLC] ;
- CNP de pédiatrie (dont relève la Société française de lutte contre les cancers et leucémies de l'enfant et de l'adolescent) [trois représentants : un pour les neuroblastomes, une pour les LAL de l'enfant et une pour les LAM de l'enfant] ;
- CNP de neurochirurgie pour les gliomes [un représentant] ;
- CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire [une représentante pour tous les cancers évalués].

Suite à ces auditions, la HAS a rédigé des comptes-rendus qui ont été soumis à relecture et validation par les représentants de CNP. Ces comptes-rendus figurent en Annexe 8 à Annexe 14 du présent document.

4. Résultats de l'évaluation

4.1 Analyse de la littérature

L'analyse critique des RBP sélectionnées pour la présente évaluation est présentée en Annexe 5 à Annexe 7. Globalement, l'ACPA n'apparaît la plupart du temps pas évoquée ou bien est brièvement mentionnée en tant que technique non essentielle mais parfois utile dans certaines situations où des anomalies génétiques d'un intérêt majeur sont des CNV, tel que pour le diagnostic de certains sous-types de sarcomes (18) ou le pronostic de certains neuroblastomes et gliomes (19-21). En résumé, l'analyse bibliographique apparaît peu contributive pour répondre aux objectifs de l'évaluation détaillés en partie 3.1.1.

Néanmoins, l'analyse de ces RBP a par ailleurs amené à constater que, quel que soit le cancer concerné, les anomalies génétiques dont la recherche est d'ores et déjà préconisée pour tout ou partie des patients, apparaissent nombreuses, de diverses natures (aneuploïdie, polyploïdie, translocation, inversion, délétion, amplification, mutation, méthylation de promoteur...) et en nombre croissant avec l'évolution régulière des connaissances dans le domaine cancérologique. Or, dans ce contexte, les RBP s'intéressent très essentiellement à définir, actualiser et consensualiser les anomalies génétiques à rechercher d'intérêt diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique, et non à préconiser des techniques particulières pour mener à bien ces recherches, cette responsabilité étant vraisemblablement considérée comme relevant ensuite de l'expertise des laboratoires. Sur cette base, l'absence de préconisations à l'égard de l'utilisation de l'ACPA pour certaines recherches cytogénétiques dans le cadre des RBP de prise en charge courante des patients n'apparaît donc pas vraiment préjuger de l'intérêt ou non en pratique de cette technique. Par contre, le nombre actuel et la multiplication des anomalies génétiques à rechercher selon les RBP analysées, implique en toute logique que des techniques pouvant détecter conjointement un panel d'anomalies génétiques soient mises à disposition.

4.2 Position des Conseils nationaux professionnels (CNP)

Dans cette sous-partie 4.2 du présent document, les représentants des CNP consultés pour une pathologie spécifique ont été dénommés ainsi : « CNP concerné/pathologie spécifique » (ex : CNP de pédiatrie/LAL).

4.2.1 L'ACPA fait partie des techniques permettant de rechercher les nombreuses anomalies génétiques des neuroblastomes, sarcomes, gliomes et LAL

La consultation des CNP a abouti à montrer ou confirmer consensuellement les éléments généraux suivants concernant quatre des six cancers évalués, à savoir les neuroblastomes, sarcomes, gliomes et LAL :

- comme suggéré par la littérature (*cf.* ci-dessus), pour ces quatre types de cancers, il existe un nombre important et croissant d'anomalies génétiques d'une grande diversité de nature (aneuploïdie, polyploïdie, translocation, inversion, délétion, amplification, mutation,...) dont la recherche est d'ores et déjà totalement intégrée aux stratégies diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique de prise en charge courante de ces cancers. Il apparaît nécessaire de disposer de techniques permettant de rechercher ce (très) grand nombre d'anomalies génétiques de manière conjointe, les techniques permettant des recherches unitaires obligeant à multiplier les analyses de manière chronophage et coûteuse (telle que la FISH pour laquelle l'augmentation du nombre d'anomalies à rechercher oblige à multiplier les sondes) ;
- la diversité de nature de ces anomalies implique de recourir à une combinaison de techniques afin de toutes les détecter car, à l'heure actuelle, aucune des techniques disponibles pour la pratique courante ne permet de les rechercher toutes simultanément. Le NGS pangénomique

(séquençage de l'exome ou génome entier) le permettra sans doute dans l'avenir mais cette technologie apparaît à l'heure actuelle encore insuffisamment validée et peu accessible en pratique courante. Les CNP ont en outre relevé qu'elle sera vraisemblablement difficile à (faire) accréditer ce qui constituera probablement un frein à cette diffusion ;

- chacune des techniques actuellement disponibles pour la pratique courante présente des avantages et limites qui lui sont propres, qu'il s'agisse de l'ACPA comme des techniques actuellement plus classiquement utilisées. A ce titre, il n'y a (selon les CNP) pas de vrai rationnel à considérer que l'ACPA serait moins indispensable à l'arsenal de technique disponibles que les techniques plus classiques, d'autant que l'utilisation quasi-systématique de ces dernières en 1^{ère} intention commencerait à relever plus de leur ancrage « historique » que de leur rapport avantages/limites au regard des techniques plus récentes (cas du caryotype en particulier) [cf. partie 2.3 du rapport] ;
- il appartient aux laboratoires de combiner les techniques disponibles de la façon la plus appropriée, en tenant compte de leurs avantages et limites respectifs, pour atteindre l'objectif escompté dans un contexte spécifiquement donné ;
- certains avantages de l'ACPA ont été à maintes reprises mentionnés par tout ou partie des CNP :
 - technique utilisable lorsque le caryotype n'est pas réalisable (échec de culture cellulaire), ce qui est notamment fréquemment le cas pour bon nombre de tumeurs solides,
 - caractère pangénomique évitant de multiplier le nombre d'analyses unitaires lorsque le nombre d'anomalies quantitatives d'intérêt est important (cf. ci-dessous : FISH et multiplication des sondes),
 - capacité de la SNP *array* (uniquement) à détecter conjointement les anomalies génomiques quantitatives mais également les déséquilibres alléliques (perte d'hétérozygotie notamment) et les anomalies de ploïdie. En l'occurrence, seul ce type de puce apparaît utilisé en cancérologie (pas d'utilisation de puce de CGH *array* ne détectant pas les SNP), et les représentants de CNP exerçant en laboratoire ont rapporté utiliser communément deux mêmes puces commercialisées de type SNP *array* densifiées au niveau des régions d'anomalies connues en cancérologie, l'une étant utilisée pour les tumeurs solides et l'autre pour l'oncohématologie ;
- en matière de limites de l'ACPA, les différents CNP ont confirmé que l'ACPA n'est, par son principe même, pas une technique de choix pour détecter les anomalies équilibrées n'entraînant ni gain ni perte de matériel génétique, donc les translocations et inversions. Concernant les translocations, les CNP ont précisé que cette limite concerne en fait globalement aussi bien les translocations dites équilibrées que celles dites déséquilibrées⁶ car les fins déséquilibres apparaissent en pratique difficiles à détecter par ACPA. En résumé, cette technique ne peut logiquement pas se substituer en 1^{ère} intention à l'utilisation d'une ou plusieurs des techniques permettant efficacement cette recherche (actuellement caryotype standard, FISH et/ou RT-PCR), en particulier pour les types de cancers pour lesquels il existe de multiples translocations d'intérêt essentiel (cas notamment de l'oncohématologie) ;
- enfin, à l'exception de la LLC chez l'individu âgé, tous les contextes cancéreux entrant dans le cadre de cette évaluation sont des cancers rares, ce qui confère à ces maladies certaines spécificités qui ont été relevées par les différents CNP et sont détaillées ci-dessous :
 - à l'échelle nationale, les patients atteints par ces pathologies sont pris en charge par un nombre restreint de centres experts et les analyses génétiques sont en corollaire réalisées par un nombre limité de laboratoires experts considérés comme de référence pour la pathologie concernée,

⁶ Beaucoup de translocations dites équilibrées ne le sont pas strictement car il existe souvent des petits déséquilibres aux points de cassure, théoriquement détectables par ACPA. Néanmoins, il semble que ces fins déséquilibres soient difficiles à détecter en pratique par l'ACPA, et que seuls des professionnels connaissant très bien la pathologie et l'ACPA sont capables de détecter des signes d'alerte dans ces régions. En outre, l'anomalie potentielle devra de toute façon être confirmée par une autre technique.

- une forte proportion de patients (voire la quasi-totalité pour les cancers pédiatriques) est incluse dans des protocoles thérapeutiques nationaux ou européens/internationaux. Ces protocoles ont la particularité d'allier des questions de recherche clinique d'ordre thérapeutique aux stratégies en vigueur de soins courants, incluant les analyses génétiques indispensables à l'évaluation du pronostic du patient et parfois au diagnostic de la tumeur, donc indispensables à la stratification du risque de rechute/décès et au choix de la thérapeutique,
- si les représentants de CNP se sont unanimement montrés en accord avec le constat fait par la HAS relatif à la quasi-absence de RBP directement contributives à l'évaluation (cf. ci-dessus), ils ont néanmoins souligné que les documents/supports tenant lieu à leur niveau de recommandations professionnelles de référence sont globalement les protocoles thérapeutiques mentionnés ci-dessus, qui s'attachent à intégrer rapidement les découvertes jugées d'importance pour la prise en charge des patients, auxquels s'ajoutent les classifications OMS (qui détaillent les anomalies moléculaires d'intérêt reconnu) et quelques RBP nationales ou européennes ne s'intéressant effectivement pas aux aspects techniques de la recherche des anomalies génétiques ;
- il est enfin à relever que le choix des techniques préférentiellement mises en œuvre par un laboratoire est en pratique fonction de nombreux paramètres : ressources matérielles et humaines, expertise dans l'utilisation des différentes techniques, mode/niveau de financement des techniques, facilité ou non d'accès à certaines techniques globalement sur le territoire ou à l'échelle locale, choix propres à chaque pays de privilégier l'utilisation d'une technique ou d'une autre en 1^{ère} intention⁷, etc.

Pour ce qui est des deux autres cancers évalués, à savoir les LAM et LLC, les CNP de pédiatrie/LAM et d'hématologie ont relevé l'existence, tout comme pour les quatre autres cancers, de diverses anomalies génétiques détectables par ACPA en expliquant qu'à ce jour ces anomalies ne sont pas recherchées en pratique courante par ACPA mais par d'autres techniques, l'accès à la technique d'ACPA étant à ce jour assez limitée aux laboratoires en centralisant la réalisation.

En sus des éléments généraux présentés ci-dessus, n'ont été détaillés ci-dessous que les éléments plus spécifiques à l'un ou plusieurs de ces types de cancer et/ou d'ordre général mais mentionnés par un unique représentant de CNP.

4.2.2 Objectif(s) spécifique(s) de l'utilisation de l'ACPA dans les contextes cancérologiques étudiés

► Pour les neuroblastomes, l'ACPA a des objectifs pronostique et thérapeutique

Selon le CNP de pédiatrie/neuroblastome, il apparaît essentiel, chez les patients considérés de bon pronostic sur la base du bilan diagnostique et d'extension initial (enfant en bas âge et/ou atteint d'une forme localisée), de s'assurer qu'ils ne présentent pas en regard de marqueur(s) génétique(s) de mauvais pronostic, car les protocoles de traitement de ces patients sont essentiellement des protocoles de désescalade. Parmi ces marqueurs sont ainsi couramment recherchés l'amplification de l'oncogène *MYCN* aujourd'hui considérée comme un facteur pronostique majeur qui influence directement la stratégie et l'intensité du traitement, mais également d'autres marqueurs génétiques de mauvais pronostic qui peuvent parfois concerner les enfants de moins de un an et/ou les formes localisées (tumeurs théoriquement de bon pronostic). Ces anomalies consistent en des altérations segmentaires du génome correspondant à des gains ou pertes de matériel génétique au niveau de segments ou de bras de chromosomes. C'est pour effectuer ces recherches que l'ACPA est utilisée. La présence de l'une de ces anomalies présage un pronostic plus sombre et impacte directement le choix du protocole thérapeutique.

⁷ Le CNP de pédiatrie/LAL a mentionné l'exemple de l'Autriche qui a remplacé le caryotype standard par la combinaison de la FISH et l'ACPA en examens cytogénétiques de 1^{ère} ligne.

► **Pour les sarcomes, l'objectif de l'ACPA est essentiellement diagnostique**

Le CNP d'oncologie médicale/sarcomes a rappelé que les sarcomes sont des maladies rares pour lesquelles il existe, selon l'OMS, un très grand nombre de sous-types histologiques et moléculaires. Parmi ces sous-types, quatre⁸ sont caractérisés par une amplification de la région chromosomique 12q13-15 entraînant une surexpression notamment des oncogènes *MDM2* (qui bloque la fonction de suppression de tumeur p53) et *CDK4* (impliqué dans la régulation du cycle cellulaire). Ces quatre sous-types histologiques représentent environ entre 15 et 20 % des sarcomes soit environ un millier de patients/an. Pour ces sous-types, l'amplification de la région chromosomique 12q13-15 constitue un élément diagnostique, quasi de certitude pour ce qui est des liposarcomes. L'ACPA serait ainsi utilisée par les laboratoires experts concernés pour confirmer ou poser le diagnostic de certains sous-types de tumeurs, cette technique permettant de rechercher conjointement l'amplification de la région chromosomique 12q13-15, mais également d'autres anomalies quantitatives d'intérêt (délétions ou amplifications) qui participent au diagnostic complexe de certains sous-types rares de sarcomes.

En marge de cet intérêt diagnostique, le CNP d'oncologie médicale/sarcome a signalé un intérêt thérapeutique probable à l'avenir, car des traitements ciblant les gènes *MDM2* et *CDK4* sont actuellement en cours d'étude.

► **Pour les gliomes, les objectifs de l'ACPA sont diagnostique, pronostique et thérapeutique**

Le CNP de neurochirurgie/gliome a expliqué que l'ACPA n'est pas une technique utilisée systématiquement pour tous les patients atteints par un gliome, mais qu'elle s'avère utile pour certains adultes, adolescents et enfants lorsque la stratégie diagnostique posée par la version 2016 de la classification internationale de l'OMS, qui repose sur une analyse histopathologique et moléculaire de base, est en échec. Il existe ainsi un certain nombre de cas de gliomes inclassables, c'est-à-dire dont le grade de malignité ne peut être précisé, alors que des grades de malignité différents impliquent des traitements pouvant être radicalement différents. Pour ces cas inclassables, l'ACPA permet de rechercher un panel d'anomalies récurrentes typiques des glioblastomes (gliomes de grade 4) mais non recherchées en 1^{ère} intention car le diagnostic et le pronostic peuvent généralement être posés par les techniques classiques. L'ACPA permet ainsi notamment de poser le diagnostic de « glioblastome moléculaire » sur des bases uniquement moléculaires et donc de proposer une prise en charge thérapeutique adaptée au grade de malignité du gliome.

► **Pour les LAL, les objectifs de l'ACPA sont principalement pronostique et thérapeutique**

Le CNP de pédiatrie/LAL a expliqué que lors du diagnostic d'une LAL, un niveau global de risque de rechute est déterminé en fonction de la leucocytose, de l'immunophénotype de la leucémie, de l'âge de l'enfant, et aussi de certaines anomalies génétiques pronostiques reconnues (cf. Annexe 2). Parmi ces anomalies génétiques, bon nombre sont des translocations/gènes de fusion, non détectables par ACPA, mais plusieurs d'entre elles peuvent être recherchées par ACPA, telles que les anomalies de ploïdie (hyperdiploïdie : bon pronostic ; hypodiploïdie : mauvais pronostic) ou encore la présence péjorative d'anomalies de nombre de copies dans certaines régions du génome telles que l'amplification intrachromosomique du chromosome 21 (*iAMP21*) ou les délétions touchant le gène *IKZF1* (codant la protéine IKAROS). Ces recherches par ACPA sont d'un intérêt majeur car la stratification du risque de rechute/décès qu'elles permettent d'établir impacte directement les choix thérapeutiques.

