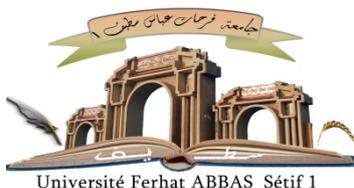


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS - SETIF1**

**FACULTÉ DE MEDECINE**

**DEPARTEMENT DE PHARMACIE**

**THESE**

En vue de l'obtention du

**Doctorat En Sciences Médicales (DESM)**

**Apport de la recherche des mutations de l'EGFR sur  
prélèvement sanguin à la thérapeutique du cancer  
bronchique non à petites cellules (CBNPC)**

Présenté Par

**Dr KEDARI Aissa , MAHU en pharmacologie**

**Directeur de thèse : Pr TOUMI Houari**

Président du jury : Professeur MANSOURI Kamel

Faculté de pharmacie d'Alger

Membres du jury : Professeur AMRANE Mounira

Faculté de médecine de Sétif

Professeur BOUDIA Fatima

Faculté de médecine d'Oran

Professeur Agrégé BOUZIDI Djalel

Faculté de médecine de Sétif

**Année universitaire :2024 / 2025**

Soutenue le : 19 /06 /2025

## *Dédicaces*

*À la mémoire des patients décédés et À ceux qui se battent toujours contre leur maladie.*

*À ma chère mère. Rien ne pourrait exprimer l'affection et l'amour que je te porte. Tes sacrifices innombrables et ton dévouement furent pour moi la plus grande des motivations.*

*À mon épouse, Qui a toujours su m'encourager, pour son soutien indéfectible, pour sa patience et son aide qui m'ont permis de persévérer et d'évoluer.*

*À mon Fils,  
Wassim, source inépuisable de motivation et de joie, pour qui je veux toujours donner le meilleur de moi-même.*

*À mon frère et à sa famille,  
pour leur appui, leurs encouragements sincères, et leur affection précieuse.*

*À toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont soutenu, encouragé, ou tendu la main durant ce parcours, je vous dédie humblement ce travail.*

*Merci du fond du cœur.*

## **Remerciements**

A notre maitre monsieur le **Professeur TOUMI Houari**,  
J'ai le grand plaisir de travailler sous votre direction, et ai trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui m'a reçu en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance.

Vos compétences scientifiques ainsi que vos qualités humaines et votre charisme vous valent l'admiration et le respect de tous. Veuillez, cher Maître, trouvé dans ce modeste travail l'expression de ma haute considération, de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

À notre maitre et président jury **Professeur MANSOURI Kamel**, Je vous remercie de m'avoir guidé dans le choix du sujet et pour tous vos conseils.

Je vous remercie de l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de présider notre jury. Veuillez trouver ici, Professeur, l'expression de ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

À mes maîtres et honorables membres de Jury :

À notre maitre et juge **Professeur AMRANE Mounira**, sans qui ce travail n'aurait jamais pu être mené.

Je vous remercie de m'avoir honoré par votre présence. Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Cet honneur me touche infiniment et je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance. Veuillez accepter, chère maître, dans ce travail l'assurance de mon estime et mon profond respect.

À notre maitre et juge **Professeur BOUDIA Fatima**, Je suis infiniment sensibles à l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse. Veuillez croire, cher Maitre, à l'assurance de mon respect et de ma grande reconnaissance.

À notre maitre et juge **Professeur BOUZIDI Djallel**, Je suis infiniment sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse. Veuillez trouver ici, chère Maitre, le témoignage de ma grande estime et ma sincère reconnaissance.

*Je remercie toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail :*

*Je remercie tout particulièrement l'ensemble des membres de l'équipe du laboratoire central du CLCC de Sétif, avec une mention spéciale pour Pr AMRANE Mounira, dont l'engagement sans faille, les encouragements constants, la rigueur scientifique, les conseils éclairés et l'esprit combatif ont été déterminants dans la réussite de ce projet. Sans son appui indéfectible, ce travail n'aurait pu voir le jour.*

*Ma reconnaissance va également à Dr TALHIA, assistante en pharmacologie au sein du même laboratoire, pour sa disponibilité, son accompagnement bienveillant et ses efforts généreux tout au long de la réalisation de cette étude.*

*Je remercie chaleureusement Pr DIB A., chef de service d'oncologie médicale au CLCC de Sétif, ainsi que Pr KERIOU, chef de service de pneumologie et phtisiologie au CHU de Sétif, pour m'avoir accueilli avec bienveillance et m'avoir donné l'opportunité de travailler au sein de leurs services respectifs.*

*Un remerciement sincère et appuyé à Dr RAHMANI, assistante en oncologie médicale au CLCC, pour son aide précieuse, son implication remarquable et sa contribution active à l'aboutissement de ce travail. Sa collaboration a été d'un grand apport.*

*Je souhaite également remercier Dr AOULMI et Dr YAKHOUÏ du service de pneumologie-phtisiologie du CHU de Sétif, pour leur disponibilité, leur aide concrète et leur accompagnement tout au long de ce projet.*

*Ma gratitude s'adresse aussi à toute l'équipe de la pharmacie du CLCC de Sétif, dont la coopération et l'implication ont été indispensables à la bonne conduite de cette recherche.*

*Un remerciement particulier à Pr MAHNANE, professeur en épidémiologie, pour ses conseils avisés, son regard critique et son aide précieuse.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la concrétisation de ce travail. Votre soutien, vos conseils et votre disponibilité ont été précieux tout au long de ce parcours.*

# Table des matières

Dédicaces

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<b>A. Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>B. Revue Bibliographique.....</b>	<b>2</b>
<b>Chapitre I : Cancer broncho-pulmonaire .....</b>	<b>3</b>
<b>1 Epidémiologie des CBP .....</b>	<b>3</b>
1.1 Dans le monde .....	3
1.1.1 Incidence.....	3
1.1.1.1 Incidence Chez l’homme .....	4
1.1.1.2 Incidence Chez la femme.....	5
1.1.2 Mortalité .....	6
1.2 Incidence En Algérie.....	7
1.2.1 Chez l’homme.....	8
1.2.2 Chez la femme .....	8
1.2.3 Au niveau régional / local de la wilaya de Sétif.....	8
1.3 La Mortalité en Algérie.....	9
<b>2 Pronostic et survie .....</b>	<b>11</b>
<b>3 Etiologies et facteurs de risque .....</b>	<b>11</b>
3.1 Le tabagisme.....	11
3.1.1 Le tabagisme actif .....	11
3.1.2 Le tabagisme passif .....	13
3.2 Le Cannabis.....	13
3.3 Facteurs professionnels .....	13
3.3.1 L’amiante.....	13
3.3.2 La silice .....	14
3.3.3 Le cadmium .....	14
3.3.4 Autres .....	14
3.4 Facteurs environnementaux.....	14
3.4.1 Le radon.....	14

3.4.2	Pollution atmosphérique.....	14
3.5	Antécédents personnels et familiaux.....	15
<b>4</b>	<b>Histologie et classification anatomopathologique .....</b>	<b>15</b>
4.1	Histologie de la muqueuse bronchique.....	15
4.2	Anatomie pathologique .....	16
4.2.1	Le cancer bronchique à petites cellules (CBPC).....	16
4.2.2	Les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC).....	17
4.2.2.1	Les adénocarcinomes (ADK).....	18
4.2.2.2	Les Carcinomes épidermoïdes .....	18
4.2.2.3	Les carcinomes à grandes cellules.....	19
4.2.2.4	Autres sous types histologiques .....	19
<b>5</b>	<b>Classification TNM et stadification .....</b>	<b>21</b>
5.1	Classification TNM.....	21
5.2	Classification par stade .....	22
<b>6</b>	<b>Signes cliniques et diagnostic .....</b>	<b>22</b>
6.1	Signes cliniques .....	22
6.1.1	Symptômes liés à une atteinte locale.....	22
6.1.2	Symptômes d’envahissement locorégional.....	22
6.1.3	Symptômes liés à des métastases à distance .....	22
6.1.4	Syndromes paranéoplasiques .....	23
6.2	Bilan diagnostic .....	23
6.2.1	Examen clinique.....	23
6.2.2	Examen d’imagerie .....	23
6.2.2.1	Radiographie thoracique .....	23
6.2.2.2	Tomodensitométrie thoracique (TDM).....	23
6.2.3	Fibroscopie bronchique .....	23
6.2.4	Prélèvement tumoral et examen anatomopathologique .....	24
6.2.5	Bilan d’extension .....	24
6.2.5.1	Extension intra thoracique .....	24
6.2.5.2	Extension extra thoracique.....	24
<b>Chapitre II : Altérations moléculaires et addiction oncogénique du CBNPC....</b>		<b>25</b>
<b>1</b>	<b>Carcinogène et anomalies génétiques .....</b>	<b>25</b>
<b>2</b>	<b>Altérations moléculaires d’intérêt thérapeutique .....</b>	<b>26</b>
2.1	EGFR et altérations de l’EGFR .....	28
2.1.1	Physiologie de l’EGFR.....	28

2.1.2	Le gène de l'EGFR.....	29
2.1.3	Altérations moléculaires de l'EGFR .....	29
2.1.3.1	La surexpression.....	29
2.1.3.2	Les mutations du gène de l'EGFR .....	30
2.1.4	Différences pronostic des mutations de l'EGFR.....	31
2.1.5	Profil des patients présentant une mutation de l'EGFR.....	32
2.1.6	Mutations de résistance de l'EGFR.....	33
2.2	Réarrangements du gène ALK .....	33
2.3	Réarrangements <i>ROS 1</i> .....	34
2.4	Mutation BRAF V600E .....	35
2.5	Réarrangements du gène <i>RET</i> .....	36
2.6	La fusion NTRK .....	36
2.7	Les Altérations du <i>Met</i> .....	37
2.7.1	L'amplification du gène <i>c-MET</i> .....	37
2.7.2	Les skipping Mutations de l'exon 14 du <i>c-MET</i> .....	37
2.8	Les mutations du KRAS.....	37
2.9	Altérations du HER2 ( <i>erbB2</i> ).....	38
<b>Chapitre III : Recherche des mutations de l'EGFR.....</b>		<b>39</b>
<b>1</b>	<b>Généralités .....</b>	<b>39</b>
<b>2</b>	<b>Critères d'éligibilité à la recherche des mutations de l'EGFR .....</b>	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>Les types de prélèvements pour la recherche des mutations de l'EGFR .....</b>	<b>41</b>
3.1	Prélèvements tissulaires .....	41
3.2	Prélèvements cytologiques .....	42
3.3	Prélèvement sanguin .....	43
3.3.1	ADN circulant.....	44
3.3.1.1	Historique de la recherche de l'ADNc.....	44
3.3.1.2	Origines et caractéristiques de l'ADNc et de l'ADNct.....	44
3.3.1.3	Facteurs influençant les concentrations de l'ADNct .....	46
3.3.1.3.1	Facteurs liés à la maladie tumorale.....	46
3.3.1.3.2	Facteurs liés à au patient .....	46
3.3.1.3.3	Facteurs liés à aux traitements.....	46
3.3.1.3.4	Facteurs liés aux variables pré-analytiques .....	47
3.3.2	Les cellules circulantes tumorales (CTC).....	47
3.3.3	Les exosomes .....	48
<b>4</b>	<b>Intérêts de la biopsie liquide .....</b>	<b>48</b>

4.1	Facilité du prélèvement .....	48
4.2	Alternative si mauvaise qualité de la biopsie tissulaire.....	49
4.3	Meilleure représentation de l'hétérogénéité tumorale.....	49
4.4	Suivi tout au long du traitement et monitoring.....	50
<b>5</b>	<b>Réalisation des tests de détection des mutations de l'EGFR sur biopsie</b>	
	<b>liquide (ADNc).....</b>	<b>50</b>
5.1	Paramètres pré-analytiques et extraction de l'ADNc.....	50
5.1.1	Le Prélèvement .....	50
5.1.2	L'anticoagulant .....	51
5.1.3	Volume sanguin à prélever .....	51
5.1.4	Délai Entre le prélèvement et la séparation du plasma.....	51
5.1.5	Préparation du plasma .....	52
5.1.5.1	Séparation du plasma.....	52
5.1.5.2	Contrôle de qualité du plasma.....	52
5.1.5.3	Conservation du plasma.....	53
5.1.6	Extraction de l'ADNc .....	53
5.1.7	Contrôle de qualité de l'extraction.....	54
5.1.8	Conservation de l'extrait d'ADNc .....	54
5.2	Variables analytiques influençant la recherche des mutations sur biopsie liquide ..	56
5.2.1	Les faux négatifs .....	56
5.2.2	Les Faux positifs .....	56
<b>6</b>	<b>Techniques de biologie moléculaire appliquées à la recherche des mutations</b>	
	<b>de l'EGFR sur biopsie liquide.....</b>	<b>57</b>
6.1	PCR en temps réel.....	58
6.2	PCR digitale .....	58
6.2.1	Le Séquençage de nouvelle génération (NGS) .....	59
<b>7</b>	<b>Mutations de l'EGFR recherchées dans le cadre d'un CBNPC .....</b>	<b>60</b>
<b>8</b>	<b>Délai de rendu des résultats .....</b>	<b>60</b>
	<b>Chapitre IV : prise en charge thérapeutique du CBNPC.....</b>	<b>62</b>
<b>1</b>	<b>Armes thérapeutiques utilisées dans le CBNPC.....</b>	<b>61</b>
1.1	La Chirurgie .....	61
1.2	La Radiothérapie.....	61
1.3	Traitements pharmacologiques .....	61
1.3.1	La chimiothérapie .....	61
1.3.2	L'Immunothérapie.....	62
1.3.2.1	Les Anti CTLA 4« cytotoxic T lymphocyte antigen 4 » .....	62

1.3.2.2	Les Anti PD-1 et anti PD-L1.....	63
1.3.2.2.1	Le Nivolumab.....	63
1.3.2.2.2	Le Pembrolizumab.....	63
1.3.2.2.3	L'Atezolizumab .....	63
1.3.3	La Thérapie ciblée.....	64
1.3.3.1	Les antiangiogéniques .....	64
1.3.3.1.1	Le Bévacicumab .....	64
1.3.3.1.2	Le Ramucirumab .....	64
1.3.3.2	Inhibiteurs des signaux de prolifération.....	65
<b>2</b>	<b>Les TKI anti EGFR.....</b>	<b>65</b>
2.1	TKI anti EGFR de 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> génération .....	66
2.2	TKI anti EGFR de 3 <sup>ème</sup> génération.....	68
2.3	La tolérance au TKI.....	69
<b>3</b>	<b>Classification des CBNPC en fonction de la conduite thérapeutique .....</b>	<b>71</b>
3.1	Les CBNPC résécables et opérables .....	71
3.2	CBPNC non résécables ou patients inopérables .....	72
3.3	CBNPC métastatiques.....	72
<b>4</b>	<b>Recommandations actuelles en matière de conduites thérapeutiques chez les patients atteints de CBNPC aux stades avancés avec mutations de l'EGFR. ....</b>	<b>72</b>
4.1	Places des TKI anti EGFR.....	72
4.2	L'association de TKI Anti EGFR avec chimiothérapie et ou AntiVEGF dans le CBNPC.....	75
4.3	Progression sous TKI anti EGFR.....	76
4.4	Identification du statut mutationnel de l'EGFR en cours de traitement.....	78
4.5	Place de l'immunothérapie dans le CBNPC avec mutation de l'EGFR.....	78
<b>C.</b>	<b>partie pratique.....</b>	<b>81</b>
<b>1</b>	<b>Objectifs.....</b>	<b>81</b>
1.1	Objectif principal .....	81
1.2	Objectifs secondaires .....	81
<b>2</b>	<b>Matériel et méthode.....</b>	<b>82</b>
2.1	Type d'étude.....	83
2.2	Population d'étude .....	83
2.2.1	Critères d'inclusion .....	83
2.2.2	Critères de non inclusion .....	83
2.3	Durée de l'étude.....	83
2.4	Lieu de l'étude .....	83