⁸ Il s'agit des liposarcomes bien différenciés et liposarcomes dédifférenciés, d'un type rare de sarcomes des gros vaisseaux du thorax et des ostéosarcomes.

► Cas des LAM et LLC

Comme évoqué dans la sous-partie précédente 4.2.1, les CNP concernés n'ont pas rapporté d'objectifs spécifiques de l'ACPA pour la pratique courante dans ces pathologies, cette technique n'étant pour l'heure pas couramment utilisée dans ces contextes.

4.2.3 Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients dans les contextes cancérologiques étudiés

Les situations d'intérêt spécifique d'utilisation de l'ACPA en pratique courante dans les contextes cancéreux étudiés ont été précisées par les représentants de CNP. Ces situations définies comme d'intérêt sont détaillées ci-dessous.

- Selon le CNP de pédiatrie/neuroblastome, l'ACPA serait actuellement utilisée en pratique courante pour la quasi-totalité des patients atteints par ce type de tumeur, du fait notamment de l'intérêt majeur de la recherche simultanée de l'amplification de l'oncogène *MYCN* et d'un panel d'anomalies segmentaires. Les laboratoires de référence utiliseraient ainsi déjà cette technique depuis un certain nombre d'années en 1^{ère} intention. Le CNP a en outre précisé que l'ACPA est déjà pratiquée par la plupart des laboratoires de cytogénétique constitutionnelle en France et donc facilement accessible sur le territoire.
- Le CNP d'oncologie médicale/sarcomes a souligné qu'en pratique, toutes les anomalies génétiques d'intérêt connu dans les sarcomes ne sont pas à rechercher chez tous les patients, la suspicion histopathologique d'un sous-type déterminant les anomalies à rechercher. Dans ce contexte, l'ACPA n'a lieu d'être réalisée que lorsque l'histopathologie suggère la nécessité de rechercher un panel d'anomalies génétiques quantitatives pour poser/confirmer le diagnostic. Elle apparaît alors, selon le CNP, relever des soins courants pour les patients concernés car réalisée systématiquement pour ce type de patients.
- Comme pour les sarcomes, le CNP de neurochirurgie/gliomes a souligné que l'ACPA n'a lieu d'être utilisée que pour certains cas de patients, à savoir ceux restant inclassables à l'issue des examens classiquement réalisés au diagnostic, et que, dans ce contexte, cette technique apparaît alors relever de la pratique courante puisque systématiquement réalisée pour ces cas de patients.
- Concernant l'oncohématologie, comme évoqué plus haut, la représentante du CNP de pédiatrie/LAL a rapporté, dans le cadre de son expérience personnelle en tant qu'un des centres de référence pour les LAL⁹, une utilisation de l'ACPA en pratique courante à l'heure actuelle limitée quasi-exclusivement dans son laboratoire aux cas de doute sur une anomalie de ploïdie (l'impact d'un diagnostic à tort d'hyperdiploïdie en présence d'une hypodiploïdie dupliquée pour l'évaluation du pronostic impactant directement les choix thérapeutiques étant d'une gravité majeure pour le patient).

4.2.4 Remarques quant au(x) mode(s) actuel(s) de financement de l'ACPA

Par ailleurs, les représentants de CNP ont rappelé, comme évoqué plus haut, que dans le contexte des cancers rares et en particulier de l'oncologie pédiatrique, tous les patients sont pris en charge par des centres experts et une forte proportion d'entre eux (voire la quasi-totalité pour les enfants) est incluse dans des protocoles thérapeutiques nationaux ou internationaux qui allient les soins courants à des questions de recherche clinique d'ordre thérapeutique.

Dans ce contexte particulier, les représentants de CNP exerçant en laboratoire ont expliqué que les analyses biologiques, y compris génétiques, réalisées au diagnostic pour évaluer le pronostic et stratifier les patients dans différents groupes en fonction de leur niveau de risque de chute/décès, sont généralement réalisées en tant qu'examens de soins courants, *i.e.* que ces

⁹ Sur ce point, la représentante a relevé ne pas pouvoir répondre au nom du CNP, ne sachant pas dans quelles situations précises l'ACPA est utilisée par les autres laboratoires de référence.

examens sont réalisés pour tous les patients indépendamment de la ou des question(s) thérapeutique(s) posée(s) par le protocole. En corollaire, selon ces représentants, les crédits de recherche alloués à ces protocoles ne comprennent pas les analyses génétiques ; ils sont très essentiellement dédiés au financement de la partie recherche thérapeutique. Le financement actuel de l'ACPA dans ce contexte reposerait donc quasi-exclusivement sur l'inscription actuelle de cet examen sur la Liste complémentaire du RIHN.

Sur ce point de modalités de financement actuel des examens de génétique les plus « récents » mais déjà couramment utilisés par certains laboratoires, le CNP de pédiatrie/LAL a relevé qu'une question similaire à celle de l'ACPA se posera prochainement avec la MLPA, qui est actuellement, comme l'ACPA, inscrite sur la Liste complémentaire du RIHN (code N318) donc amenée à être également évaluée pour avis de pérennisation ou non de son financement.

En outre, le CNP de pédiatrie/LAL a précisé que deux grands protocoles thérapeutiques européens sont actuellement en cours de mise en place, par lesquels seront traités prochainement l'ensemble des patients européens atteints de LAL, y compris français. Or, ces protocoles thérapeutiques prévoient tous deux d'inclure une combinaison de CNV (incluant les délétions d'*IKZF1*) pour la stratification du risque des patients. L'absence de financement en soins courants d'une des techniques de recherche combinée de CNV poserait donc un problème notable pour les laboratoires concernés.

4.2.5 Perspective du séquençage (très) haut débit comme technologie de type « tout en un »

Selon tous les représentants de CNP, si l'utilisation du NGS à l'heure actuelle en pratique courante se limite essentiellement au séquençage à haut ou moyen débit d'un panel ciblé de gènes connus comme étant impliqués dans la pathologie, le séquençage (très) haut débit pangénomique (séquençage de l'exome, séquençage du génome entier, et RNAseq) représente une perspective majeure d'avenir. En effet, ces techniques offrent la possibilité de détecter divers types d'anomalies génétiques, voire tous les types d'anomalies (mutations, délétions, amplifications, translocations...) à l'échelle pangénomique *via* un seul examen. L'accès de ces techniques à la pratique courante dans l'avenir rendrait donc probablement obsolètes la plupart des techniques actuellement disponibles, y compris l'ACPA.

Les CNP ont néanmoins souligné qu'à l'heure actuelle, les techniques de NGS pangénomique sont encore loin d'être largement diffusées/accessibles, que leur validation est encore imparfaite, et que leur accréditation pour un usage en pratique courante sera vraisemblablement complexe. Pour toutes ces raisons, il n'est selon eux pour l'heure pas possible de déterminer dans combien de temps ces techniques pourraient en pratique se substituer aux techniques actuelles pour un usage courant, et il leur apparaît donc nécessaire dans cette attente de maintenir l'accès, donc le financement, d'un panel de techniques complémentaires (incluant une technique de détection simultanée de nombreux CNV) dont la combinaison permet la détection de tous les types d'anomalies d'intérêt reconnu.

4.3 Synthèse des données recueillies

- L'analyse de la littérature sélectionnée pour l'évaluation n'a pas identifié de RBP qui permettent ni de déterminer l'intérêt de l'ACPA dans la stratégie diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique d'un ou plusieurs des cancers étudiés, ni *a fortiori* de situer la place de cet examen au regard des techniques plus classiquement utilisées. Néanmoins, il a été relevé que :
 - le caractère peu contributif des RBP de prise en charge courante des patients ne préjuge en fait pas réellement de l'intérêt ou non de l'ACPA dans les contextes cancérologiques étudiés car, dans les faits, ces RBP visent à définir/consensualiser les anomalies génétiques d'intérêt reconnu, mais ne s'intéressent pas à préconiser préférentiellement certaines techniques pour la recherche de ces anomalies ;

- par ailleurs, le nombre actuel et croissant des anomalies génétiques à rechercher selon les RBP analysées, implique en toute logique que des techniques pouvant détecter conjointement un panel d'anomalies génétiques soient mises à disposition.
- La consultation des cinq principaux CNP considérés comme principalement concernés par la présente évaluation, *via* les auditions de sept représentants, a permis d'établir les éléments consensuels suivants :
 - la difficulté à identifier des RBP jugées informatives pour l'évaluation résulte notamment du fait que les cancers évalués dans ce rapport sont le plus souvent des cancers rares, et que dans ce contexte la plupart des patients sont inclus dans des protocoles thérapeutiques nationaux. Or, ces protocoles, avec les classifications OMS en vigueur et quelques RBP nationales ou européennes, tiennent en général lieu de recommandations professionnelles de référence, et ces documents listent les anomalies à rechercher sans préciser les techniques à mettre en œuvre pour les rechercher ;
 - comme suggéré par l'analyse de la littérature, les anomalies génétiques d'intérêt dont la recherche est d'ores et déjà préconisée pour tout ou partie des patients atteints par l'un des cancers étudiés, sont nombreuses, de diverses natures et leur nombre croît régulièrement. Compte tenu des limites respectives de chacune des techniques actuellement disponibles (parmi lesquelles principalement : caryotype, FISH, ACPA, MLPA, RT-qPCR, NGS ciblé), la recherche de ces anomalies requiert d'en combiner plusieurs, et il apparaît souhaitable de privilégier celles qui permettent de rechercher le plus efficacement possible (*i.e.* conjointement et avec une résolution élevée) un grand nombre d'anomalies ;
 - parmi les techniques actuellement disponibles, l'ACPA présente des avantages importants puisqu'elle permet de détecter à elle seule les anomalies de nombre de copies (CNV) à l'échelle pangénomique avec une haute résolution et sans requérir de culture cellulaire. Elle permet en outre de détecter conjointement les anomalies de ploïdie et pertes d'hétérozygotie (SNP *array* uniquement). De ce fait, l'ACPA est déjà actuellement utilisée en pratique courante pour quatre parmi les six cancers évalués avec des objectifs diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique. Sa principale limite est son incapacité à détecter les remaniements chromosomiques n'entraînant ni gain ni perte de matériel génétique (translocations et inversions) ;
 - il relève de l'expertise des laboratoires, souvent quelques laboratoires de référence situés dans des établissements de santé et réalisant les analyses génétiques avancées de la plupart des patients atteints des cancers rares en question, de choisir et combiner les techniques disponibles de la façon la plus appropriée, en tenant compte d'une part, de leurs avantages et limites respectifs et d'autre part, des compétences humaines et des moyens matériels présents dans ces laboratoires, pour atteindre l'objectif escompté dans un contexte spécifiquement donné ;
 - le séquençage très haut débit de l'exome et du génome entier représente une perspective majeure d'avenir en offrant la possibilité de détecter avec cette une seule technique tous les types d'anomalies d'intérêt. Néanmoins, à l'heure actuelle, cette technologie est encore en développement et loin de pouvoir être mise en œuvre pour la pratique courante.

Conclusions

Au total, en se fondant sur une analyse critique des recommandations de bonne pratique (identifiées par une recherche systématique) de stratégie diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique de prise en charge des patients dans les contextes cancérologiques évalués (neuroblastomes, sarcomes, gliomes, LAL, LAM, LLC), et sur la position argumentée des Conseils nationaux professionnels auditionnés comme parties prenantes (CNP d'oncologie médicale, CNP de neurochirurgie, CNP d'hématologie, CNP de pédiatrie et CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire), les conclusions de la HAS quant à l'intérêt de l'ACPA en cancérologie sont les suivantes :

- l'ACPA fait partie d'un panel de techniques de cytogénétique et génétique moléculaire (caryotype, FISH, MLPA, RT-qPCR, NGS ciblé...) qui présentent toutes des avantages et limites spécifiques, mais dont la combinaison appropriée permet de mener à bien la recherche des multiples anomalies génétiques, de diverses natures et dont le nombre croît régulièrement, recherche d'ores et déjà intégrée par les professionnels à la prise en charge courante des patients atteints par certains des cancers évalués. L'ACPA participe ainsi à répondre à des objectifs diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique. De par sa capacité à détecter conjointement en une seule technique et avec une haute résolution les anomalies de nombre de copies (*copy number variation*, CNV) à l'échelle du génome entier, les anomalies de ploïdie et les pertes d'hétérozygotie (SNP *array* uniquement), elle n'a pas d'équivalent parmi les techniques actuellement inscrites à la NABM ;
- le séquençage (très) haut débit de l'exome et du génome entier offre certes la perspective de détecter en une seule technique tous les types d'anomalies d'intérêt et de rendre ainsi obsolètes la plupart des techniques actuelles, mais il n'est pour l'heure pas possible de déterminer dans combien de temps cette technologie pourrait en pratique se substituer aux techniques actuelles pour un usage courant (en l'état ACPA et MLPA pour la détection conjointe hautement résolutive d'un large panel de CNV) ;
- la HAS précise que, la présente évaluation concluant à l'intérêt de l'ACPA en tant que technique de cytogénétique présentant certains avantages spécifiques au sein d'un arsenal de techniques disponibles, il ne semble pas y avoir de rationnel à restreindre cette technique à une liste limitative de cancers (en l'occurrence une partie de ceux évalués dans ce rapport) dès lors qu'il est préconisé de rechercher des anomalies génétiques relevant des capacités de détection de l'ACPA pour prendre en charge ces cancers. L'ACPA apparaît alors indiquée dans les « contextes cancérologiques pour lesquels une recherche simultanée et hautement résolutive d'un panel d'anomalies de nombre de copies (*copy number variation*) est nécessaire », en précisant que seule l'utilisation des puces de type SNP *array* est recommandée ;
- enfin, la HAS souligne que les contextes cancérologiques pour lesquels une utilisation de l'ACPA a pu être initialement identifiée, correspondent (quasiment) tous à des cancers rares. Cette particularité implique une prise en charge des patients par des centres experts et la centralisation des analyses génétiques avancées par un nombre limité de laboratoires de référence relevant *a priori* tous d'établissements de santé de type centres hospitalo-universitaires ou de lutte contre le cancer. Dès lors, si la HAS estime que l'ACPA trouve bien sa place en cancérologie dans les conditions précisées ci-dessus, elle s'interroge sur le mode de financement le plus adapté car, dans la situation ainsi décrite, une inscription sur la NABM n'apparaît pas d'emblée comme la modalité qui s'impose naturellement.

Annexe 1. Liste des sites Internet consultés pour la rédaction de la partie « Introduction » du présent document

- Campus numériques de l'Université numérique francophone des sciences de la santé et du sport - thématique génétique médicale relevant du Collège national des enseignants et praticiens de génétique médicale : <http://campus.cerimes.fr/genetique-medicale/>
- Collège des enseignants de neurologie : <https://www.cen-neurologie.fr/>
- Groupe Arcagy-Gineco : <http://arcagy.org/>
- Institut Curie : <https://curie.fr/>
- Institut Gustave Roussy : <https://www.gustaveroussy.fr/>
- Institut national du cancer : <https://www.e-cancer.fr/>
- Laboratoire d'hématologie du CHU d'Angers : <http://www.hematocell.fr/>
- MRC-Holland MLPA : <https://www.mlpa.com/WebForms/WebFormMain.aspx?Tag= fNPBLedDVp38p-CxU2h0mQ>
- Orphanet : <https://www.orpha.net/>
- Réseau de cancérologie de Midi-Pyrénées : <http://www.oncomip.org/>

Annexe 2. Classification OMS 2016 des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)

D'après Arber *et al.*, 2016 (8).