2.5	Recueil des données .....	84
2.6	Variables étudiées .....	84
2.7	Protocole de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide. ....	85
2.7.1	Prélèvement sanguin et extraction de l'ADN .....	85
2.7.2	Amplification et détection des mutations de l'EGFR.....	86
2.7.2.1	Principe général de la qPCR .....	87
2.7.2.2	Principe de la technologie ARMS .....	88
2.7.2.3	Principe de la technologie Clamp PCR .....	89
2.7.3	Mutations détectées par le kit <i>therascreen</i> ® EGFR Plus RGQ PCR.....	90
2.7.4	Interprétation et rendu des résultats.....	92
2.8	Saisie et analyse des données .....	92
2.8.1	Saisie et traitement des données.....	92
2.8.2	Analyse des données .....	92
2.8.3	Evaluation de la performance (225) .....	92
2.8.3.1	La concordance .....	92
2.8.3.2	La Sensibilité et la Spécificité.....	93
Tableau 19: Croisement test référence vs test à évaluer (225).....		93
2.8.3.3	Les Valeurs prédictives .....	93
2.8.3.4	La Concordance Aléatoire .....	93
2.8.3.5	Le Coefficient Kappa .....	94
<b>3</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>95</b>
3.1	Caractéristiques démographiques et cliniques.....	96
3.1.1	Répartition selon le service/établissement de prise en charge des patients .....	96
3.1.2	Répartition selon le sexe.....	96
3.1.3	Répartition des patients selon l'âge.....	97
3.1.4	Répartition des patients selon les tranches d'âge .....	97
3.1.5	Répartition des patients selon l'âge et le genre.....	98
3.1.6	Répartition selon la wilaya de résidence .....	98
3.1.7	Répartition selon la commune de résidence au niveau de la wilaya de Sétif... ..	99
3.1.8	Répartition selon la profession.....	100
3.1.9	Répartition des patients selon le risque d'exposition professionnel.....	100
3.1.10	Répartition selon les antécédents médico-chirurgicaux .....	101
3.1.11	Répartition selon les antécédents médicaux par maladie.....	102
3.1.12	Répartition selon le statut Tabagique (Tabagisme actif) .....	102
3.1.13	Répartition selon le statut Tabagique actif par genre .....	103

3.1.14	Répartition selon le Tabagisme passif .....	103
3.1.15	Répartition selon le Tabagisme passif et le genre .....	104
3.1.16	Répartition selon le sous type histologique .....	104
3.1.17	Répartition selon l'origine du prélèvement du tissu tumoral .....	105
3.1.18	Répartition selon la technique de prélèvements au niveau des localisations tumorales primitives et métastatiques.....	105
3.1.19	Répartition selon les localisations tumorales secondaires sièges des biopsies des métastases .....	106
3.1.20	Répartition des patients selon le stade de la maladie au moment du diagnostic	106
3.1.21	Répartition des patients selon le stade actuel de la maladie .....	106
3.1.22	Répartition des patients selon le nombre de localisations métastatiques.....	107
3.1.23	Répartition selon les organes sièges des localisations métastatiques .....	107
3.1.24	Répartition selon l'indice de statut performance (PS) de l'OMS.....	108
3.2	Profil moléculaire .....	108
3.2.1	Répartition des patients selon l'identification du statut EGFR 18-21 au niveau Tissulaire	108
3.2.2	Répartition selon les motifs de l'absence de statut EGFR(18-21) identifié au niveau tissulaire.....	109
3.2.3	Répartition des résultats des patients selon l'identification du statut EGFR 18-21 au niveau Tissulaire .....	109
3.2.4	Répartition selon le type de mutation EGFR 18-21 identifiée au niveau tissulaire	110
3.2.5	Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR au niveau tissulaire	110
3.2.6	Profil moléculaire au niveau sanguin (biopsie liquide) .....	111
3.2.7	Répartition selon le volume plasmatique utilisé pour la recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide.....	111
3.2.8	Délais entre le prélèvement sanguin et la séparation plasmatique .....	112
3.2.9	Répartition selon l'aspect plasmatique .....	112
3.2.10	Répartition selon le délai entre le prélèvement et l'extraction de l'ADNc ....	113
3.2.11	Répartition selon les durées de conservation des extraits d'ADNc. ....	114
3.2.12	Concentrations d'ADNc obtenues après extraction .....	114
3.2.13	Répartition selon les concentrations plasmatiques d'ADNc.....	115
3.2.14	Concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction du nombre de métastases	115
3.2.15	Concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction des délais de séparation plasmatique .....	116

3.2.16	Concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction de l'aspect plasmatique .	116
3.2.17	Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide en fonction des demandes des prescripteurs.....	117
3.2.18	Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR (18-21) sur biopsie liquide de tous les patients. ....	117
3.2.19	Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR 18-21 sur biopsie liquide chez les patients dont le statut EGFR 18-21 tissulaire n'est pas identifié	118
3.2.20	Répartition selon le type de mutation EGFR 18-21 identifiée sur biopsie liquide	118
3.2.21	Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	119
3.2.22	Comparaison des délais de rendu de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide Vs biopsie tissulaire .....	119
3.2.23	Evaluation de la performance de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide dans notre étude .....	120
3.2.24	Répartition selon le statut mutationnel définitif de l'EGFR .....	121
3.2.25	Fréquence réelle du statut EGFR (18-21).....	122
3.2.26	Répartition selon le type de mutation du statut définitif EGFR.....	122
3.2.27	Statut EGFR en fonction de sexe .....	123
3.2.28	Statut EGFR en fonction de l'âge et tranches d'âge.....	123
3.2.29	Statut EGFR en fonction des antécédents médicaux .....	123
3.2.30	Statut EGFR en fonction du type histologique .....	123
3.2.31	Statut EGFR et stade de la maladie .....	124
3.2.32	Statut EGFR et statut tabagique (tabagisme actif) .....	124
3.2.33	Statut EGFR et tabagisme passif.....	124
3.3	Conduites thérapeutiques .....	125
3.3.1	Délais de prise en charge et 1 <sup>er</sup> traitement spécifique reçu. ....	125
3.3.2	Répartition des patients en fonction du traitement de la tumeur primitive par radiothérapie .....	125
3.3.3	Répartition des patients en fonction de la radiothérapie des localisations métastatiques. ....	126
3.3.4	Patients sous radiothérapie au moment du prélèvement pour biopsie liquide	127
3.3.5	Concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous radiothérapie au moment du prélèvement.....	127
3.3.6	Répartition des patients selon le traitement chirurgical carcinologique. ....	128
3.3.7	Répartition selon le traitement pharmacologique spécifique du CBNPC.....	128
3.3.8	Répartition selon le nombre de lignes thérapeutique déjà reçues au moment du prélèvement pour biopsie liquide .....	129

3.3.9	Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 1 <sup>ère</sup> ligne.	129
3.3.10	Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 1 <sup>ère</sup> ligne de traitement.....	130
3.3.11	Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 2 <sup>ème</sup> ligne.	130
3.3.12	Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement avec au bout de la 2 <sup>ème</sup> ligne de traitement.....	131
3.3.13	Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 3 <sup>ème</sup> ligne reçu.....	131
3.3.14	Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 3 <sup>ème</sup> ligne de traitement.....	131
3.3.15	Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 4 <sup>ème</sup> ligne	132
3.3.16	Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 4 <sup>ème</sup> ligne de traitement.....	132
3.3.17	Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 5 <sup>ème</sup> ligne	133
3.3.18	Répartition selon les patients sous traitement pharmacologique spécifique au moment du prélèvement pour biopsie liquide .....	133
3.3.19	Concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous traitement pharmacologique au moment du prélèvement.....	133
3.3.20	Impact des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide sur les conduites thérapeutiques. ....	134
3.3.21	Motifs expliquant l'absence d'impact de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide. ....	135
3.3.22	Conduites thérapeutiques appliquées après l'obtention des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide. ....	136
3.3.23	Répartition selon les molécules TKI AntiEGFR utilisées. ....	137
3.3.24	Coût de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.....	137
<b>4</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>138</b>
4.1	Nombre de patients inclus dans l'étude.....	139
4.2	Caractéristiques sociodémographiques et cliniques.....	139
4.2.1	Le Sexe .....	139
4.2.2	L'âge .....	140
4.2.3	Lieu de résidence .....	141
4.2.4	Profession et risque professionnel.....	141
4.2.5	Antécédents médicaux.....	142
4.2.6	Tabagisme et exposition au tabac .....	143

4.2.7	Sous-type histologique .....	143
4.2.8	Localisations et techniques de prélèvement tissulaire .....	144
4.2.9	Stade de la maladie et localisations métastatiques .....	144
4.2.10	Statut performance .....	145
4.3	Profil moléculaire .....	146
4.3.1	Au niveau tissulaire.....	146
4.3.2	Sur Biopsie liquide.....	148
4.3.3	Délai de rendu des résultats .....	152
4.3.4	Évaluation de la performance de la recherche des mutations de l'EGFR dans notre étude.....	153
4.3.5	Statut mutationnel définitif de l'EGFR .....	153
4.4	Conduites thérapeutiques .....	155
4.4.1	Délais de prise en charge.....	155
4.4.2	Utilisation des thérapies ciblées et lignes d'initiation du traitement .....	156
4.4.3	Impact des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide	157
4.5	Coût de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.....	159
<b>5</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>160</b>
<b>6</b>	<b>Limites de l'étude .....</b>	<b>163</b>
<b>7</b>	<b>Perspectives .....</b>	<b>163</b>
<b>D. Bibliographie</b>		
<b>E. Annexes</b>		

## Liste des figures

Figure 1 : Incidence des cancers dans le monde en 2022 pour les deux sexes (2) .....	3
Figure 2 : Incidence des cancers dans le monde en 2022 chez les hommes (2) .....	4
Figure 3: Evolution de l'incidence du CBP chez l'homme en Europe (16) .....	4
Figure 4: Incidence des cancers dans le monde en 2022 chez les femmes (2) .....	5
Figure 5: Evolution de l'incidence du CBP chez la femme en Europe (16).....	5
Figure 6: Mortalité par cancer dans le monde en 2022 (2).....	6
Figure 7: Mortalité par cancer dans le monde en 2022 chez l'homme (2).....	6
Figure 8: Mortalité par cancer dans le monde en 2022 chez la femme (2) .....	7
Figure 9: Incidence des cancers en Algérie en 2022 (2) .....	8
Figure 10: Incidence des cancers en Algérie en 2022 chez l'Homme (2).....	8
Figure 11: comparaison des incidences du cancer du poumon de quelques registres du réseau Sud-est, Algérie2017 (12).....	9
Figure 12: Estimation de la mortalité par cancer en Algérie en 2022 (2) .....	10
Figure 13: Estimation de la mortalité par cancer chez les hommes en Algérie en 2022 (2) .....	10
Figure 14: Histo-pathogénèse des CBP (47).....	16
Figure 15: Carcinome à petites cellules. (hématoéine-éosine × 100) (52).....	17
Figure 16: Arbre décisionnel pour le diagnostic des carcinomes non à petites cellules sur biopsies ou Cytobloc (56) .....	17
Figure 17: Coupes histologiques de différentes formes d'adénocarcinome: A : acinaire, B : papillaire, C : lépidique et D : solide (61).....	18
Figure 18: Carcinome épidermoïde bien différencié (64) .....	19
Figure 19: Carcinome à grandes cellules (66) .....	19
Figure 20:Anomalies moléculaires en fonction du sous type histologique (Adenocarcinoma=Adénocarcinome, squamous cell= épidermoïde) (82).....	25

Figure 21: Biomarqueurs en fonction du statut tabagique dans l'étude «Biomarqueur » en France (86) .....	26
Figure 22: Incidence des principales altérations responsable d'addiction oncogénique (85) .....	27
Figure 23: Structure schématique de l'EGFR (90) .....	28
Figure 24: Voies de signalisation de l'EGFR (95).....	29
Figure 25: Altérations moléculaires de l'EGFR des exons 18,19,20 et 21 (110) .....	32
Figure 26: Translocation ALK- EML4 (11) .....	34
Figure 27 : Algorithme diagnostique pour les tests des biomarqueurs chez les patients atteints de CBNPC avancé (104) .....	40
Figure 28: sources de matériel génétique de la biopsie liquide (89).....	43
Figure 29: Origine de l'ADN tumoral circulant (162) .....	45
Figure 30: Evolution des concentrations d'ADNct en fonction du stade de la maladie cancéreuse (155).....	47
Figure 31: Illustration de l'hétérogénéité tumorale (174). .....	49
Figure 32: Les différentes étapes pour l'obtention de l'ADNc (163) .....	55
Figure 33: Mécanisme d'action des Check point inhibitors (194).....	62
Figure 34 : Chronologie de l'approbation des thérapies ciblant des addictions oncogéniques par la FDA (109) .....	65
Figure 35: Profil de tolérance du Gécitinib versus chimiothérapie (214).....	70
Figure 36: Evaluation de la qualité de vie des patients sous Gécitinib Versus ceux sous chimiothérapie (214) .....	71
Figure 37: Recommandations du NCCN en 2013 (218) .....	73
Figure 38: Recommandations du NCCN en 2020 (219) .....	73
Figure 39: Recommandations thérapeutique des mutations fréquentes de l'EGFR (Del 19 et L858R) (57).....	74
Figure 40: Recommandations thérapeutiques de la prise en charge des mutations rares de l'EGFR (S768I, L861Q et G719X) (57).....	74

Figure 41: Recommandations thérapeutique de prise en charge des insertions de l'exon 20 de l'EGFR (57).....	74
Figure 42: : les étapes d'extraction de l'ADNc selon le KIT QIAamp® MinElute® ccfDNA Qiagen* (222) .....	86
Figure 43: Déroulement des étapes de recherche des mutations de l'EGFR avec le KIT Therascreen® EGFR Plus RGQ PCR (223).....	87
Figure 44: Principe de la qPCR selon le KIT therascreen® EGFR Plus RGQ PCR (223) .....	88
Figure 45: Identification des mutations spécifiques par ARMS PCR. WT : type sauvage. Q—F : sonde doublement marquée. D : amorces sens et antisens. (223)....	89
Figure 46: Détection de mutation par la technologie clamp. WT : type sauvage. Q—F : sonde doublement marquée. D : amorces sens et antisens. (223).....	90
Figure 47: Répartition selon le service/établissement de prise en charge des patients	96
Figure 48: Répartition selon le sexe .....	97
Figure 49: Répartition des patients selon les tranches d'âge .....	97
Figure 50: Répartition selon la wilaya de résidence .....	99
Figure 51: Répartition selon la commune de résidence au niveau de la wilaya de Sétif .....	99
Figure 52: Répartition selon la profession.....	100
Figure 53: Répartition des patients selon le risque d'exposition professionnel .....	100
Figure 54: répartition selon les professions à risque de CBP .....	101
Figure 55: Répartition selon les antécédents médicaux .....	101
Figure 56: Répartition selon les antécédents chirurgicaux .....	101
Figure 57: Répartition selon les antécédents médicaux par maladie .....	102
Figure 58: Répartition selon le statut Tabagique (Tabagisme actif) .....	102
Figure 59: Répartition selon le statut Tabagique actif chez les hommes .....	103
Figure 60: Répartition selon le Tabagisme passif .....	103

Figure 61: Répartition selon le statut Tabagique passif chez les hommes .....	104
Figure 62: Répartition selon le statut Tabagique passif chez les femmes .....	104
Figure 63: Répartition selon l'origine du prélèvement du tissu tumoral.....	105
Figure 64: Répartition selon la technique de prélèvements au niveau des localisations tumorales primitives et métastatiques .....	105
Figure 65: Répartition selon les localisations tumorales secondaires sièges des biopsies des métastases .....	106
Figure 66: Répartition selon les organes sièges des localisations métastatiques.....	108
Figure 67: Répartition selon l'indice de statut performance de l'OMS .....	108
Figure 68: Répartition selon les motifs de l'absence de statut EGFR identifié au niveau tissulaire.....	109
Figure 69: Répartition des résultats des patients selon l'identification du statut EGFR 18-21 au niveau Tissulaire.....	110
Figure 70: Répartition selon le type de mutation EGFR (18-21) identifiée au niveau tissulaire.....	110
Figure 71: Répartition des patients en fonction de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	111
Figure 72: Répartition selon le volume plasmatique utilisé pour la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	112
Figure 73: Répartition selon l'aspect plasmatique .....	113
Figure 74: Répartition selon le délai entre le prélèvement et l'extraction de l'ADNc .....	113
Figure 75: Répartition selon les durées de conservation des extraits d'ADNc .....	114
Figure 76: Répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc par tranches .....	115
Figure 77: Répartition selon le type de mutation EGFR 18-21 identifiée sur biopsie liquide .....	118
Figure 78: Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	119
Figure 79: Répartition selon le type de mutation du statut définitif de l'EGFR.....	122