Leucémies aiguës lymphoblastiques B (LAL-B)

LAL-B sans autre spécification par ailleurs (NOS)

LAL-B avec anomalies cytogénétiques récurrentes

- LAL-B avec t(9;22)(q34;q11.2) ; BCR-ABL1
- LAL-B avec t(v;11q23) ; MLL réarrangé
- LAL-B avec t(12;21)(p13;q22) ; TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)
- LAL-B avec hyperdiploïdie
- LAL-B avec hypodiploïdie
- LAL-B avec t(5;14)(q31;q32) ; IL3-IGH
- LAL-B avec t(1;19)(q23;p13.3) ; TCF3 - PBX1
- Entité provisoire : LAL-B, BCR-ABL1 - like
- Entité provisoire : LAL-B avec iAMP21

Leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL-T)

- Entité provisoire : leucémie aiguë lymphoblastique à précurseurs T précoces (*early-T*)
- Entité provisoire : leucémie aiguë lymphoblastique à cellules NK

Annexe 3. Classification OMS 2016 des leucémies aiguës myéloïdes (LAM)

D'après Arber *et al.* 2016 (8).

1. LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes

- LAM avec t(8;21) (q22;q22) ; RUNX1 - RUNX1T1
- LA promyélocytaire avec PML - RARA
- LAM avec inv(16) (p13.1q22) ou t(16 ;16) (p13.1q22) ; CBFβ - MYH11
- LAM avec t(9;11) (p22;q23) ; MLLT3 - KMT2A (MLL)
- LAM avec t(6;9) (p23;q34) ; DEK - NUP214
- LAM avec inv(3) (q21q26.2) ou t(3;3) (q21;q26.2) ; GATA2, MECOM
- LAM (mégacaryoblastique) avec t(1;22) (p13;q13) ; RBM15 - MKL1
- LAM avec mutation NPM1
- LAM avec mutation bi-allélique CEBPA
- Entités provisoires :
 - LAM avec BCR-ABL1
 - LAM avec mutation RUNX1

2. LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies

3. Néoplasies myéloïdes post-chimiothérapie

4. LAM sans autre spécification par ailleurs (NOS)

5. Sarcome granulocyttaire

6. Proliférations myéloïdes associées à la trisomie 21 constitutionnelle

Annexe 4. Recherche documentaire

Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche. Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche initiale a porté sur les publications en langue anglaise et française, de janvier 2007 à janvier 2019, sur les bases *Medline*, *LiSSa* et *Cochrane Library*. Le Tableau 3 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données bibliographiques est 125.

Tableau 3. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*.

Sujets	Termes utilisés	Période
ACPA et cancer		01/2007 - 01/2019
Etape 1	(oligonucleotide array sequence analysis OR comparative genomic hybridization OR microarray analysis)/de OR (microarray* OR oligonucleotide array sequence analysis OR comparative genomic hybridization* OR array CGH OR CGH array OR genomic array* OR genome array*)/ti	
NOT		
Etape 2	(transcriptome OR microRNAs)/de OR (transcriptom* OR mRNA)/ti,ab OR gene expression profile/ti)	
ET		
Etape 3	neoplasms/genetics/de OR (neoplast* OR neoplasm* OR cancer* OR tumor*)/ti	
ET		
Etape 4	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR (health planning guidelines)/de OR (practice guideline OR guideline OR consensus development conference OR consensus development conference, NIH)/pt	
Cytogénétique et cancer		01/2007 - 01/2019
Etape 6	(cytogenetics OR cytogenetic analysis)/de OR (cytogenet* OR cytogenom*)/ti	
ET		
Etape 7	neoplasms/de OR (cancer* OR tumor*)/ti	
ET Etape 4		
ACPA et gliomes, sarcomes, neuroblastomes		01/2007 - 01/2019
Etape 8	(glioma OR neuroblastoma OR sarcoma)/de OR (gliom* OR sarcom* OR neuroblastom*)/ti,ab	
ET Etape 1		
ET Etape 4		

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; pt : publication type

Sites Internet consultés

- Agence de la biomédecine
- Association des cytogénéticiens de langue française - ACLF
- Bibliothèque médicale Lemanissier
- Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMéF
- Fédération française de génétique humaine - FFGH
- Haute Autorité de santé - HAS
- Institut national du cancer - INCa
- Réseau AChro-Puce
- Société française de médecine générale - SFMG

- *Adelaide Health Technology Assessment - AHTA*
- *Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ*
- *Alberta Heritage Foundation for Medical Research - AHFMR*
- *American Academy of Family Physicians - AAFP*
- *American Academy of Neurology - AAN*
- *American Cancer Society - ACS*
- *American College of Medical Genetics and Genomics - ACMG*
- *American College of Physicians - ACP*
- *American Joint Committee on Cancer - AJCC*
- *American Society of Clinical Oncology - ASCO*
- *Australia and New Zealand Horizon Scanning Network*
- *Australian Clinical Practice Guidelines*
- *Best Practice*
- *Blue Cross Blue Shield Association - Technology Evaluation Center - BCBS*
- *British Association of Surgical Oncology - BASO*
- *British Columbia Cancer Agency - BCCA*
- *British Sarcoma Group - BSG*
- *British Society for Genetic Medicine - BSGM*
- *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH*
- *Canadian College of Medical Geneticists - CCMG*
- *Cancer Australia*
- *Cancer Care Ontario - CCO*
- *Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE*
- *Centre for Reviews and Dissemination databases*
- *Cochrane Library*
- *European Association for Neuro-Oncology - EANO*
- *European Cytogeneticists Association - ECA*
- *European Society for Medical Oncology - ESMO*
- *European Society of Human Genetics - ESHG*
- *Euroscan*
- *Genomics Quality Assessment*
- *Guidelines and Audit Implementation Network - GAIN*
- *Guidelines and Protocols Advisory Committee - GPAC*
- *Guidelines International Network - GIN*
- *Institut national d'excellence en santé et en services sociaux - INESSS*
- *Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI*
- *International Standards for Cytogenomic Arrays Consortium - ISCA*
- *Kaiser Permanente*
- *Malaysian Health Technology Assessment Section - MaHTAS*
- *McGill University Health Centre*

- *Medical Services Advisory Committee - MSAC*
- *National Cancer Institute - NCI*
- *National Comprehensive Cancer Network - NCCN*
- *National Coordinating Centre for Health Technology Assessment - NCCHTA*
- *National Horizon Scanning Centre - NHSC*
- *National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE*
- *National Institute for Health Research. Health Technology Assessment programme - NIHR*
- *New Zealand Guidelines Group - NZGG*
- *New Zealand Health Technology Assessment - NZHTA*
- *NHS Evidence*
- *Ontario Health Technology Advisory Committee - OHTAC*
- *Queensland Government Health Policy Advisory Committee on Technology*
- *Royal Australian College of General Practitioners - RACGP*
- *Royal College of General Practitioners - RCGP*
- *Royal College of Physicians - RCP*
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network - SIGN*
- *Singapore Ministry of Health*
- *Society for Surgical Oncology - SSO*
- *Swedish Agency for Health Technology Assessment and Assessment of Social Services - SBU*
- *Tripdatabase*
- *Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines*
- *West Midlands Health Technology Assessment Collaboration*

Veille

En complément de la recherche initiale, une veille a été réalisée jusqu'en juin 2019 sur les sites Internet listés ci-dessus. Une mise à jour a également été effectuée sur les bases de données jusqu'en juin 2019.

Annexe 5. Analyse des recommandations de bonne pratique (RBP) sélectionnées pour l'évaluation de l'intérêt potentiel de l'ACPA dans les trois types de tumeurs solides étudiés

Concernant les abréviations utilisées, se reporter à la partie Abréviations en début de rapport.

Réf.	Auteurs	Acronyme	Titre document	Date	Pathologies abordées	Éléments apportés relatifs à l'ACPA
(22)	<i>European Society for Medical Oncology</i>	ESMO	<i>Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up</i>	2018	Sarcomes viscéraux et des tissus mous	ACPA non mentionnée
(23)	<i>European Society for Medical Oncology</i>	ESMO	<i>Bone sarcomas: ESMO–PaedCan–EURACAN: Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up</i>	2018	Sarcomes osseux	ACPA non mentionnée
(18)	<i>Cancer Care Ontario</i>	CCO	<i>Molecular Analyses in the Diagnosis, Prognosis, and Selection of Therapy in non-GIST Soft Tissue Sarcomas</i>	2018	Sarcomes	ACPA brièvement mentionnée comme étant une des techniques appropriées parmi d'autres pour l'exploration génétique à visée diagnostique et pronostique des liposarcomes et tumeurs malignes des gaines nerveuses périphériques
(24)	<i>National Cancer Institute</i>	NCI	<i>Adult Soft Tissue Sarcoma Treatment (PDQ®)-Health Professional Version</i>	2019	Sarcomes	ACPA non mentionnée
(25)	<i>National Cancer Institute</i>	NCI	<i>Childhood Soft Tissue Sarcoma Treatment (PDQ®)-Health Professional Version</i>	2019	Sarcomes	ACPA non mentionnée
(26)	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>	NCCN	<i>Soft Tissue Sarcoma. Version 2.2019 - February 4, 2019</i>	2019	Sarcomes	ACPA non mentionnée
(19)	<i>European Cytogeneticists Association (Hastings et al.)</i>	ECA	<i>Guidelines for Cytogenetic Investigations in Tumours</i>	2016	Neuroblastomes, gliomes sarcomes des tissus mous	Cette RBP mentionne les techniques jugées par les auteurs comme « techniques de choix » versus « non essentielles » pour l'exploration génétique de différents types de tumeurs solides. L'ACPA est mentionnée comme « non essentielle » pour les neuroblastomes et gliomes, et non mentionnée pour les sarcomes des tissus mous.

Réf.	Auteurs	Acronyme	Titre document	Date	Pathologies abordées	Éléments apportés relatifs à l'ACPA
(27)	<i>National Cancer Institute</i>	NCI	<i>Neuroblastoma Treatment (PDQ®)-Health Professional Version</i>	2019	Neuroblastome	ACPA non mentionnée
(21)	<i>European Association for Neuro-Oncology</i>	EANO	<i>European Association for Neuro-Oncology guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas</i>	2017	Gliomes	L'ACPA est très brièvement mentionnée dans le document, en tant que technique qui devrait dans un avenir proche, avec le NGS, remplacer les techniques qui ne permettent pas d'étudier conjointement en une seule technique un panel d'anomalies génétiques
(28)	<i>European Association for Neuro-Oncology</i>	EANO	<i>European Association for Neuro-Oncology guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma</i>	2014	Gliomes	ACPA non mentionnée
(29)	<i>European Society for Medical Oncology</i>	ESMO	<i>High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up</i>	2014	Gliomes	ACPA non mentionnée
(20)	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>	NCCN	<i>Central Nervous System Cancers. Version 1.2019 - March 5, 2019</i>	2019	Gliomes	L'ACPA est très brièvement mentionnée comme étant une technique parmi d'autres pouvant permettre de rechercher la codélétion de 1p et 1q
(30)	<i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i>	NICE	<i>Brain tumours (primary) and brain metastases in adults</i>	2018	Gliomes	ACPA non mentionnée
(6)	Association des neuro-oncologues d'expression française	ANOCEF	Traitement des gliomes malins - grades 3 et 4 de l'OMS	2018	Gliomes	ACPA non mentionnée
(5)	Association des neuro-oncologues d'expression française	ANOCEF	Référentiel Glioblastome (grade IV OMS)	2018	Gliomes	ACPA non mentionnée

Annexe 6. Analyse des RBP sélectionnées pour l'évaluation de l'intérêt potentiel de l'ACPA dans le contexte des trois types de leucémies étudiés

Concernant les abréviations utilisées, se reporter à la partie Abréviations en début de rapport.

Réf.	Auteurs	Acronyme	Titre document	Date	Pathologie abordée	Éléments apportés relatifs à l'ACPA
(31)	<i>European Society for Medical Oncology (Hoelzer et al.)</i>	ESMO	<i>Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up</i>	2016	LAL	L'ACPA est mentionnée brièvement en tant que technique non encore intégrée aux soins courants mais dont l'utilisation devrait être encouragée dans les nouveaux essais cliniques pour améliorer la stratification du risque et aider à orienter certains patients vers des thérapies ciblées
(32)	Groupe francophone de cytogénétique hématologique (Baranger et al.)	GFCH	<i>Cytogenetics in the management of children and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique</i>	2016	LAL	Dans cette RBP, il existe des recommandations d'ordre technique mais elles sont centrées sur les analyses par FISH. L'ACPA est évoquée comme étant une des techniques d'intérêt pour détecter les aneuploïdies décisionnelles (avec le caryotype et l'index d'ADN). Il est précisé néanmoins que sa sensibilité est moindre que celle de l'index d'ADN déterminé par cytométrie en flux
(33)	<i>European leukemia net (Döhner et al.)</i>	ELN	<i>Diagnosis and management of AML in adults : 2017 ELN recommendations from an international expert panel</i>	2017	LAM	ACPA non mentionnée
(34)	<i>European Society for Medical Oncology (Fey et al.)</i>	ESMO	<i>Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up</i>	2013	LAM	ACPA non mentionnée
(35)	Groupe francophone de cytogénétique hématologique (Luquet et al.)	GFCH	<i>Cytogenetics in the management of acute myeloid leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique</i>	2016	LAM	ACPA non mentionnée
(36)	<i>European Society for Medical Oncology (Eichhorst et al.)</i>	ESMO	<i>Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up</i>	2010	LLC	ACPA non mentionnée

Réf.	Auteurs	Acronyme	Titre document	Date	Pathologie abordée	Éléments apportés relatifs à l'ACPA
(11)	Groupe francophone de cytogénétique hématologique (Nguyen-Khac <i>et al.</i>)	GFCH	<i>Cytogenetics in the management of chronic lymphocytic leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique</i>	2016	LLC	ACPA non mentionnée

Annexe 7. Analyses des RBP apportant des préconisations de mise en œuvre des techniques de cytogénétique en oncologie

Réf.	Auteurs	Titre document	Date	Pathologies abordées	Éléments apportés relatifs à l'ACPA
(37)	American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (Cooley <i>et al.</i>)	<i>Section E6.5-6.8 of the ACMG technical standards and guidelines: chromosome studies of lymph node and solid tumor-acquired chromosomal abnormalities</i>	2016	Divers cancers	Cette RBP s'intéresse à la bonne mise en œuvre des différentes techniques de cytogénétique en cancérologie. Une brève sous-partie concerne l'ACPA. Cette technique y est située comme complémentaire du caryotype et de la FISH dans certaines situations (technique appartenant à un arsenal de techniques). Seule les puces de type SNP array sont préconisées
(38)	American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (Cooley <i>et al.</i>)	<i>American College of Medical Genetics and Genomics technical standards and guidelines: microarray analysis for chromosome abnormalities in neoplastic disorders</i>	2013	Divers cancers	Cette RBP s'intéresse aux différents aspects techniques de mise en œuvre de l'ACPA en cancérologie : aspects pré-analytiques, analytiques, et interprétation et rendu des résultats, problématiques de contrôle qualité et de validation de la technique... Elle n'aborde cependant ni les situations oncologiques (types de cancer et anomalies génétiques d'intérêt associées) pouvant susciter un intérêt particulier de l'ACPA, ni le positionnement de l'ACPA au regard des autres techniques disponibles
(39)	American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (Mikhail <i>et al.</i>)	<i>Section E6.1-6.4 of the ACMG technical standards and guidelines: chromosome studies of neoplastic blood and bone marrow-acquired chromosomal abnormalities</i>	2016	Oncohématologie	L'ACPA est mentionnée comme une des techniques de cytogénétique disponibles parmi d'autres pour les analyses cytogénétiques en oncohématologie. Elle se situe plutôt comme une technique complémentaire du caryotype et de la FISH dans certaines situations où elle peut être informative. Seule l'utilisation de la SNP array est recommandée
(19)	European Cytogeneticists Association (ECA) (Hastings <i>et al.</i>)	<i>Guidelines for Cytogenetic Investigations in Tumours</i>	2016	Tumeurs solides	L'ACPA est positionnée comme étant une méthode « non essentielle » (par opposition aux méthodes qualifiées « de choix ») parmi les techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire disponibles pour l'exploration génétique des tumeurs solides

Annexe 8. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des neuroblastomes

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) de pédiatrie

Titre : Évaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 22/05/2019

Participants :

Dr Olivier Delattre, responsable de l'unité de génétique somatique du service de génétique oncologique de l'Institut Curie (Paris), représentant du CNP de pédiatrie pour la thématique spécifique des neuroblastomes

Dr Carole Giraud, chef de projet SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP de pédiatrie¹⁰, interrogé en tant que partie prenante, quant à l'intérêt attribué à l'ACPA par les professionnels dans le contexte spécifique des neuroblastomes. En effet, les plateformes de génétique moléculaire de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté avoir réalisé 127 ACPA en 2017 dans ce contexte, soit un volume d'activité très faible mais proche de l'incidence de ce type de tumeur (estimée à 130-150 nouveaux cas/an) suggérant que cet examen pourrait en pratique être demandé pour la plupart des patients concernés.