Figure 80: Répartition selon le 1er traitement spécifique reçu par le patient .....	125
Figure 81: Répartition des patients en fonction du traitement par radiothérapie tumorale .....	126
Figure 82: Répartition des patients en fonction de la radiothérapie des localisations métastatiques .....	127
Figure 83: Patients sous radiothérapie au moment du prélèvement pour biopsie liquide .....	127
Figure 84: Répartition selon le nombre de lignes thérapeutiques reçues .....	129
Figure 85: Patients sous traitement au moment du prélèvement pour biopsie liquide .....	133
Figure 86: Conduites thérapeutiques impactées par les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	134
Figure 87: Motifs expliquant l'absence d'impact de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide sur les conduites thérapeutiques .....	135
Figure 88: Motifs expliquant l'absence d'impact de recherche de mutation de l'EGFR sur biopsie liquide pour les cas où l'évaluation ne s'applique pas .....	135
Figure 89: Répartitions selon les molécules TKI AntiEGFR utilisées .....	137

## Liste des tableaux

Tableau 1: Données d'incidences du cancer du Poumon en fonction du sexe, Réseau Est et Sud-est Algérie 2014-2017 (12).....	9
Tableau 2: Définition des différents types de statut tabagique (24).....	12
Tableau 3: Classification anatomopathologique de l'OMS 2021 du cancer du CBP (56).....	20
Tableau 4: Classification TNM du CBP (56) .....	21
Tableau 5: Classification par stade du CBP (56).....	22
Tableau 6: Différents réarrangements du gène ALK (120).....	34
Tableau 7: Réarrangements des gènes ROS1, NTRK1/2 et RET dans le CBNPC (120) .....	35
Tableau 8: Avantage et inconvénients des différentes techniques de biologie moléculaire appliquées à la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide (158). .....	57
Tableau 9: Sensibilité des Méthodes utilisées en recherche clinique pour la détection d'altérations moléculaires. *La sensibilité de la qPCR en temps réel est dépendante du type de test utilisé (119).....	59
Tableau 10: Différentes générations des TKI anti-EGFR dans le CBNPC (118).....	66
Tableau 11: Etudes évaluant les TKI antiEGFR de 1ère et 2ème génération versus chimiothérapie (101) .....	67
Tableau 12: Etudes évaluant les TKI antiEGFR de 1ère et de 2ème génération entre eux (9).....	67
Tableau 13: Résumé des études AURA3 et FLAURA évaluant l'efficacité de l'Osimertinib (56).....	69
Tableau 14: Profil de tolérance des TKI de 1ère et 2ème génération (215).....	70
Tableau 15: Etudes comparant l'association Gécitinib carboplatine-pemetrexed versus Gécitinib seul (9) .....	75
Tableau 16: Etudes comparant l'association Erlotinib+Bevacizumab ou Ramcirumab versus Erlotinib seul (9).....	76
Tableau 17: Mécanismes de résistance à l'Osimertinib (56).....	77

Tableau 18: Liste des mutations et des identifiants COSMIC (223).....	91
Tableau 19: Croisement test référence vs test à évaluer (225) .....	93
Tableau 20: Degré d'accord et valeur de Kappa (225) .....	94
Tableau 21: Répartition des patients selon l'âge .....	97
Tableau 22: Répartition des patients selon la moyenne d'âge et le genre.....	98
Tableau 23: Répartition des patients selon les tranches d'âge et le genre.....	98
Tableau 24: Répartition selon Sous type histologique .....	104
Tableau 25: Répartition des patients selon le stade de la maladie au diagnostic.....	106
Tableau 26: Répartition des patients selon le stade de la maladie Actuel.....	107
Tableau 27: Répartition des patients par le nombre des localisations métastatiques.	107
Tableau 28: Répartition des patients selon l'identification du statut EGFR (18-21) au niveau Tissulaire .....	109
Tableau 29: Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR (18- 21) au niveau tissulaire.....	111
Tableau 30: Délais entre le prélèvement sanguin et la séparation plasmatique.....	112
Tableau 31: durées de conservation des extraits d'ADNc .....	114
Tableau 32: Concentrations d'ADNc obtenues après extraction.....	114
Tableau 33: Concentrations plasmatiques d'ADNc .....	115
Tableau 34: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction du nombre de métastases .....	116
Tableau 35: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction du temps de séparation plasmatique.....	116
Tableau 36: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction de l'aspect plasmatique .....	117
Tableau 37: Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide en fonction des demandes des prescripteurs .....	117
Tableau 38: Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR (18-21) sur biopsie liquide chez tous les patients.....	118

Tableau 39: Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR 18-21 par biopsie liquide chez la patient dont le statut EGFR 18-21 tissulaire n'est pas identifié .....	118
Tableau 40: Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	119
Tableau 41: Test de classement de Wilcoxon.....	120
Tableau 42: Résultats valides de recherche des mutations de l'EGFR sur tissu .....	120
Tableau 43: Résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide des malades dont les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur tissu sont valides .....	120
Tableau 44: croisement des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide et biopsie tissulaire .....	121
Tableau 45: Statut mutationnel définitif de l'EGFR de l'ensemble des patients.....	122
Tableau 46:Fréquence réelle du statut de l'EGFR (18-21).....	122
Tableau 47: répartition du statut EGFR en fonction du sexe.....	123
Tableau 48: répartition du Statut EGFR en fonction des antécédents médicaux.....	123
Tableau 49: Répartition du statut EGFR en fonction du sous type histologique .....	124
Tableau 50: Croisement du statut EGFR et stade de la maladie .....	124
Tableau 51:répartition du statut EGFR en fonction du statut tabagique .....	124
Tableau 52: répartition du statut EGFR en fonction du tabagisme passif .....	125
Tableau 53: Délais de prise en charge thérapeutique des patients .....	125
Tableau 54:Répartition en fonction du stade au diagnostic des patients ayant reçu une radiothérapie tumorale.....	126
Tableau 55: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous radiothérapie au moment du prélèvement.....	128
Tableau 56: Répartition des patients selon le traitement chirurgical carcinologique	128
Tableau 57: Répartition selon le traitement pharmacologique spécifique du CBNPC .....	128

Tableau 58: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 1ère ligne .....	129
Tableau 59: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 1ère ligne de traitement .....	130
Tableau 60: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 2ème ligne reçue .....	130
Tableau 61: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 2ème ligne de traitement .....	131
Tableau 62: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 3ème ligne.....	131
Tableau 63: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 3ème ligne de traitement .....	132
Tableau 64: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 4ème ligne.....	132
Tableau 65: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 4ème ligne de traitement .....	132
Tableau 66: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 5ème ligne.....	133
Tableau 67: Répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous traitement pharmacologique spécifique au moment du prélèvement .....	134
Tableau 68: Conduites thérapeutiques impactées par les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide .....	134
Tableau 69: Conduites thérapeutiques appliquées après obtention des résultats de recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide .....	136
Tableau 70: répartition des patients avec EGFR 18-21muté et mis sous TKI après les résultats de recherche sur biopsie liquide en fonction des lignes thérapeutiques .....	136
Tableau 71: Coût de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide DA/test.....	137
Tableau 72: recommandation du kit d'extraction en fonction du volume plasmatique (254) .....	149

## Liste des abréviations

ADH : Antidiurétique hormone

ADK : Adénocarcinome

ADNc : ADN circulant

ADNct : cell tumor DNA=ADN tumorale circulant

ALK : Anaplastic lymphoma kinase

AMM : Autorisation de mise sur le marché

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive

BRAF : Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B

CBP : Cancers broncho-pulmonaires

CBNPC : Cancer bronchique non à petites cellules

CBPC : Cancer bronchique à petites cellules

ccfDNA : Circulating cell free DNA = ADN libre circulant

cfDNA : cell free DNA = ADN libre

CHIP : clonal haematopoiesis of indeterminate potential =clones hématopoïtiques au potentiel indéterminé

COSMIC : Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer

CPNPC : cancer bronchique non à petites cellules

Ct : threshold cycle= cycle limite (seuil)

ddPCR : digital droplet PCR

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

EGF : Epidermal growth factor

EGFR : Epidermal growth factor receptor : récepteur du facteur de croissance de l'épiderme

EMA : european medecine agency

EML4 :echinoderme microtubule-associated protein like 4

ERBB : erythroblastic leukemia viral oncogene.