Le Dr Olivier Delattre, pédiatre responsable de l'unité de génétique somatique du service de génétique oncologique de l'Institut Curie, a été désigné par le Pr Brigitte Chabrol, Présidente du CNP de pédiatrie, sur proposition du Pr Virginie Gandemer, Présidente de la Société française de lutte contre les cancers et leucémies de l'enfant et de l'adolescent, en tant que représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des neuroblastomes.

► **Objectif(s) de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte des neuroblastomes**

Le Dr Delattre a commencé par rappeler/expliciter les éléments suivants :

- le neuroblastome est un type de tumeur caractérisé par un large éventail d'agressivité tumorale, de la régression spontanée à l'évolution tumorale rapidement progressive et fatale ;
- le stade de progression tumoral et l'âge du patient au moment du diagnostic sont les marqueurs pronostiques les plus importants pour ces tumeurs. Ainsi, dans certains cas, notamment chez l'enfant en bas âge et/ou avec une forme localisée, la survie est excellente et peu de patients rechutent. *A contrario* dans d'autres cas, surtout chez l'enfant plus grand et/ou en situation métastatique, le pronostic est très sombre avec un taux de survie inférieur à 40 % à cinq ans ;
- chez les patients considérés de bon pronostic, les protocoles thérapeutiques sont essentiellement des protocoles de désescalade, et il apparaît donc essentiel de s'assurer qu'un patient considéré de bon pronostic sur la base du bilan diagnostique et d'extension initial ne présente pas en regard de marqueur(s) génétique(s) de mauvais pronostic. En effet, le développement de l'analyse moléculaire des neuroblastomes a permis d'identifier un grand nombre de remaniements impliqués dans l'extrême variabilité évolutive. Parmi ces remaniements, le Dr Delattre

¹⁰ Pour rappel, le neuroblastome est la tumeur solide extra-crânienne la plus fréquente chez le jeune enfant et le plus fréquent des cancers chez le nourrisson. Presque 90 % des neuroblastomes surviennent chez l'enfant de < 5 ans.

a mentionné l'exemple de l'amplification de l'oncogène *N-Myc* en tant que facteur pronostique majeur qui influence aujourd'hui directement la stratégie et l'intensité du traitement, puis expliqué qu'il existe également d'autres marqueurs génétiques de mauvais pronostic qui peuvent parfois concerner les enfants de moins de un an et/ou les formes localisées (tumeurs théoriquement de bon pronostic). Ces anomalies consistent en des altérations segmentaires du génome correspondant à des gains ou pertes de matériel génétique au niveau de segments ou de bras de chromosomes. La présence de l'une de ces anomalies présage un pronostic plus sombre et impacte directement le choix du protocole thérapeutique (stratification du traitement en fonction du niveau de risque de rechute).

Sur la base de ces éléments, l'intérêt de l'ACPA dans le contexte des neuroblastomes serait donc d'ordre **pronostique et thérapeutique**, en permettant d'étudier l'ensemble des anomalies déséquilibrées d'intérêt pronostique *via* la réalisation d'un unique examen permettant de rechercher non seulement toutes les anomalies segmentaires d'intérêt mais également l'amplification de l'oncogène *N-Myc*.

► **Apport de l'ACPA au regard des techniques de cytogénétique et génétique moléculaire habituellement mises en œuvre pour les neuroblastomes**

Le Dr Delattre a expliqué que la technique FISH peut être utilisée pour rechercher les anomalies segmentaires d'intérêt dans les neuroblastomes, et que certains laboratoires continuent de l'utiliser à cet effet (contrairement aux laboratoires de référence pour les neuroblastomes, *cf.* ci-dessous). Néanmoins, l'utilisation de cette technique implique de réaliser un panel de recherches d'altérations génétiques assez important et donc de recourir à un grand nombre de sondes, ce qui selon lui n'est pas très efficient en matière de coût comme de temps en comparaison de la réalisation d'une unique ACPA. En outre, cette technologie permet de détecter conjointement les déséquilibres alléliques, en particulier les pertes d'hétérozygotie (puces de type SNP *array* uniquement, qui sont celles usuellement utilisées par les laboratoires d'oncogénétique pratiquant l'ACPA). Pour ces raisons (notamment), l'Institut Curie a fait le choix d'utiliser l'ACPA pour les neuroblastomes il y a déjà plusieurs années.

Interrogé sur la place du NGS (*next generation sequencing*, ou séquençage haut débit) au regard de l'ACPA dans ce contexte (en tant que toutes deux technologies pangénomiques), le Dr Delattre a expliqué que les recherches d'altérations segmentaires réalisées par ACPA pourraient l'être également par NGS mais, qu'à l'heure actuelle, le NGS (séquençage de l'exome voire du génome entier et RNAseq) apparaît moins diffusé/accessible, encore imparfaitement validé et difficile à faire accréditer, alors que l'ACPA est déjà pratiquée par la plupart des laboratoires de génétique constitutionnelle donc facilement accessible, et qu'elle bénéficie d'une expertise technique déjà assez répandue. En l'occurrence, le Dr Delattre a précisé qu'à l'Institut Curie, la technique d'ACPA utilisée a été validée par le COFRAC.

► **Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients atteints par un neuroblastome**

Le Dr Delattre a rapporté que les trois laboratoires français de référence dans le domaine des neuroblastomes utilisent tous la technique d'ACPA dans cette indication (Centre Léon Bérard [Lyon], Institut Gustave Roussy [Villejuif] et Institut Curie [Paris]) et que cette technique serait ainsi celle actuellement utilisée en pratique courante pour la quasi-totalité des patients atteints par ce type de tumeurs. Sur ce dernier point, le Dr Delattre a précisé que la notion de « soins courants » dans le contexte des neuroblastomes est, comme pour beaucoup de maladies rares, un peu particulière puisque tous les enfants atteints par cette pathologie sont pris en charge par des centres experts d'oncologie pédiatrique où ils sont pour la grande majorité inclus dans des protocoles thérapeutiques nationaux ou internationaux qui incluent un volet de recherche, avec pour objectif constant d'améliorer la survie et de diminuer les séquelles. Pour illustration, le Dr Delattre a mentionné un protocole d'essai clinique international en cours, intitulé *Low and Intermediate Risk Neuroblastoma European Study* (ou étude LINES), au sein de laquelle les altérations segmentaires

considérées comme pronostiques participent à la stratification des patients en différents groupes à risque recevant des traitements différents.

Interrogé sur les modalités actuelles de financement de l'ACPA au sein du laboratoire de référence pour les neuroblastomes dans lequel il exerce, le Dr Delattre a expliqué que jusqu'à récemment la majorité des analyses d'ACPA a été financée par les crédits de recherche apportés par un PHRC (protocole IC2007.09 intitulé « Analyse pangénomique par hybridation génomique comparative du neuroblastome et corrélation avec l'anatomopathologie pour une classification diagnostique et pronostique ») mais que ce PHRC étant désormais clos, la question du financement à venir de l'ACPA pour assurer la continuité de son utilisation en pratique courante se pose. En l'occurrence, l'institut Curie code actuellement l'acte *via* la liste complémentaire du RIHN pour son financement.

► **Modalités de rendu de résultats et problématique posée par les découvertes incidentes potentielles**

Concernant les modalités de rendu des résultats d'ACPA, le Dr Delattre a expliqué que le compte-rendu présente la liste des anomalies détectées en signalant les altérations considérées comme importantes pour le clinicien pour la prise en charge d'un neuroblastome.

Pour ce qui est de la possibilité de découvertes incidentes d'anomalies constitutionnelles au décours d'une analyse pangénomique telle que l'ACPA, le Dr Delattre estime que cette problématique ne concerne pas vraiment l'ACPA utilisée en oncologie puisqu'il s'agit de génétique somatique étudiée au sein de cellules tumorales et que les anomalies identifiées dans ces cellules ne sont qu'exceptionnellement retrouvées au niveau constitutionnel. Le Dr Delattre a néanmoins ajouté que, *a contrario*, cette problématique existe avec le NGS et que, si ce type de découverte se produit et que l'anomalie est considérée comme d'impact clinique potentiel important, il peut être notifié dans le compte-rendu qu'une consultation de génétique voire une exploration constitutionnelle est préconisée.

► **Recommandations professionnelles disponibles**

La recherche et l'analyse préliminaire bibliographiques menées par la HAS n'ont pas pu identifier de recommandations professionnelles intégrant (voire mentionnant) l'ACPA dans la prise en charge (diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique) des patients atteints par un neuroblastome. Le Dr Delattre a confirmé qu'il n'existe pas à l'heure actuelle, à sa connaissance, de recommandations professionnelles préconisant d'utiliser spécifiquement l'ACPA pour rechercher les anomalies segmentaires rencontrées dans les neuroblastomes.

Annexe 9. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP d'oncologie médicale pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des sarcomes

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) d'oncologie médicale

Titre : Évaluation de la technique d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 07/06/2019

Participants :

Pr Jean-Yves Blay, Directeur général du Centre de lutte contre le cancer Léon Bérard (Lyon) et Président du Groupe sarcome français

Dr Carole Giraud, chef de projet SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP d'oncologie médicale, interrogé en tant que partie prenante, quant à l'intérêt attribué à l'ACPA par les professionnels dans le contexte spécifique des sarcomes. En effet, les plateformes de génétique moléculaire des cancers de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté avoir réalisé 405 ACPA en 2017 dans ce contexte, soit un volume d'activité faible en valeur absolue, mais à mettre en relation en proportion avec la faible incidence de ces cancers rares (environ 4 500 nouveaux cas par an en France).

Le Pr Jean-Yves Blay, Directeur général du Centre de lutte contre le cancer Léon Bérard (Lyon) et Président du Groupe sarcome français, a été désigné par le Pr Stéphane Culine, Président du CNP d'oncologie médicale en tant que représentant de ce CNP pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des sarcomes.

► **Objectif(s) de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte des sarcomes**

Le Pr Blay a commencé par expliquer que les sarcomes sont des maladies rares pour lesquelles il existe, selon l'OMS, environ une centaine de sous-types histologiques. Parmi ces sous-types, quatre sont caractérisés par une amplification de la région chromosomique 12q13-15 entraînant une surexpression notamment des oncogènes *MDM2* (qui bloque la fonction de suppression de tumeur p53) et *CDK4* (impliqué dans la régulation du cycle cellulaire). Il s'agit des liposarcomes bien différenciés et liposarcomes dédifférenciés, d'un type rare de sarcomes des gros vaisseaux du thorax et des ostéosarcomes. Ces quatre sous-types histologiques représentent environ entre 15 et 20 % des sarcomes soit environ un millier de patients/an¹¹. Pour ces sous-types, l'amplification de la région chromosomique 12q13-15 constitue un élément diagnostique (quasi de certitude pour ce qui est des liposarcomes et l'ostéosarcome de surface). Par ailleurs, d'autres anomalies quantitatives (délétions ou amplifications) participent au diagnostic complexe de certains sous-types rares de sarcomes : sarcomes épithélioïdes, et tumeurs musculaires lisses atypique.

Selon le Pr Blay, l'ensemble de ces éléments explique l'utilisation de l'ACPA à **visée diagnostique** par les laboratoires experts concernés pour confirmer ou poser le diagnostic de certains

¹¹ Environ 15 % des sarcomes sont des liposarcomes.

sous-types de tumeurs, cette technique permettant de rechercher conjointement l'amplification de la région chromosomique 12q13-15, mais également d'autres anomalies quantitatives d'intérêt pour poser ces diagnostics.

En marge de cet intérêt diagnostique, le Pr Blay a évoqué un intérêt thérapeutique probable à venir car des traitements ciblant les gènes *MDM2* et *CDK4* sont actuellement en cours d'étude avec des résultats considérés comme prometteurs.

► **Apport de l'ACPA au regard des techniques de cytogénétique et génétique moléculaire habituellement mises en œuvre dans le contexte des sarcomes**

Le Pr Blay a expliqué que, s'il est vrai que les anomalies quantitatives considérées d'intérêt détectables par ACPA peuvent également être recherchées par technique FISH, le choix de recourir à cette technique classique implique de multiplier les sondes ce qui peut *in fine* être plus coûteux et chronophage pour le laboratoire que de recourir à l'ACPA. Concernant les translocations d'intérêt dans les sarcomes, le Pr Blay a confirmé que l'ACPA n'est pas une technique appropriée pour les détecter et qu'il est donc nécessaire de compléter cet examen par une recherche des translocations par FISH ou, de plus en plus souvent, par RNAseq (technique de séquençage aléatoire du transcriptome entier utilisant la technologie de séquençage à haut débit).

Selon lui, si les techniques de séquençage pangénomique à haut débit pouvaient devenir dans l'avenir accessibles pour la pratique courante, elles rendraient *a priori* l'ACPA (mais également d'autres techniques) obsolète.

► **Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients atteints par un sarcome**

Le Pr Blay a souligné qu'en pratique, toutes les anomalies ne sont pas recherchées chez tous les patients. Pour illustration, l'amplification de la région chromosomique 12q13-15 est recherchée chez environ 1 500 patients/an sur les 4 500 patients/an ayant un diagnostic de sarcome. C'est la suspicion histopathologique d'un sous-type qui détermine les anomalies qui sont recherchées et donc les techniques mises en œuvre. Ainsi, lorsque l'histopathologie suggère la nécessité de rechercher un panel d'anomalies génétiques quantitatives pour poser/confirmer le diagnostic, l'ACPA apparaît être une technique appropriée qui, selon le Pr Blay, relève alors de la pratique courante pour les patients concernés.

Le Pr Blay a par ailleurs souligné l'importance, selon lui, de restreindre la mise en œuvre des recherches génétiques à visée diagnostique aux centres experts des sarcomes du fait de l'expertise avancée requise pour poser ce type de diagnostics. En soutien de ses propos, le Pr Blay a évoqué l'amplification de *MDM2* qui, étant retrouvée dans beaucoup de maladies, peut amener à des diagnostics erronés de sous-types de sarcomes si sa recherche est réalisée par des professionnels ne connaissant pas bien ces pathologies.