FDA : Food and Drug Administration

FFPE= formalin-fixed, paraffin embedded

FISH : hybridation in situ avec fluorescence

HER : Human epidermal receptor

HGF :Hepatocyte Growth Factor

HIC : hypertension intracrânienne

IHC : immuno-histochimie  
IRM : Imagerie par résonance magnétique.  
IVD : in vitro diagnostic  
KRAS : Kirsten Rat Sarcoma virus.  
MAF : fraction d'allèles mutants  
*Met* : mesenchymal-epithelial transition  
MRD : maladie résiduelle mesurable  
NGS : séquençage nouvelle génération  
NOS : Not Otherwise Specified  
NTC : No template control= contrôle négatif  
NTRK : neurotrophic tyrosine (Tropomyosin) receptor kinase  
OMS Organisation Mondiale de la Santé  
PAHs : Polycyclic aromatic hydrocarbons  
PC : positif control= contrôle positif  
*PD-L1 programmed death ligand-1*  
qPCR : PCR quantitative  
*RET* : rearranged during transfection  
RO : réponses objectives  
SG : survie globale  
SSP : survie sans progression  
TDM : Tomodensitométrie thoracique  
TEP-TDM Tomographie par émission de positon couplée à une TDM  
TGF $\alpha$  : transforming growth factor  
TKI : Tyrosine kinase inhibitors= inhibiteurs de la tyrosine kinase  
tr/min : tours par minute  
TTF-1 : Thyroid transcription factor-1  
VAF : variant d'allèles mutants  
VEGF : Vascular endothelial growth factor

## A. Introduction

Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) représentent un problème majeur de santé publique en raison de leur fréquence et de leur mauvais pronostic (1) .

C'est le 1<sup>er</sup> cancer en termes d'incidence et de mortalité chez l'homme, dans le monde et en Algérie (2) et la malignité est plus communément diagnostiquée à un stade tardif résultant d'un taux de survie médiocre (3).

Ainsi, La survie à cinq ans du CBP est inférieure à 20 % dans la plupart des pays, même si elle reste plus élevée dans les pays développés (4) .

Le cancer bronchique non à petites cellules (CPNPC) étant le type histologique le plus fréquent, représente 85% de tous les cancers bronchiques, l'Adénocarcinome (ADK) et le carcinome épidermoïde constituent environ 80% de ce type histologique (3)

La présentation du CBNPC en matière d'âge, de sexe, et de type histologique s'est récemment évoluée, essentiellement en raison du changement des pratiques tabagiques et l'exposition aux cancérogènes en milieu professionnel (5) (6).

La découverte d'anomalies moléculaires dans le CBNPC jouant un rôle d'addiction oncogénique a modifié considérablement la prise en charge de ces tumeurs. (7)

Parmi ces anomalies figurent les mutations de l'EGFR (*epidermal growth factor receptor*) qui constituent la cible oncogénique la plus étudiée et la mieux documentée pour la prise en charge du CBNPC métastatique grâce à l'utilisation des inhibiteurs de la tyrosine kinase (TKI) (8) (9), qui constituent le traitement de référence de première ligne des CBNPC localement avancé ou métastatiques avec mutation de l'EGFR (7) .

Pendant longtemps la recherche de ces mutations était basée sur la recherche au niveau tissulaire ,qui même si elle reste la méthode de référence , elle présentent plusieurs limites notamment liées à la difficulté de la réalisation de la biopsie tissulaire , l'hétérogénéité tumorale et la possibilité d'avoir un matériel génétique de mauvaise qualité et inexploitable (10), d'où le développement de méthodes alternatives basées sur la recherche des mutations au niveau de l'ADN circulant retrouvé en milieu sanguin appelé aussi « biopsie liquide » (11).

C'est dans cette optique qu'on a réalisé ce travail dont l'objectif principal est de rechercher les différentes mutations de l'EGFR sur prélèvement sanguin (Biopsie liquide), chez les patients atteints de CBNPC à des stades avancés qu'ils soient naïfs de TKI ou bien après progression sous TKI de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération afin d'orienter le clinicien dans le choix du traitement sur la base des résultats retrouvés.

## **B. Revue bibliographique**

# Chapitre I : Cancer broncho-pulmonaire

Le cancer figure parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde. Il représente à lui seul le plus important obstacle à l'augmentation de l'espérance de vie dans tous les pays du monde au 21ème siècle. En Algérie, on assiste à une véritable transition épidémiologique marquée par l'amorce de la transition démographique, l'augmentation de l'espérance de vie, la transformation de l'environnement et les changements de mode de vie (12) .

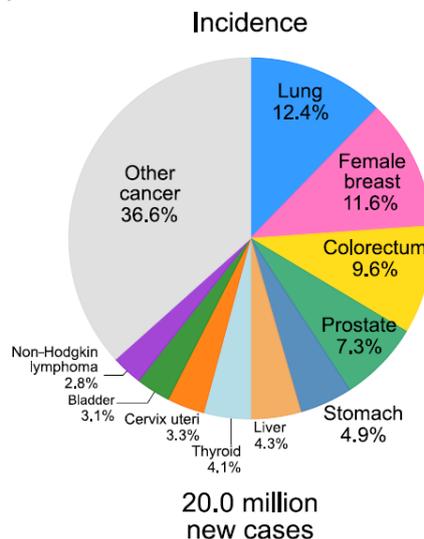
## 1 Epidémiologie des CBP

### 1.1 Dans le monde

#### 1.1.1 Incidence

Le CBP est l'un des types de cancer le plus répandu à travers le monde depuis 1985 (13). Son incidence ne cesse d'augmenter. En 2022, il était le premier cancer dans le monde en termes d'incidence avec pratiquement 2.5 million de nouveaux cas diagnostiqués soit 12.4% de l'ensemble des nouveaux cas de cancer diagnostiqués dans le monde tous sexes confondus. Les taux d'incidence les plus élevés sont observés en Amérique du Nord, en Asie de l'Est et en Europe du Nord (2) (4).

Les taux d'incidence restent généralement faibles en Afrique, bien qu'ils varient d'intermédiaires à élevés dans les régions du sud et du nord (14) .



**Figure 1 : Incidence des cancers dans le monde en 2022 pour les deux sexes (2)**

L'incidence des adénocarcinomes a considérablement augmenté et plus de 40 % des CBNPC sont des adénocarcinomes. Une des explications est la consommation de cigarettes dites légères, dont la fumée est inhalée plus profondément et est plus concentrée en nitrosamines (15) .

### 1.1.1.1 Incidence Chez l'homme

Le CBP est le premier cancer chez l'homme, avec 1 572 045 nouveaux cas enregistrés en 2022 soit 15.2% de l'ensemble des nouveaux cas de cancer diagnostiqués dans le monde (2) (4).

L'évolution du taux d'incidence entre 1990 et 2018 est de -0,3% par an en moyenne chez l'homme (13).

Les taux d'incidence les plus élevés chez les hommes sont observés dans la région de l'Asie de l'Est, suivie de la Micronésie/Polynésie et de l'Europe de l'Est, avec un taux d'incidence le plus élevé chez les hommes en Turquie (2) (4).