► **Problématique posée par les découvertes incidentes potentielles**

Selon le Pr Blay, la problématique de découvertes incidentes d'anomalies constitutionnelles ne se pose pas avec l'ACPA utilisée dans le cadre oncologique, mais elle existe par contre avec le NGS. En l'occurrence, dans sa pratique, le Pr Blay n'a jamais rencontré de découverte fortuite d'anomalie constitutionnelle avec l'ACPA.

► **Recommandations professionnelles disponibles**

La recherche et l'analyse préliminaire bibliographiques menées par la HAS n'ont pas pu identifier de recommandations professionnelles intégrant (voire mentionnant) l'ACPA dans la prise en charge (diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique) des patients atteints par un sarcome. Le Pr Blay a confirmé qu'il n'existe pas à l'heure actuelle, à sa connaissance, de recommandations professionnelles préconisant d'utiliser spécifiquement l'ACPA pour poser le diagnostic de certains sous-types de sarcomes.

► **Éléments additionnels apportés par le Dr Marie Karanian, anatomo-cytopathologiste au Centre Léon Bérard, au moment de la validation du compte-rendu**

Au moment de la relecture et validation du compte-rendu, le Pr Blay a de son initiative consulté le Dr Marie Karanian, anatomo-cytopathologiste exerçant également au Centre Léon Bérard, car il considérait utile de compléter sa position de clinicien par celle d'un(e) professionnel(le) exerçant dans le laboratoire directement confronté en pratique à la décision d'utilisation ou non de l'ACPA pour poser le diagnostic d'un sous-type de sarcome. Bien que cette personne n'ait pas été proposée comme représentante par le Président du CNP, il a été jugé informatif de signaler les éléments apportés par cette professionnelle, qui soutiennent en l'occurrence ceux apportés par le Pr Blay mais détaillent plus les aspects liés à l'expertise du laboratoire.

Le Dr Karanian a ainsi précisé les situations, selon elle, d'intérêt de l'ACPA en pratique courante pour le diagnostic de certains sous-types de sarcomes, et signalé en sus certaines situations d'aide au pronostic. Ces situations ont été ainsi listées :

- aide au diagnostic dans les tumeurs adipeuses (lipomes à cellules fusiformes ou pléomorphes (confirmation de la perte de *RB1*), liposarcomes bien différenciés/dédifférenciés) lorsque le résultat de la FISH est équivoque ;
- aide au diagnostic dans les ostéosarcomes de bas grade pour mettre en évidence l'amplification de *MDM2*, les techniques de décalcification ne permettant pas toujours la réalisation de FISH ;
- réalisation du *genomic index* à valeur pronostique pour les tumeurs musculaires lisses, les synoviosarcomes pédiatriques (publié), et les GIST ;
- recherche d'argument pour la malignité dans les situations douteuses sur cet aspect, par exemple lorsqu'il existe un doute entre myxofibrosarcome et myxome ;
- confirmation de la perte d'*INI1* dans les sarcomes épithélioïdes.

Selon le Dr Karanian, l'ACPA sera probablement remplacée dans l'avenir par le NGS pangénomique qui, en plus de la détection des mutations, apporte une information génomique quantitative. Néanmoins, cette technologie n'étant à l'heure actuelle pas utilisée en routine diagnostique, l'ACPA présente pour l'heure une réelle utilité en pratique courante pour certains patients.

Le Dr Karanian a par ailleurs précisé que le RNAseq est d'ores-et-déjà utilisé en routine et qu'il tient en l'occurrence une place centrale pour le diagnostic de sarcome à translocations, mais qu'il ne remplacera jamais l'ACPA car il ne permet d'explorer que le transcriptome (donc les gènes exprimés) et pas tout le génome.

Annexe 10. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de neurochirurgie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des gliomes

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) de neurochirurgie

Titre : Évaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 12/06/2019

Participants :

Pr Johan Pallud, service de neurochirurgie, centre hospitalier Sainte-Anne (Paris)

Dr Carole Giraud, chef de projet au SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de la technique d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP de neurochirurgie, interrogé en tant que partie prenante, quant à l'intérêt potentiel de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte des gliomes. En effet, les plateformes de génétique moléculaire de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté avoir réalisé 908 ACPA en 2017 dans ce contexte, soit un volume d'activité très faible mais proche de l'incidence de ce type de tumeur (estimée à 2 500 à 3 000 nouveaux cas par an en France) suggérant que cet examen pourrait en pratique être demandé pour une partie importante des patients concernés.

À cet effet, le Pr Johan Pallud, coordinateur du Club de neuro-oncologie de la Société française de neurochirurgie, exerçant dans le service neurochirurgie du centre hospitalier Sainte-Anne, a été désigné, après concertation au sein de la Société française de neurochirurgie, par le Dr Thierry Faillot, Président du CNP de neurochirurgie, en tant que représentant de ce CNP pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des gliomes.

► Objectif(s) de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte des gliomes

Le Pr Pallud a expliqué que l'ACPA n'est pas une technique utilisée systématiquement pour tous les patients atteints par un gliome, mais qu'elle concerne essentiellement certains adultes, adolescents et enfants lorsque la stratégie diagnostique posée par la version 2016 de la classification internationale de l'OMS et reposant sur une analyse histopathologique et moléculaire « de base » est en échec. Il existe ainsi un certain nombre de cas de gliomes inclassables, c'est-à-dire dont le grade de malignité ne peut être précisé, alors que des grades de malignité - allant de 2 à 4 - impliquent des traitements radicalement différents. Pour ces cas inclassables, l'ACPA permet de rechercher un panel d'anomalies récurrentes typiques des glioblastomes (gliome de grade 4)¹² mais non recherchées en 1^{ère} intention car le diagnostic et le pronostic peuvent généralement être posés par les techniques classiques. L'ACPA permet ainsi notamment de poser le diagnostic de « glioblastome moléculaire » sur des bases uniquement moléculaires et permet de proposer une prise en charge thérapeutique adaptée. Dans ce contexte, les objectifs de l'ACPA sont donc à la fois **diagnostique, pronostique et indirectement thérapeutique**, puisque le choix de la thérapeutique selon les référentiels de traitements est directement lié au grade de malignité du gliome.

¹² Parmi ces anomalies ont été mentionnés le gain du chromosome 7, la perte du chromosome 10 et l'amplification d'*EGFR*.

► **Apport de l'ACPA au regard des techniques de cytogénétique et génétique moléculaire habituellement mises en œuvre pour les gliomes**

Selon le Pr Pallud, l'intérêt de l'ACPA, au regard des techniques cytogénétiques classiques dans le contexte de certains gliomes, repose principalement sur le fait que, d'une part, cette technique permet de rechercher en un seul examen un panel d'aneuploïdies/délétions/amplifications plutôt que de multiplier les sondes en technique FISH et que, d'autre part, il n'existe pas de translocation d'intérêt reconnu en pratique clinique pour les gliomes dont l'absence de détection inhérente à la technique d'ACPA serait problématique.

Interrogé sur la place du NGS (*new generation sequencing*, ou séquençage haut débit) au regard de l'ACPA en neuro-oncologie, en tant que technologies toutes deux pangénomiques, le Pr Pallud a expliqué que le recours au NGS dans son domaine d'exercice est très dépendant des ressources du centre hospitalier et des laboratoires/plateformes associé(e)s. Pour illustration, le service de neuropathologie de l'hôpital Sainte-Anne [où le Pr Pallud exerce] ne prend en charge que la neuro-oncologie adulte et n'a que très rarement recours au NGS. *A contrario*, les analyses génétiques de neuro-oncologie pédiatrique sont réalisées par une plateforme affiliée à l'Institut Gustave Roussy et le NGS y est plus couramment utilisé.

► **Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients atteints par un neuroblastome**

Comme déjà évoqué (*cf.* plus haut), le Pr Pallud a expliqué que la pratique courante « standard » se limite aux examens considérés comme indispensables au regard des critères histopathologiques, immunohistochimiques, cytogénétiques et moléculaires fixés par la version 2016 de la classification de l'OMS pour poser le diagnostic/pronostic des gliomes, mais que, pour certains cas restant inclassables à l'issue de ces examens, l'ACPA permet la recherche simultanée d'un panel d'anomalies génétiques quantitatives et ainsi la détermination d'un diagnostic et pronostic tumoral pour un certain nombre de patients. Selon le Pr Pallud, l'ACPA apparaît relever de la pratique courante pour les cas inclassables concernés.

► **Problématique posée par les découvertes incidentes potentielles**

Le Pr Pallud a confirmé que des découvertes incidentes de facteurs de prédisposition génétiques peuvent survenir avec les techniques pangénomiques, chez l'enfant ou l'adulte jeune essentiellement, telle que la détection d'une mutation de p53 ou d'un syndrome de défaut du système de réparation des mésappariements de l'ADN (*mismatch repair deficiency*). Ce type de découverte amène à orienter le patient et sa famille vers une consultation d'oncogénétique. Cependant, cette problématique apparaît concerner plus spécifiquement le NGS que l'ACPA (qui ne détecte pas les mutations ponctuelles).

► **Recommandations professionnelles disponibles**

La recherche et l'analyse préliminaire bibliographiques menées par la HAS n'ont pas pu identifier de recommandations professionnelles intégrant (voire mentionnant) l'ACPA dans la prise en charge des patients atteints par un gliome. Le Pr Pallud a confirmé qu'il n'existe pas à l'heure actuelle, à sa connaissance, de recommandations professionnelles préconisant d'utiliser spécifiquement l'ACPA pour l'exploration génétique avancée de certains cas particuliers de gliomes.

Annexe 11. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de d'hématologie pour l'évaluation de l'ACPA en oncohématologie (LAL, LAM, LLC)

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) d'hématologie

Titre : Évaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 17/05/2019

Participants :

Pr Marie-Christine Béné, service d'hématologie biologique, CHU de Nantes

Dr Carole Giraud, chef de projet SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP d'hématologie, interrogé en tant que partie prenante, quant aux situations cliniques oncohématologiques pouvant justifier la demande de cet examen par les professionnels de santé au sein des établissements de santé français. En effet, les plateformes de génétique moléculaire de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté avoir réalisé 835 ACPA en 2017 dans le cadre oncohématologique, dont 692 dans les contextes de LAL et LAM, et 143 dans le contexte de LLC¹³.

Le Pr Marie-Christine Béné, chef du service d'hématologie biologique du CHU de Nantes et Présidente du CNP d'hématologie, s'est proposée pour représenter son CNP dans le cadre de cette évaluation.

► Indications et objectifs de l'utilisation de l'ACPA en oncohématologie

Au regard des données rapportées par l'INCa, le Pr Béné a confirmé le fait que, selon elle, l'utilisation de l'ACPA présente un intérêt dans le contexte des leucémies aiguës, alors que l'intérêt de cet examen semble moins évident dans le contexte des LLC.

Interrogée sur les objectifs de mise en œuvre de l'ACPA dans ces contextes, le Pr Béné a expliqué que cette analyse présenterait un intérêt à la fois diagnostique (dans le cadre d'un diagnostic intégré, identifiant par cette méthode des anomalies reconnues comme associées à un cadre nosologique précis¹⁴), pronostique et thérapeutique, en détaillant les éléments (essentiellement d'ordre **pronostique et thérapeutique**) présentés ci-dessous.

• LAL

Concernant les LAL, le Pr Béné a mentionné la situation des « *Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia* » ou LAL dites « *Philadelphia-like* » (« Ph-like »), leucémies associées à un mauvais pronostic¹⁵. Il s'agit d'une entité biologique faisant partie des LAL-B, associée

¹³ LAL, leucémie aiguë lymphoblastique ; LAM, leucémie aiguë myéloïde ; LLC, leucémie lymphoïde chronique.

¹⁴ Le Pr Béné n'a pas apporté de précisions quant aux anomalies génétiques ni cadres nosologiques concernés qui auraient un intérêt particulier à être recherchés par ACPA plutôt que par d'autres méthodes.

¹⁵ Pour rappel, le chromosome Philadelphie est un chromosome dérivé du chromosome 22 qui est porteur du gène de fusion *bcr-abl* issu d'une translocation réciproque t(9;22). Ce chromosome est retrouvé dans 90-95 % des leucémies myéloïdes chroniques et, moins fréquemment, dans certaines LAL.

à différents types d'altérations génétiques dont certaines entraînent une activation anormale de tyrosines kinases (comme pour le chromosome Philadelphie). L'activation des voies concernées peut rendre cette entité accessible à des thérapies ciblées spécifiques agissant par inhibition de cette activité tyrosine kinase. Selon le Pr Béné, certaines de ces altérations génétiques comme les anomalies affectant les gènes *IKZF1* (couramment appelé Ikaros) ou *CRLF2*, ne seraient pas forcément identifiées ou identifiables par les techniques de cytogénétique classiquement utilisées dans le contexte des LAL (caryotype et FISH) alors qu'elles peuvent amener à orienter le patient vers un protocole de traitement par inhibiteur de tyrosine kinase.

- **LAM**

Selon le Pr Béné, il y aurait dans le cas des LAM des facteurs génétiques pronostiques non identifiés par les techniques classiques (de cytogénétique et biologie moléculaire) et restant encore à explorer, qui seraient d'intérêt à être recherchés plus couramment par ACPA car ils pourraient conduire à des modifications de traitement (comme pour les LAL).

En l'occurrence, le Pr Béné a précisé que s'il n'a existé pendant très longtemps qu'un traitement classique d'induction pour les LAM, il émerge depuis quelques années de nouveaux médicaments dépendant du profil moléculaire et qui semblent prometteurs en matière d'efficacité clinique. Ces profils moléculaires seraient actuellement plutôt explorés *via* un panel ciblé de gènes en NGS (séquençage haut débit) mais, selon le Pr Béné, il y aurait probablement une place à définir pour l'ACPA entre le caryotype et le NGS.

- **LLC**

Concernant les LLC, le Pr Béné a rappelé que, comme pour les LAL et LAM, l'intérêt de rechercher des facteurs génétiques pronostiques n'est plus à démontrer, en mentionnant à titre d'exemple le cas de la délétion 17p qui fait partie des anomalies recherchées, actuellement par FISH ciblée mais détectable par ACPA. Associée à la perte du gène suppresseur de tumeur p53, cette délétion est de mauvais pronostic et prédictive d'une résistance à la fludarabine. Le traitement classique de 1^{ère} ligne consistant en une association de rituximab, fludarabine et cyclophosphamide n'est donc pas adapté pour ces patients.

Néanmoins, le Pr Béné a par ailleurs expliqué que la LLC se distingue des LAL et LAM par le fait que les études moléculaires, consistant actuellement en pratique à une recherche ciblée par FISH des principales anomalies considérées d'intérêt, ne sont réalisées que lorsqu'un traitement est envisagé, les LLC pouvant ne pas progresser pendant des années, voire ne jamais progresser. Dans ce contexte, le Pr Béné considère qu'il apparaît difficile de justifier à l'heure actuelle le recours à l'ACPA dans le contexte des LLC et donc d'expliquer les données d'activité rapportées par l'INCa dans cette indication.

- **Syndromes myélodysplasiques (SMD)**

Selon le Pr Béné, l'ACPA pourrait présenter un intérêt potentiel pour certaines myélodysplasies. Néanmoins, il lui apparaît cohérent qu'aucune activité d'ACPA ne soit rapportée par les plateformes INCa à l'heure actuelle car il s'agit à ce stade d'une perspective relevant du domaine de la recherche. En outre, cette indication potentielle pose une problématique mise en exergue par des découvertes apportées par le NGS. En effet, il apparaît que certaines anomalies génétiques connues dans les myélodysplasies sont en fait retrouvées, avec une incidence croissant avec l'âge, chez des sujets sains de plus de 65 ans sans que ces patients ne soient atteints par cette pathologie.

► Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients en oncohématologie

• LAL

Le Pr Béné a expliqué que les patients atteints de LAL en France sont presque tous inclus dans des protocoles thérapeutiques nationaux pour lesquels les analyses génétiques avancées sont centralisées par un nombre très limité de laboratoires experts¹⁶.

• LAM (enfants et adultes) et LLC

Pour ces pathologies, le Pr Béné a rapporté qu'à sa connaissance, l'ACPA n'est pas intégrée à la pratique courante ni inscrite dans les protocoles nationaux actuels.

► Apport de l'ACPA au regard des techniques de cytogénétique et génétique moléculaire habituellement mises en œuvre en oncohématologie

Selon le Pr Béné, l'ACPA est une technique complémentaire du caryotype (notamment lorsque la culture cellulaire échoue), de la FISH et de la biologie moléculaire (incluant le NGS sur panel ciblé de gènes), du fait des éléments suivants :

- l'ACPA permet de mettre en évidence des microremaniements non détectables par le caryotype du fait de sa résolution beaucoup plus élevée et elle peut être réalisée lorsque la culture cellulaire nécessaire à l'établissement du caryotype échoue ;
- la FISH ciblée requiert de recourir à un grand nombre de sondes (processus coûteux et chronophage) lorsque le nombre de remaniements d'intérêt est conséquent. En outre, ce n'est pas une technique pangénomique et elle ne permet donc pas de s'intéresser à des variants rares et encore mal évalués afin de faire évoluer les connaissances ;
- la principale utilité du NGS à l'heure actuelle réside dans sa capacité à explorer un panel de gènes ciblé pour rechercher des mutations dont on connaît l'implication dans la pathologie. Elle n'apparaît donc pas adaptée, telle qu'utilisée actuellement, à la recherche pangénomique de gain et/ou perte de matériel chromosomique.

Interrogée sur la problématique pouvant être posée par l'incapacité de l'ACPA à détecter les altérations génétiques équilibrées, le Pr Béné a confirmé cette limite et ajouté qu'il est effectivement de ce fait impossible de rechercher avec cette technique certaines anomalies communément recherchées, telles que l'inversion ou translocation équilibrée du chromosome 3 récurrente dans les LAM. Pour cette raison et sur la base de cet exemple, le Pr Béné estime qu'une stratégie associant ACPA et FISH ciblée apporterait un gain de temps en regard de la stratégie actuelle qui consiste en l'utilisation du caryotype en 1^{ère} intention associée à la recherche ciblée d'un nombre limité d'anomalies par FISH. En outre, dans ce sens, le Pr Béné a relevé la fréquence importante d'échecs de caryotype dans les LAM (échec de la culture cellulaire) alors que l'ACPA serait utilisable dans ces cas-là. Actuellement, ce problème serait pallié, lorsqu'il survient, par le recours à la FISH interphasique et au NGS qui ne requièrent pas non plus de culture cellulaire.

► Problématique posée par les découvertes incidentes potentielles

La découverte incidente d'altérations génétiques constitutionnelles à l'issue d'une ACPA réalisée sur cellules tumorales est une situation rare, et ce problème se pose essentiellement actuellement pour le NGS pangénomique, mais il est réel avec l'ACPA¹⁷.

¹⁶ Dont ne fait pas partie le laboratoire du Pr Béné qui, en pratique, transfère ses prélèvements pour analyses génétiques avancées à l'un de ces laboratoires.

¹⁷ Le Pr Béné n'a pas apporté de précisions expliquant une problématique réelle des découvertes incidentes avec l'ACPA.

► **Recommandations professionnelles disponibles**

La recherche et l'analyse préliminaire bibliographiques menées par la HAS n'ont identifié aucune recommandation professionnelle en oncohématologie intégrant (voire mentionnant) l'ACPA dans la prise en charge (diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique) des patients concernés. Sur ce point, le Pr Béné a confirmé qu'il n'existe pas à l'heure actuelle, à sa connaissance, de recommandations professionnelles définissant la place de l'ACPA en oncohématologie, d'autant que cette technique n'est pour l'heure pas inscrite dans les protocoles nationaux existants (*cf.* plus haut). Elle a enfin ajouté que l'intégration de l'ACPA aux pratiques en oncologie n'a pas profité de l'essor de la diffusion de cette technique rencontré pour les indications constitutionnelles et que l'ACPA reste actuellement peu utilisée sur le territoire et réalisée seulement par quelques laboratoires français.

Annexe 12. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des LAL

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) de pédiatrie

Titre : Évaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 19/06/2019

Participants :

Pr Hélène Cavé, Hôpital Robert Debré (Paris), département de génétique - UF de génétique moléculaire, représentante du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)

Dr Carole Giraud, chef de projet SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP de pédiatrie, interrogé en tant que partie prenante, quant à l'intérêt potentiel de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte spécifique des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL). En effet, les plateformes de génétique moléculaire de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté avoir réalisé 692 ACPA en 2017 dans le contexte des LAL et LAM¹⁸ (volumes d'activité poolés), soit un volume d'activité très faible en valeur absolue, mais devant être mis en relation avec le nombre de nouveaux patients, essentiellement des enfants et adolescents, annuellement concernés par ces types de tumeurs rares (environ 400 et 80 nouveaux patients de moins de 18 ans par an pour les LAL et LAM respectivement en France).

Le Pr Hélène Cavé, exerçant dans le département de génétique (UF de génétique moléculaire) de l'Hôpital Robert Debré (Paris), a été désignée par le Pr Brigitte Chabrol, Présidente du CNP de pédiatrie, sur proposition du Pr Virginie Gandemer, Présidente de la Société française de lutte contre les cancers et leucémies de l'enfant et de l'adolescent (SFCE), en tant que représentante du CNP de pédiatrie et de la SFCE pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des LAL. Il est à noter que le Pr Cavé est la coordinatrice des analyses génétiques du principal protocole thérapeutique français actuel des LAL de l'enfant et de l'adolescent (protocole intitulé « *Children and Adolescent Acute Lymphoblastic Leukemia - France 01* », dit protocole CAALL-F01).

► Objectif(s) de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte des LAL

Le Pr Cavé a commencé par expliquer qu'au diagnostic d'une LAL, un niveau global de risque de rechute est déterminé en fonction de la leucocytose, l'immunophénotype de la leucémie, et l'âge de l'enfant. Ce niveau de risque est ensuite réévalué (et potentiellement modifié) en fonction de divers éléments parmi lesquels certains facteurs génétiques pronostiques reconnus qui sont systématiquement recherchés tels que certaines translocations, l'existence d'une aneuploïdie ou encore la présence péjorative d'anomalies de nombre de copies (CNV, *copy number variations*) de certaines régions du génome telles que l'amplification intrachromosomique du chromosome 21 (iAMP21) ou les délétions touchant le gène *IKZF1* (codant la protéine IKAROS). Ainsi, les aneuploïdies définissent deux types de LAL : les LAL hyperdiploïdes (plus de 50 chromosomes) et hypodiploïdes, sachant qu'une hyperdiploïdie est de bon pronostic alors qu'une hypodiploïdie est de mauvais pronostic. Selon le Pr Cavé, le typage des CNV devient aussi actuellement un outil

¹⁸ LAM, leucémie aiguë myéloblastique.

important dans l'évaluation du risque de rechute. Dans la majorité des protocoles actuels, le traitement des patients porteurs d'une *iAMP21* est intensifié. Il en est de même pour les patients chez lesquels est détectée une délétion touchant *IKZF1*. L'étude conjointe de plusieurs régions cibles de délétion (incluant *IKZF1*) permettrait même maintenant d'établir encore plus finement des profils de CNV associés à un risque accru de rechute¹⁹. Or, évaluer le niveau de risque de rechute et de décès du patient (pronostic de sa maladie) permet au final de déterminer le choix de l'intensité thérapeutique.

Le Pr Cavé a ensuite expliqué que le profil génétique tumoral peut aussi parfois amener à orienter le patient vers une thérapeutique ciblée, notamment dans le cadre des LAL de type « *Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia* » ou LAL dites « *Philadelphia-like* » (« Ph-like »), leucémies associées à un mauvais pronostic²⁰. Ce type de LAL est associé à différents types d'altérations génétiques (essentiellement des translocations à l'origine de la formation de gènes de fusion) entraînant une activation anormale de tyrosines kinases. L'activation des voies concernées rend ce type de LAL accessible à des thérapies ciblées spécifiques inhibitrices de tyrosine kinase (utilisés pour les LAL à chromosome Philadelphie). Actuellement, les LAL de type Ph-like étant très rares et pouvant être associées à un panel d'anomalies génétiques différentes, elles ne sont recherchées qu'en 2nde intention lorsqu'on ne trouve pas d'anomalies classiquement recherchées. L'ACPA fait partie de l'arsenal de techniques pouvant être utilisées pour la détection de certaines de ces anomalies (délétions et, dans une moindre mesure, translocations car ces dernières sont souvent associées à des petits CNV aux points de cassure) même si elle n'est pas à cet effet une technique de premier ordre (les principales anomalies d'intérêt à rechercher étant des gènes de fusion²¹). Sur ce point, le Pr Cavé a signalé que son laboratoire (réfèrent pour les analyses génétiques avancées dans les LAL) met actuellement au point une technique de RNA-seq visant à rechercher d'emblée en une semaine conjointement par une seule technique les anomalies classiquement recherchées et de type Ph-Like. Le Pr Cavé a néanmoins relevé qu'il ne s'agit à cette heure que d'une technique en cours de mise au point, utilisant une technologie encore innovante, pour l'heure essentiellement utilisée en recherche, qui n'est pas encore validée ni accréditée pour la pratique diagnostique.

En résumé, dans le cadre de la démarche d'exploration des facteurs génétiques pronostiques des LAL, l'ACPA peut permettre de rechercher et caractériser conjointement différentes altérations génétiques d'intérêt pronostique telles que les anomalies de ploïdie et les altérations génétiques associées à des CNV (telles que *iAMP21*, ou les délétions du gène *IKZF1*, ou certaines anomalies de type Ph-like). Utilisée dans ce contexte, les objectifs de son utilisation sont donc d'ordre **prognostique et thérapeutique**, la stratification du risque de rechute/décès impactant directement les choix thérapeutiques.

► Apport de l'ACPA au regard des techniques de cytogénétique et génétique moléculaire habituellement mises en œuvre pour les LAL²²

Selon le Pr Cavé, l'ACPA n'est pas une technique indispensable en soi car d'autres techniques permettent aussi de rechercher les anomalies génétiques devant être systématiquement recherchées dans les LAL. Par exemple, les délétions d'*IKZF1* peuvent être recherchées par ACPA mais également, en fonction des laboratoires, par MLPA ou NGS. Cependant, cette technique fait partie

¹⁹ À ce niveau, le Pr Cavé a mentionné le profil *IKZF1*^{plus}, en y associant une référence bibliographique (Stanulla et al., 2018).

²⁰ Pour rappel, le chromosome Philadelphie est un chromosome dérivé du chromosome 22 qui est porteur du gène de fusion *bcr-abl* issu d'une translocation réciproque t(9;22). Ce chromosome est retrouvé dans 90-95 % des leucémies myéloïdes chroniques et, moins fréquemment, dans certaines LAL.

²¹ Selon le Pr Cavé, les techniques de 1^{er} ordre pour la recherche des anomalies Ph-like sont la FISH, et/ou RT-PCR et/ou RNAseq et/ou RT-MLPA.

²² Signification des acronymes utilisés dans cette partie du document : FISH, *fluorescence in situ hybridization* ; MLPA, *multiplex ligation-dependent probe amplification* ; NGS, *new generation sequencing* ; RNA-seq, *RNA sequencing* ; RT-PCR, *reverse transcriptase polymerase chain reaction* ; SNP, *single nucleotide polymorphism*.

d'un panel de techniques qui présentent toutes des avantages et des limites. Ainsi, le Pr Cavé a souligné qu'il n'y a absolument pas lieu de recourir à toutes les techniques chez tous les patients en systématique mais qu'il s'agit de choisir et combiner au mieux les techniques jugées les plus adaptées en fonction des situations pour atteindre l'objectif escompté. En pratique, le choix des techniques utilisées en 1^{ère} intention dépend notamment du laboratoire, qui prend en compte un ensemble de paramètres (ressources financières et humaines, niveau de compétence/expertise du laboratoire au regard de l'utilisation de l'ACPA, volumes de prélèvements à traiter, ...). Les techniques de 1^{ère} intention varient également en fonction des pays. Ainsi, le Pr Cavé a rapporté qu'en Autriche, il n'est plus fait de caryotype standard mais uniquement de la FISH et de l'ACPA en examens cytogénétiques de 1^{ère} ligne.

Dans l'hôpital où elle exerce [CHU Robert Debré, considéré comme de référence pour les LAL pédiatriques], les techniques utilisées en 1^{ère} intention pour l'exploration génétique des LAL sont le caryotype conventionnel, la technique FISH, la MLPA et la RT-PCR. Ce laboratoire n'utilise pas à l'heure actuelle l'ACPA en 1^{ère} intention pour son intérêt jugé principal par le Pr Cavé, à savoir la détection des CNV. La détection des CNV d'intérêt y est pour l'heure réalisée par MLPA, moins coûteuse et plus rapide à mettre en œuvre [il est à signaler que la MLPA n'est à ce jour pas inscrite à la NABM et que son financement (provisoire) repose sur son inscription sur la liste complémentaire du RIHN sous le code N318]. Ce laboratoire n'a ainsi actuellement recours à l'ACPA en pratique courante qu'en cas de doute sur la ploïdie²³ essentiellement. En effet, les puces de type SNP *array* (uniquement) permettent non seulement d'identifier les anomalies de nombre de copies mais aussi, par l'étude des SNP, de voir si les copies sont issues des deux parents ou d'un seul des parents, donc de détecter les pertes d'hétérozygotie (ou LOH pour *loss of heterozygosity*)²⁴, ce que ne permettent pas d'autres techniques utilisées pour détecter les anomalies quantitatives, telle que la MLPA. L'étude pangénomique des LOH permet ainsi de différencier une hypodiploïdie dupliquée (mauvais pronostic) d'une hyperdiploïdie (bon pronostic), ceci de façon beaucoup plus efficace que le caryotype, en plus de ne pas nécessiter de culture cellulaire contrairement à ce dernier. Sur ce point, le Pr Cavé a relevé que la technique alternative actuellement disponible pour la recherche des LOH est l'étude de marqueurs polymorphes de type microsatellite (analyse de fragment en PCR fluorescente par exemple), qui selon elle est aujourd'hui une technique un peu obsolète (mais encore réalisée pour le moment dans son laboratoire), et que la technologie en cours de développement pour la recherche des LOH est le NGS (technologie bien adaptée mais pipelines d'analyse non encore bien validés pour la recherche de LOH). En l'occurrence, selon le Pr Cavé, le NGS sera sans doute dans un avenir plus ou moins proche utilisé pour détecter *via* cette seule technique l'ensemble des différents types d'anomalies génétiques d'intérêt, se substituant ainsi probablement aux techniques classiques et à l'ACPA. Néanmoins, le Pr Cavé a souligné qu'à l'heure actuelle, les techniques de NGS pouvant répondre à cette attente (séquençage de l'exome, RNA-seq) sont encore loin d'être largement accessibles et que leur validation et accréditation apparaissent complexes.

Enfin, le Pr Cavé a confirmé que l'ACPA n'est pas un outil de choix pour détecter les translocations (qu'elles soient équilibrées ou déséquilibrées²⁵). À cet effet, les techniques de choix restent actuellement le caryotype standard, la FISH et la RT-PCR.