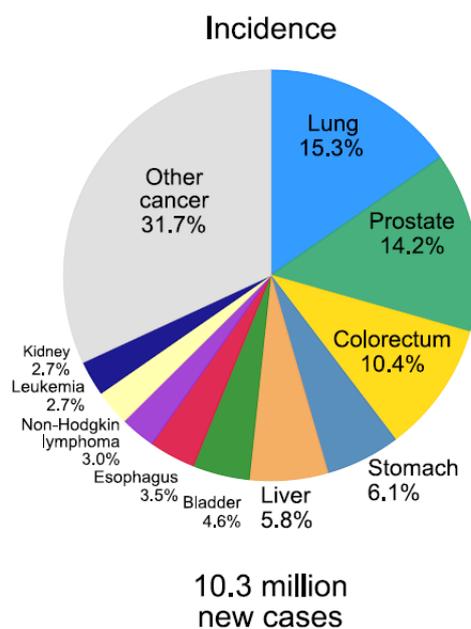


Figure 2 : Incidence des cancers dans le monde en 2022 chez les hommes (2)

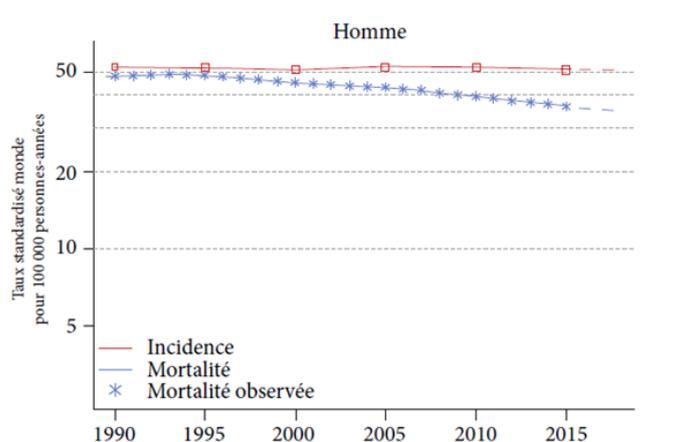


Figure 3: Evolution de l'incidence du CBP chez l'homme en Europe (16)

### 1.1.1.2 Incidence Chez la femme

Chez la femme le CBP se classe au deuxième rang en termes d'incidence après le cancer du sein avec 908 630 en 2022 soit 9.4% de l'ensemble des nouveaux cas de cancer diagnostiqués dans le monde (2) (4).

Une incidence élevée est enregistrés en Asie de l'est notamment en chine expliquée essentiellement par la forte pollution de l'air compte tenu de leur faible prévalence du tabagisme (17).

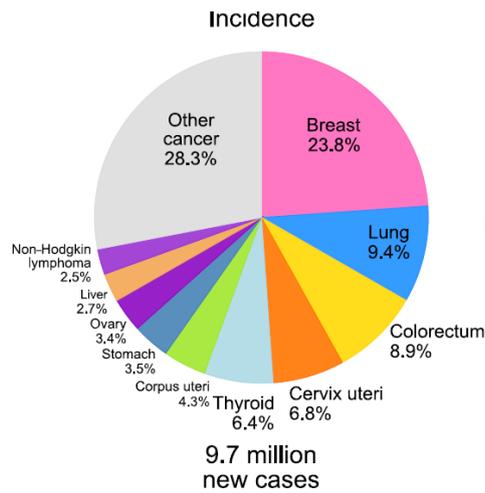


Figure 4: Incidence des cancers dans le monde en 2022 chez les femmes (2)

Même si l'incidence du CBP est plus élevée chez l'homme que chez la femme, l'écart se resserre au détriment de ces dernières. Ce ci pose question car, alors que l'incidence du cancer du poumon est globalement stable, voire en diminution, chez l'homme, ce n'est pas le cas chez la femme. Ainsi, l'évolution du taux d'incidence entre 1990 et 2018 est de +5,3% par an en moyenne chez la femme (13).

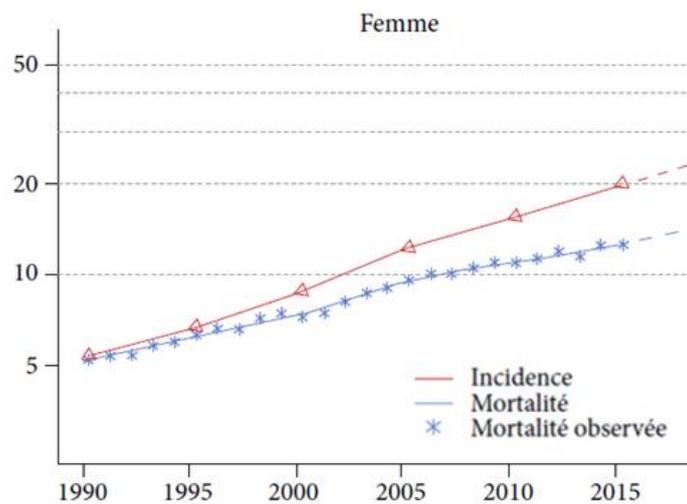
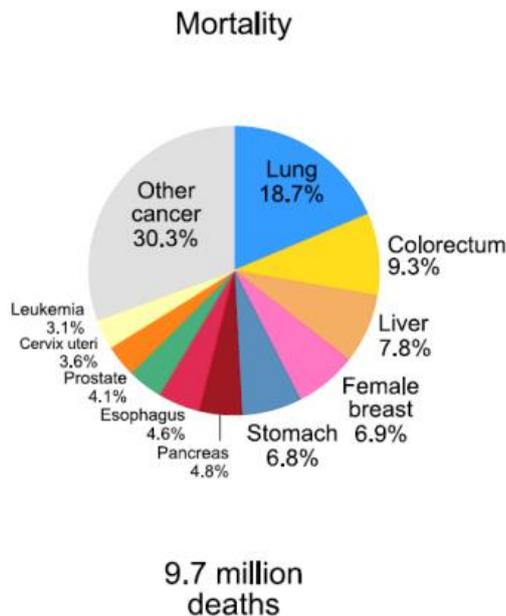


Figure 5: Evolution de l'incidence du CBP chez la femme en Europe (16)

### 1.1.2 Mortalité

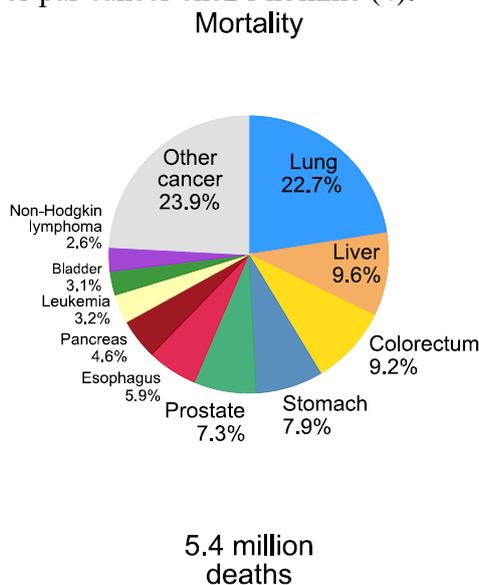
Le CBP se classe au 1er rang mondial en termes de mortalité avec 1,817,172 décès en 2022 soit 18,7 % des décès par cancer bien avant le cancer colorectal avec 903,859 décès soit 9,3%, le cancer hépatique 757,948 soit 7,8% et le cancer du sein 665,684 décès soit 6,9% (2) (4) .

Il est classé 1<sup>er</sup> cancer dans 89 pays notamment en Europe, Russie, Amérique du nord, en chine, Maroc, Tunisie et Libye (2).