²³ Le Pr Cavé a précisé que, outre l'ACPA, les techniques pouvant permettre de rechercher des anomalies de ploïdie sont le caryotype, l'index d'ADN et la technique FISH avec sondes de peinture ciblées (panel de sondes peignant des chromosomes classiquement dupliqués).

²⁴ Le Pr Cavé a précisé que, de manière générale, l'étude des SNP permet de voir les LOH sans perte de matériel génétique (c'est-à-dire sans délétion). Les LOH peuvent notamment impacter certains gènes suppresseurs de tumeurs comme P53 ou NF1 *via* une duplication de l'allèle muté non fonctionnel par un processus de disomie uniparentale acquise.

²⁵ Le Pr Cavé a rappelé que beaucoup de translocations dites équilibrées ne le sont pas strictement car il existe souvent des petits déséquilibres aux points de cassure. Selon elle, ces derniers sont difficiles à détecter par ACPA mais certains professionnels connaissant très bien la pathologie et cette technique sont néanmoins capables de détecter des signes d'alerte dans ces régions.

► Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients atteints par une LAL

Le Pr Cavé a expliqué que la quasi-totalité (95 %) des enfants atteints de LAL sont traités dans le cadre de protocoles thérapeutiques nationaux, ce qui est une relative spécificité de l'oncologie pédiatrique²⁶. Ces protocoles ont la particularité d'allier le soin courant à des questions de recherche clinique d'ordre thérapeutique sans distinguer ces deux aspects de façon absolue. Ainsi, les analyses biologiques, y compris génétiques, réalisées au diagnostic pour évaluer le pronostic et stratifier les patients dans différents groupes en fonction de leur niveau de risque de rechute, le sont en tant qu'examen de soins courants dont la mise en œuvre ne dépend pas de la ou des question(s) thérapeutique(s) posée(s) par le protocole. En l'occurrence, si l'un des parents refuse l'inclusion de son enfant dans le protocole proposé, les analyses génétiques réalisées au diagnostic pour cet enfant seront les mêmes que celles des enfants inclus dans le protocole.

Concernant les modalités de financement des analyses génétiques réalisées au diagnostic dans le cadre de ces protocoles thérapeutiques nationaux, le Pr Cavé a précisé que les crédits de recherche associés à ces protocoles sont exclusivement dédiés au financement de la partie recherche de ces protocoles de traitement, et qu'ils n'ont pas vocation à couvrir la partie relevant des soins courants, donc les analyses biologiques. L'ACPA, lorsqu'elle est réalisée dans le cadre de ces protocoles, est donc codée *via* la liste complémentaire du RIHN.

Par ailleurs, le Pr Cavé a ajouté que les maladies rares et l'oncologie pédiatrique sont des contextes médicaux très particuliers pour lesquels les analyses génétiques avancées ne sont (à ce jour en tous les cas) pas faites en laboratoire privé mais uniquement en centre expert hospitalier ou anticancéreux. Ainsi, selon elle, s'il apparaît sans nul doute souhaitable de soutenir le financement de l'ACPA par une modalité financière ou une autre car cet examen n'a pas d'équivalent au sein de l'arsenal des techniques actuellement accessibles en (cyto-)génétique des cancers, il doit être pris en compte qu'une inscription à la NABM peut présenter un risque de dérive de la réalisation de l'examen vers des laboratoires qui ne sont pas vraiment experts de la pathologie.

► Recommandations professionnelles disponibles

La recherche et l'analyse préliminaire bibliographiques menées par la HAS n'ont pas pu identifier de recommandations professionnelles intégrant (voire mentionnant) l'ACPA dans la prise en charge (diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique) des patients atteints par une LAL. Le Pr Cavé a confirmé qu'il n'existe pas à l'heure actuelle, à sa connaissance, de recommandations professionnelles au sein desquelles il serait expressément préconisé d'utiliser spécifiquement l'ACPA pour rechercher certaines anomalies génétiques. Elle a néanmoins relevé que, d'une part, les protocoles thérapeutiques nationaux tiennent lieu de recommandations de bonne pratique pour les professionnels concernés dans le contexte particulier des maladies rares oncopédiatriques, et que d'autre part, l'absence de préconisation d'utilisation spécifique de l'ACPA ne préjuge pas de l'intérêt ou non de cette technique puisque les recommandations s'intéressent à consensualiser les anomalies dont la recherche apparaît indispensable mais que le choix des techniques pour mener à bien ces recherches relève ensuite de l'expertise des laboratoires concernés. À cet égard, le Pr Cavé a signalé qu'il apparaît donc, selon elle, important de permettre un financement, quel qu'il soit, dans le cadre du soin courant d'au moins une des techniques permettant la mise en évidence des anomalies de nombre de copies (ACPA ou MLPA actuellement) compte tenu de l'importance de ce type d'analyse dans l'évaluation pronostique des LAL. En outre, le Pr Cavé a ajouté que deux prochains grands protocoles européens sont en cours de mise en place, par lesquels seront traités prochainement l'ensemble des patients européens atteints de LAL, y compris français. Or, sur la base de différents résultats d'études (Moorman *et al.*, 2014 ; Stannula *et al.*, 2018), il est

²⁶ Le Pr Cavé a précisé que si le protocole CAALL-F01 est le protocole national le plus important, d'autres protocoles thérapeutiques existent notamment pour des sous-types de leucémies ou certains groupes spécifiques de patients comme par exemple les nouveau-nés ou les patients en rechute. Tous ces protocoles ont en commun la partie strictement relative au soin et nécessitent donc les mêmes analyses biologiques.

prévu que ces protocoles thérapeutiques utilisent tous deux une combinaison de CNV (incluant les délétions d'*IKZF1*) pour la stratification du risque des patients.

Références mentionnées

- Moorman AV, Enshaei A, Schwab C, *et al.* *A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia.* Blood. 2014;124(9):1434-1444.
- Stanulla M, Dagdan E, Zaliouva M, *et al.*; TRANSCALL Consortium; *International BFM Study Group.* *IKZF1(plus) defines a New Minimal Residual Disease-Dependent Very-Poor Prognostic Profile in Pediatric B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia.* J Clin Oncol. 2018 Apr 20;36(12):1240-1249.

Annexe 13. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des LAM

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) de pédiatrie

Titre : Évaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 24/06/2019

Participants :

Pr Hélène Lapillonne, responsable du département d'hématologie biologique, Hôpital d'enfants Armand Trousseau (Paris) - représentante du CNP de pédiatrie pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte spécifique des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM)

Dr Carole Giraud, chef de projet SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP de pédiatrie, interrogé en tant que partie prenante, quant à l'intérêt potentiel de l'utilisation de l'ACPA dans le contexte spécifique des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM). En effet, les plateformes de génétique moléculaire de l'Institut national du cancer (INCa) ont rapporté avoir réalisé 692 ACPA en 2017 dans le contexte des LAL et LAM (volumes d'activité poolés), soit un volume d'activité très faible en valeur absolue, mais devant être mis en relation avec le nombre de nouveaux patients, essentiellement des enfants et adolescents, annuellement concernés par ces types de tumeurs rares (environ 400-600 et 70 nouveaux patients de moins de 18 ans par an pour les LAL et LAM respectivement en France).

Le Pr Hélène Lapillonne, exerçant dans le département d'hématologie biologique de l'Hôpital Armand Trousseau (Paris), a été désignée par le Pr Brigitte Chabrol, Présidente du CNP de pédiatrie, sur proposition du Pr Virginie Gandemer, Présidente de la Société française de lutte contre les cancers et leucémies de l'enfant et de l'adolescent (SFCE), en tant que représentante du CNP de pédiatrie et de la SFCE pour l'évaluation de l'ACPA dans le contexte des LAM.

Le Pr Lapillonne a rappelé que les LAM de l'enfant (0 à 18 ans) sont encore actuellement un type de cancer difficile à soigner, avec un taux de rechute d'environ 50 % et une survie globale autour de 70 % à cinq ans. Le Pr Lapillonne a ensuite expliqué qu'en pratique courante, un certain nombre d'analyses biologiques sont mises en œuvre systématiquement pour établir le diagnostic et le pronostic : analyse cytologique, cytométrie en flux, caryotype et technique FISH associée. Caryotype et FISH sont réalisés pour rechercher les principales translocations et autres types de remaniements chromosomiques pronostiques. À l'issue de ces recherches, les enfants peuvent d'ores et déjà être stratifiés en trois groupes de pronostics différents (bon, intermédiaire, défavorable) qui les orientent vers les traitements considérés comme les plus adaptés (chimiothérapie plus ou moins intense, programmation de greffe pour certains patients *versus* uniquement chimiothérapie pour d'autres, etc.). Ces examens biologiques de 1^{ère} intention sont par ailleurs complétés par une recherche, également systématique au diagnostic, de marqueurs moléculaires à la fois diagnostiques et pronostiques par biologie moléculaire (habituellement par séquençage ciblé d'un panel de 41 gènes par NGS²⁷ pour les LAM de l'enfant) dont les résultats peuvent amener à une « bascule » de certains patients d'un groupe pronostique vers un autre.

²⁷ NGS, *new generation sequencing*, ou séquençage haut débit.

Selon le Pr Lapillonne, au sein de cette stratégie à visée **diagnostique et pronostique**, l'ACPA peut parfois être utilisée en complément de ce panel de techniques mais il n'y a pas réellement d'arguments ni de données publiées à l'heure actuelle pour justifier d'un besoin systématique de cet examen pour le soin courant. Actuellement, la recherche des principales anomalies quantitatives d'intérêt (aneuploïdies, délétions, duplications) est réalisée par les techniques cytogénétiques classiques et le NGS, en devant parfois recouper les résultats entre ces deux types de technologies pour affirmer la présence de certaines anomalies. Selon le Pr Lapillonne, une utilisation plus systématique de l'ACPA pourrait être utile à ce niveau pour identifier plus facilement ce type d'anomalies.

Le Pr Lapillonne a par ailleurs expliqué qu'en pratique, les enfants atteints de la LAM en France sont quasiment tous inclus dans des protocoles thérapeutiques nationaux et que les analyses biologiques de ces enfants sont centralisées sur deux centres experts qui sont les laboratoires d'hématologie du CHU de Lille et de l'hôpital Armand Trousseau. En l'occurrence, le laboratoire d'hématologie de l'hôpital Trousseau où exerce le Pr Lapillonne, ne réalise généralement pas les analyses ACPA lui-même mais les transmet au laboratoire de cytogénétique de l'hôpital Saint-Antoine (Paris). Ce dernier utilise des puces commerciales de type SNP *array* densifiées notamment au niveau des régions d'anomalies connues en oncologie.

Concernant le rendu des résultats, le compte-rendu liste les anomalies génétiques identifiées par la puce. Interrogée sur la problématique de potentielles découvertes incidentes avec l'ACPA, le Pr Lapillonne a attesté qu'il s'agit d'un événement possible en soulignant néanmoins, d'une part, que les anomalies identifiées dans les cellules tumorales ne sont le plus souvent pas constitutionnelles mais apparues sporadiquement dans ces cellules et, d'autre part, qu'un laboratoire d'hématologie n'a l'expertise et la légitimité que pour suggérer l'existence possible d'un facteur de prédisposition dans le domaine des hémopathies. En l'occurrence, si ce type de découverte se produit, elle est signalée au clinicien avec une préconisation de la part du laboratoire de proposer à la famille du patient une consultation en oncogénétique.

Enfin, concernant l'existence de recommandations professionnelles qui pourraient soutenir l'utilisation de l'ACPA dans le domaine des LAM [le travail bibliographique mené à ce stade par la HAS n'en ayant pas identifiées], le Pr Lapillonne a confirmé qu'il n'y a pas à sa connaissance de recommandations professionnelles préconisant d'utiliser spécifiquement l'ACPA à des fins diagnostiques et/ou pronostiques dans ce contexte. Elle a en outre ajoutée que, de manière plus générale, il existe à l'heure actuelle peu d'études publiées s'intéressant à l'ACPA dans le domaine des LAM.

Annexe 14. Compte-rendu intégral de l'audition du représentant du CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire

COMPTE RENDU

Type de réunion : Audition de partie prenante – Conseil national professionnel (CNP) de génétique clinique, chromosomique et moléculaire

Titre : Évaluation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)

Date : 25/06/2019

Participants :

Dr Nathalie Auger, service de génétique des tumeurs, secteur cytogénétique, CLCC Institut Gustave Roussy (Villejuif)

Dr Carole Giraud, chef de projet SEAP, HAS

Cet entretien s'inscrit dans le cadre de l'évaluation par la HAS de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) dans le domaine oncologique. L'objectif était de recueillir le point de vue du CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire, interrogé en tant que partie prenante, quant aux situations cliniques oncologiques pour lesquelles cet examen apparaît réalisé dans leur pratique courante.

Le Dr Nathalie Auger, exerçant au sein du service de génétique des tumeurs de l'Institut Gustave Roussy, a été désignée comme représentante du CNP de génétique et de l'Association des cytogénéticiens de langue française (ACLF) par le Pr Martine Doco-Fenzy, Présidente de l'ACLF, société savante vers laquelle le Pr Bruno Leheup, Président du CNP de génétique, a renvoyé la HAS pour la désignation d'un représentant de son CNP dans le contexte oncologique.

► **Indications et objectifs de l'utilisation de l'ACPA en oncologie/oncogénétique**

Concernant les types de tumeurs pour lesquelles l'ACPA présenterait un intérêt dans le domaine oncologique, le Dr Auger a expliqué qu'ils sont nombreux et variés. Parmi les tumeurs solides ont été mentionnés notamment les neuroblastomes, sarcomes, gliomes, cancers du sein, cancers de l'estomac et cancers génito-urinaires. En oncohématologie ont été cités les leucémies aiguës, les syndromes myélodysplasiques (SMD), les myélomes et les lymphomes. Interrogée sur le fait que l'INCa ne rapporte dans son rapport d'activité 2017 globalement aucune activité d'ACPA pour plusieurs de ces tumeurs mentionnées (cancer du sein, cancer de l'estomac, cancer génito-urinaires, SMD, myélomes, lymphomes), le Dr Auger a répondu que, selon elle, tous les laboratoires réalisant des analyses d'oncogénétique ne rapportent pas systématiquement leurs données volumétriques d'ACPA à l'INCa, en particulier lorsque l'ACPA est réalisée dans le cadre de protocoles de recherche.

Concernant les objectifs d'utilisation de l'ACPA, le Dr Auger a rapporté qu'ils dépendent du type de tumeur, en fonction duquel l'intérêt peut être diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique. Ainsi, pour illustration dans le domaine des tumeurs solides, l'intérêt principal serait diagnostique dans les sarcomes, pronostique dans les neuroblastomes et thérapeutique pour certaines autres tumeurs solides. Sur ce dernier point ont été mentionnés plusieurs protocoles de recherche s'intéressant communément à pouvoir faire bénéficier certains patients d'une thérapie ciblée n'ayant pas d'AMM dans leur type de tumeur sur la base d'une « cartographie » moléculaire tumorale établie par séquençage haut débit et/ou ACPA afin d'identifier des anomalies actionnables. En

oncohématologie, les principaux objectifs seraient d'ordre pronostique et indirectement thérapeutique [« indirectement », car la stratégie thérapeutique dépend en partie du pronostic].

► Place de l'ACPA dans la prise en charge en pratique courante des patients en oncologie

Selon le Dr Auger, l'ACPA est à l'heure actuelle une technique réalisée et utilisée par assez peu de laboratoires français et, hormis dans certains types spécifiques de tumeurs telles que les neuroblastomes et sarcomes pour lesquels son utilisation apparaît intégrée aux pratiques courantes, l'utilisation de cette technique semble se faire essentiellement dans le contexte de protocoles de recherche clinique, telles que les études précédemment évoquées pour les tumeurs solides pour lesquelles l'ACPA a une application thérapeutique.