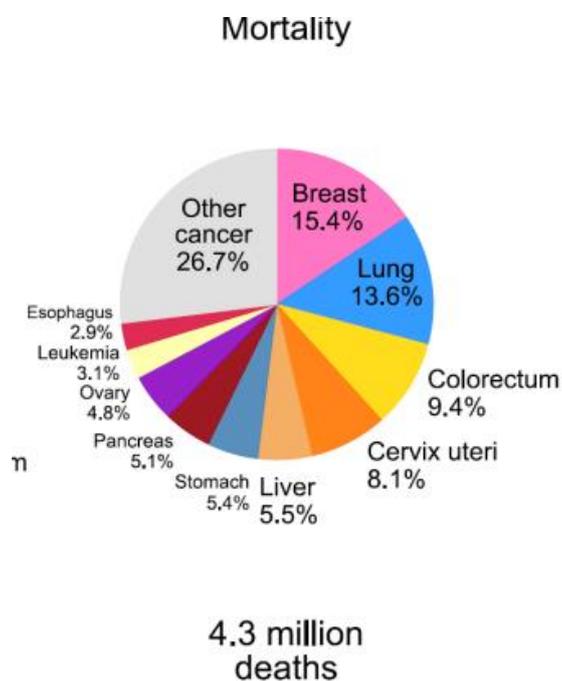
**Figure 6: Mortalité par cancer dans le monde en 2022 (2)**

Chez l'homme, il est la 1<sup>ère</sup> cause de mortalité dans le monde en 2022 avec 1 233 241 décès soit 22,7% des décès par cancer chez l'homme (4).



**Figure 7: Mortalité par cancer dans le monde en 2022 chez l'homme (2)**

Chez la femme, il est la 2<sup>ème</sup> cause de mortalité dans le monde en 2022 avec 584228 décès soit 13,6% des décès par cancer, et ce ci juste après le cancer du sein (666103 décès soit 15,4%) (2).



**Figure 8: Mortalité par cancer dans le monde en 2022 chez la femme (2)**

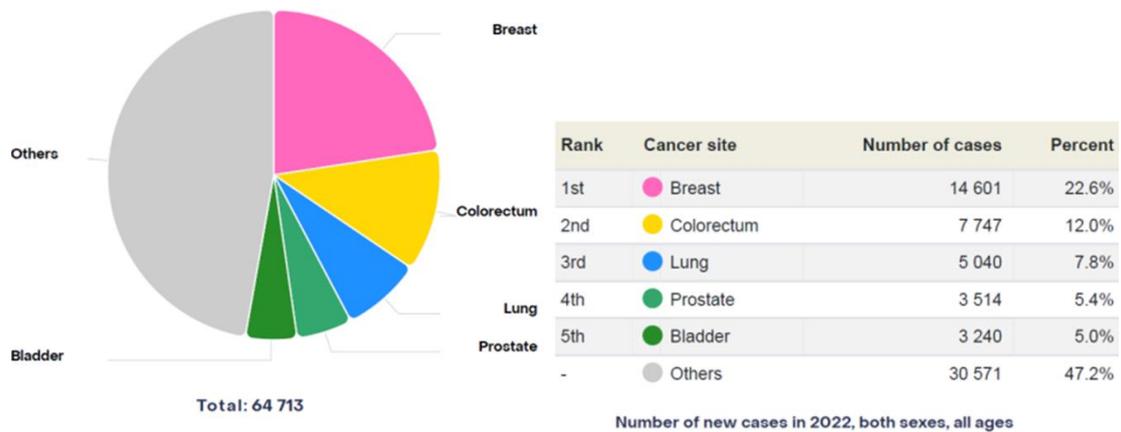
Toute fois, dans certains pays (23 pays) il est la 1<sup>ère</sup> cause de mortalité par cancer chez la femme avant même le cancer du sein, notamment en Amérique du nord (USA et Canada), les pays scandinaves, en grande Bretagne et en chine (4).

## 1.2 Incidence En Algérie

En termes d'incidence, et selon Globocan 2022, le CBP occupe le 3<sup>ème</sup> rang en Algérie avec 5040 nouveau cas soit 7,8% de l'ensemble des nouveaux cas de cancers diagnostiqués en Algérie tous sexes confondus et ce ci après le cancer du sein 14 601 nouveau cas soit 22.6% et le cancer colorectal 7 747 de nouveaux cas soit 12.0% . (2).

Ce taux est en baisse puisqu'il était de 10,1% en 2018 (18) , et de 11,5% en 2020 (19).

### Both sexes

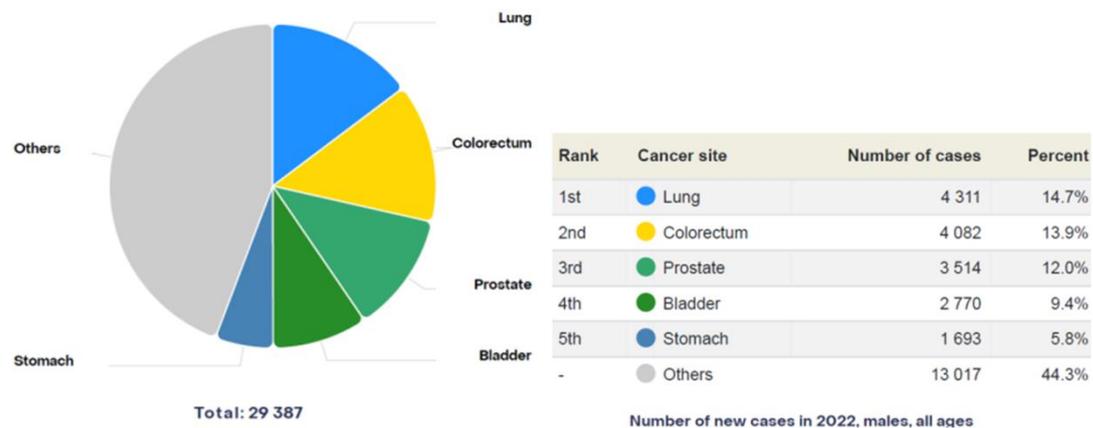


**Figure 9: Incidence des cancers en Algérie en 2022 (2)**

#### 1.2.1 Chez l'homme

Le CBP se classe au 1<sup>er</sup> rang avec 4311 nouveau cas en 2022 soit 14,7% (2), ce taux d'incidence était plus élevé en 2018 (17,4%) (18), et en 2020 (20,2%) (19).

### Males



**Figure 10: Incidence des cancers en Algérie en 2022 chez l'Homme (2)**

#### 1.2.2 Chez la femme

Il reste moins fréquent, en effet il n'arrive qu'à la 11<sup>ème</sup> place avec 729 nouveau cas en 2022 soit 2,07% (2), cette incidence était de 2,9% en 2020 (19).

#### 1.2.3 Au niveau régional / local de la wilaya de Sétif

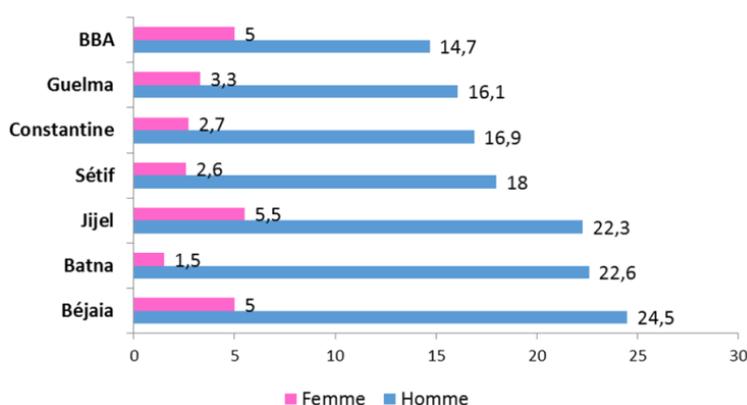
Selon les données du Réseau Est et Sud-est, 2014-2017 dont fait partie la wilaya de Sétif, l'incidence du cancer du poumon est marquée par une augmentation constante chez les deux sexes.

Chez l'homme entre 2014 et 2017 le taux d'incidence brut et d'incidence standardisée a presque doublé avec un pic vers l'âge de 70 ans.

En 2017 le cancer du poumon était 1<sup>er</sup> chez l'homme avec 1357 cas soit 16,6% des cancers masculin. En 2017 à Sétif le taux d'incidence était de 18% chez l'homme et de 2,6% chez la femme (12).

**Tableau 1: Données d'incidences du cancer du Poumon en fonction du sexe, Réseau Est et Sud-est Algérie 2014-2017 (12)**

	2014		2015		2016		2017	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Taux brut /100000 h	8,6	1,4	13	2,7	14,4	3,5	17,1	3,8
Taux standardisé /100000 h	12,4	1,7	16,7	3,1	18,9	4,6	22,0	4,5
% / autres cancers	14,6	1,7	14	2,2	13	3,0	16,6	2,8