► Apport de l'ACPA au regard des techniques de cytogénétique et génétique moléculaire habituellement mises en œuvre en oncologie

Selon le Dr Auger, l'ACPA est une technique qui présente des avantages et des limites au même titre que les techniques plus classiquement utilisées en oncogénétique. Cette technique complète ainsi le panel des techniques disponibles pour répondre aux problématiques rencontrées dans certaines situations. Ainsi, l'ACPA présente l'intérêt, majeur en particulier dans le contexte des tumeurs solides, d'être utilisable lorsque le caryotype n'est pas réalisable (échec de culture cellulaire) ce qui est fréquemment le cas pour bon nombre de tumeurs solides. Par ailleurs, cette technique présente un autre avantage majeur, qui est de permettre d'éviter de multiplier le nombre de sondes FISH lorsque le nombre d'anomalies quantitatives d'intérêt est important, ce qui est par exemple le cas pour les neuroblastomes. Enfin, cette technique (technologie SNP *array* uniquement) permet de détecter conjointement les anomalies génomiques quantitatives et les déséquilibres alléliques (perte d'hétérozygotie notamment).

A contrario, le Dr Auger a rappelé/confirmé que l'ACPA est une technique visant à détecter des variations de nombre de copies, et qu'elle n'est donc pas adaptée à la recherche de translocations. Cette technique ne peut donc pas se substituer en 1^{ère} intention à l'utilisation des techniques classiques (caryotype et/ou FISH) dans les types de tumeurs pour lesquelles il existe de multiples translocations d'intérêt essentiel (cas notamment de l'hématologie).

Interrogée sur la place de l'ACPA (en tant que technique pangénomique) à l'heure actuelle en pratique courante en regard du séquençage haut débit (ou NGS pour *new generation sequencing*), le Dr Auger a expliqué qu'en oncologie, le NGS est actuellement essentiellement utilisé en tant que technique de séquençage ciblé et simultané d'un panel de gènes, et que, dans ce contexte, cette technologie est surtout adaptée (et utilisée) pour l'exploration d'un panel de mutations au sein de gènes connus comme étant impliqués dans la pathologie. Utilisée ainsi, cette technologie est donc inadaptée à la recherche pangénomique des anomalies quantitatives d'intérêt en oncologie (délétions et duplications essentiellement). Néanmoins, le Dr Auger a ajouté que le séquençage de l'exome (ou WES pour *whole exome sequencing*) et la technologie RNAseq (analyse du transcriptome entier), qui sont à l'heure actuelle encore essentiellement utilisées en recherche et peu accessibles à la pratique courante, permettent de rechercher tous les types d'anomalies (mutations, délétions, amplifications, translocations) *via* une seule technique et qu'elles se substitueront probablement dans l'avenir aux techniques classiques et à l'ACPA.

► Aspects analytiques et post-analytiques

Concernant les puces utilisées en pratique en oncogénétique, le Dr Auger a expliqué que deux puces commerciales de type SNP *array*²⁸, densifiées (notamment) au niveau des zones du gé-

²⁸ Les SNP *array* constituent la plateforme de choix pour la détection des variantes structurales quantitatives de l'ADN telles que les insertions, duplications et délétions chromosomiques, mais elles permettent également de détecter des déséquilibres alléliques tels que les pertes d'hétérozygotie (LOH) et les anomalies de ploïdie.

nome considérées d'intérêt en oncologie, sont communément utilisées, l'une étant utilisée pour les tumeurs solides et l'autre pour l'oncohématologie.

Au sein du laboratoire du Dr Auger, les résultats d'ACPA sont rendus au prescripteur sous la forme d'un compte-rendu incluant une représentation graphique du profil cytogénétique de la tumeur, la formule chromosomique selon la nomenclature internationale ISCN en vigueur et une conclusion/interprétation synthétique répondant de façon compréhensible pour les non-spécialistes en cytogénétique à la problématique ayant suscité la réalisation de l'examen.

Selon le Dr Auger, la problématique des découvertes incidentes (découvertes fortuites de variants dans des gènes hors champ de l'indication ayant motivé la réalisation du test) ne se pose pas avec l'ACPA utilisée dans le cadre oncologique, principalement parce que, d'une part, la présence d'une anomalie dans des cellules tumorales (génétique somatique) ne signifie pas qu'elle est présente au niveau constitutionnel et parce que, d'autre part, les anomalies constitutionnelles connues comme étant des facteurs de prédisposition au développement d'un cancer sont essentiellement des mutations (et non des variants quantitatifs) donc elles ne sont pas détectées par l'ACPA. Le Dr Auger a par ailleurs relevé qu'*a contrario* le problème des découvertes incidentes se pose avec le NGS pangénomique (séquençage de l'exome ou du génome entier).

► **Recommandations professionnelles disponibles**

La recherche et l'analyse préliminaire bibliographiques menées par la HAS n'ont pas pu identifier de recommandations professionnelles permettant de déterminer (notamment) les indications et objectifs d'utilisation de l'ACPA dans la prise en charge des patients en oncologie. Le Dr Auger a confirmé qu'il n'y a pas à sa connaissance de recommandations professionnelles préconisant d'utiliser spécifiquement l'ACPA à des fins diagnostiques, pronostiques et/ou thérapeutiques dans les tumeurs pour lesquelles elle est parfois (ex : oncohématologie) ou communément (ex : neuroblastomes) utilisée en pratique.

Annexe 15. Liste des tableaux

Tableau 1. Modalités de financement actuelles des principales techniques permettant d'identifier des variations quantitatives du génome en cancérologie.	15
Tableau 2. Stratégie de recherche bibliographique.....	17
Tableau 3. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i>	30

Références

1. Haute Autorité de Santé. Évaluation de la technique d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) - Feuille de route. Saint-Denis la Plaine:HAS; 2019. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3066998/fr/evaluation-de-la-technique-d-analyse-chromosomique-sur-puce-a-adn-acpa-feuille-de-route
2. Institut national du cancer. Réseaux nationaux pour cancers rares de l'adulte, appui à la décision. Boulogne Billancourt: INCA; 2015. <https://www.e-cancer.fr/content/download/118020/1407522/file/Resaux-nationaux-cancers-rares-adultes-2015.pdf>
3. Moura B, Migliorni D, Bourhis J, Daniel R, Levivier M, Hottinger AF. Prise en charge des tumeurs cérébrales primaires : une approche multidisciplinaire. Rev Med Suisse 2016;12(821-5).
4. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, *et al.* The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathol 2016;131(6):803-20.
5. Association des neuro-oncologues d'expression française, Oncogik, Réseau de neuro-oncologie pathologique, Société française de radiothérapie oncologique, Société française de neurochirurgie. Référentiel Glioblastome (grade IV OMS) : ANOCEF; 2018.
6. Association des neuro-oncologues d'expression française. Traitement des gliomes malins grade III et IV OMS. Recommandations ANOCEF 2018 : ANOCEF; 2018. https://www.anocef.org/download.php?modele=anocef_referentiel_glioblastome2018
7. Brouland JP, Hottinger AF. Nouvelle classification OMS 2016 des gliomes : quels changements ? Rev Med Suisse 2017;13(579):1805-9.
8. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127(20):2391-405.
9. Amorim S, Houlgatte R, Thieblemont C, Eclache V, Cymbalista F, Corre J, *et al.* Apport de la cytogénétique au pronostic et aux décisions thérapeutiques dans les hémopathies malignes lymphoïdes [13-000-K-20]. Encycl Med Chir Hématologie 2015;10(2).
10. Réseau de Cancérologie de Midi-Pyrénées. Biologie moléculaire. Version 4.2. Actualisation. Toulouse: Oncomip; 2017. <http://www.oncomip.org/fr/dldoc/?t=recommandations&f=oc1&d=151&h=5dc2047470527d4b2b7f419715edc80c>
11. Groupe francophone de cytogénétique hématologique, Nguyen-Khac F, Borie C, Callet-Bauchu E, Eclache V, Struski S. Place de la cytogénétique dans la prise en charge de la leucémie lymphoïde chronique : actualisation du Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). Ann Biol Clin 2016;74(5):561-7.
12. Malan V, Romana S. Diagnostic des anomalies chromosomiques en pathologie constitutionnelle. Traité de médecine AKOS 2015;10(1):1-8.
13. European Cytogenetics Association. A common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular cytogenetic investigations. Hannover: ECA; 2012.
14. Ferrarini A, Jacquemont S, Beck Popovic M, Bonafé L, Martinet D. Puce à ADN : pourquoi et pour qui ? Rev Med Suisse 2010(6):390-6.
15. Schoumans J, Suela J, Hastings R, Muehlematter D, Rack K, van den Berg E, *et al.* Guidelines for genomic array analysis in acquired haematological neoplastic disorders. Genes Chromosomes Cancer 2016;55(5):480-91.
16. Verloes A, Heron D, Billette de Villemeur T, Afenjar A, Baumann C, Bahi-Buisson N, *et al.* [Diagnostic investigations for an unexplained developmental disability]. Arch Pediatr 2012;19(2):194-207.
17. Coutton C, Vieville G, Satre V, Devillard F, Amblard F. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) et sondes « à façon » entièrement synthétiques. Guide pratique, recommandations et expérience au CHU de Grenoble. IRBM 2012;33:227-35.
18. Cancer Care Ontario, Kandel RA, Yao X, Dickson BC, Ghert M, Popovic S, *et al.* Molecular analysis in the diagnosis, prognosis, and selection of therapy in non-GIST soft tissue sarcomas. Toronto: CCO; 2018. <https://www.cancercareontario.ca/sites/ccocancercare/files/guidelines/full/pebc11-12f.pdf>
19. Hastings RJ, Bown N, Tibiletti MG, Debiec-Rychter M, Vanni R, Espinet B, *et al.* Guidelines for cytogenetic investigations in tumours. Eur J Hum Genet 2016;24(1):6-13.
20. National Comprehensive Cancer Network. Central Nervous System Cancers. Version 1.2019. Plymouth: NCCN; 2019.
21. European Association for Neuro-Oncology, Weller M, van den Bent M, Tonn JC, Stupp R, Preusser M, *et al.* European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. Lancet Oncol 2017;18(6):e315-e29.
22. European Society for Medical Oncology, Casali PG, Abecassis N, Bauer S, Biagini R, Bielsack S, *et al.* Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2018;29(Supplement_4):iv51-iv67.
23. European Society for Medical Oncology, Casali PG, Bielsack S, Abecassis N, Aro HT, Bauer S, *et al.* Bone sarcomas: ESMO-PaedCan-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2018;29(Supplement_4):iv79-iv95.

24. National Cancer Institute. Adult Soft Tissue Sarcoma Treatment (PDQ®)–Health Professional Version. Rockville: NCI; 2019.
25. National Cancer Institute. Childhood Soft Tissue Sarcoma Treatment (PDQ®)–Health Professional Version. Rockville: NCI; 2019.
26. National Comprehensive Cancer Network. Soft Tissue Sarcoma. Version 2.2019. Plymouth: NCCN; 2019.
27. National Cancer Institute. Neuroblastoma Treatment (PDQ®)–Health Professional Version. Rockville: NCI; 2019.
28. European Association for Neuro-Oncology, Weller M, van den Bent M, Hopkins K, Tonn JC, Stupp R, *et al.* EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. *Lancet Oncol* 2014;15(9):e395-e403.
29. European Society for Medical Oncology, Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, Tonn JC, Pentheroudakis G. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25 Suppl 3:iii93-101.
30. National Institute for Health and Clinical Excellence. Brain tumours (primary) and brain metastases in adults. London: NICE; 2018.
<https://www.nice.org.uk/guidance/ng99/resources/brain-tumours-primary-and-brain-metastases-in-adults-pdf-1837763558341>
31. European Society for Medical Oncology, Hoelzer D, Bassan R, Dombret H, Fielding A, Ribera JM, *et al.* Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016;27(suppl 5):v69-v82.
32. Groupe francophone de cytogénétique hématologique, Baranger L, Cuccuini W, Lefebvre C, Luquet I, Perot C, *et al.* Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) de l'enfant et de l'adulte : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin* 2016;74(5):547-60.
33. European LeukemiaNet, Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017;129(4):424-47.
34. European Society for Medical Oncology, Fey MF, Buske C. Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24 Suppl 6:vi138-43.
35. Groupe francophone de cytogénétique hématologique, Luquet I, Bidet A, Cuccuini W, Lafage-Pochitaloff M, Mozziconacci MJ, *et al.* Cytogenetics in the management of acute myeloid leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin* 2016;74(5):535-46.
36. Eichhorst B, Hallek M, Dreyling M. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;21 Suppl 5:v162-4.
37. American College of Medical Genetics and Genomics, Cooley LD, Morton CC, Sanger WG, Saxe DF, Mikhail FM. Section E6.5-6.8 of the ACMG technical standards and guidelines: chromosome studies of lymph node and solid tumor-acquired chromosomal abnormalities. *Genet Med* 2016;18(6):643-8.
38. Cooley LD, Lebo M, Li MM, Slovak ML, Wolff DJ, Working Group of the American College of Medical G, *et al.* American College of Medical Genetics and Genomics technical standards and guidelines: microarray analysis for chromosome abnormalities in neoplastic disorders. *Genet Med* 2013;15(6):484-94.
39. American College of Medical Genetics and Genomics, Mikhail FM, Heerema NA, Rao KW, Burnside RD, Cherry AM, *et al.* Section E6.1-6.4 of the ACMG technical standards and guidelines: chromosome studies of neoplastic blood and bone marrow-acquired chromosomal abnormalities. *Genet Med* 2016;18(6):635-42.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Septembre 2019
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) est une technique de cytogénétique moléculaire pangénomique qui permet de détecter avec une haute résolution des variations quantitatives du génome correspondant à des pertes ou gains de matériel chromosomique. Actuellement inscrite sur la Liste complémentaire du RIHN, cette technique a fait l'objet d'une demande d'évaluation conjointe par la DGOS et la CNAM en vue de la formulation d'un avis par la HAS quant à l'inscription à la NABM de cette technique. L'ACPA présente trois principaux domaines d'applications, qui seront successivement évalués. Le présent rapport porte sur le domaine cancérologique, initialement limité aux contextes suivants : sarcomes, neuroblastomes, gliomes, leucémies aiguës, et leucémie lymphoïde chronique. Les principaux objectifs ont été de déterminer à quelles fins l'ACPA est réalisée dans ces contextes cliniques en pratique courante et, le cas échéant, la place de cette technique au regard des techniques plus classiquement utilisées dans ces contextes. La méthode choisie repose sur une analyse critique des recommandations de bonne pratique de stratégie diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique des patients dans les contextes cancérologiques étudiés, conjointement à la consultation de plusieurs Conseils nationaux professionnels (CNP) en tant que parties prenantes.
Professionnel(s) concerné(s)	Oncologues médicaux, oncohématologues, pédiatres, neurologues, neurochirurgiens, généticiens, cytogénéticiens
Demandeur	Demande conjointe de la Direction générale de l'offre de soins (DGOS) et de la Caisse nationale de l'assurance maladie (CNAM)
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Carole GIRAUD, chef de projet, SEAP (chef de service : Cédric CARBONNEIL, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID) Secrétariat : Suzie DALOUR, assistante, SEAP
Participants	CNP de génétique clinique, chromosomique et moléculaire ; CNP d'hématologie ; CNP de neurochirurgie ; CNP d'oncologie médicale (groupe sarcome français) ; CNP de pédiatrie
Recherche documentaire	Réalisée par Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de Yasmine LOMBRY, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Carole GIRAUD, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : septembre 2019
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Avis et décision HAS (septembre 2019) disponibles sur www.has-sante.fr

~



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr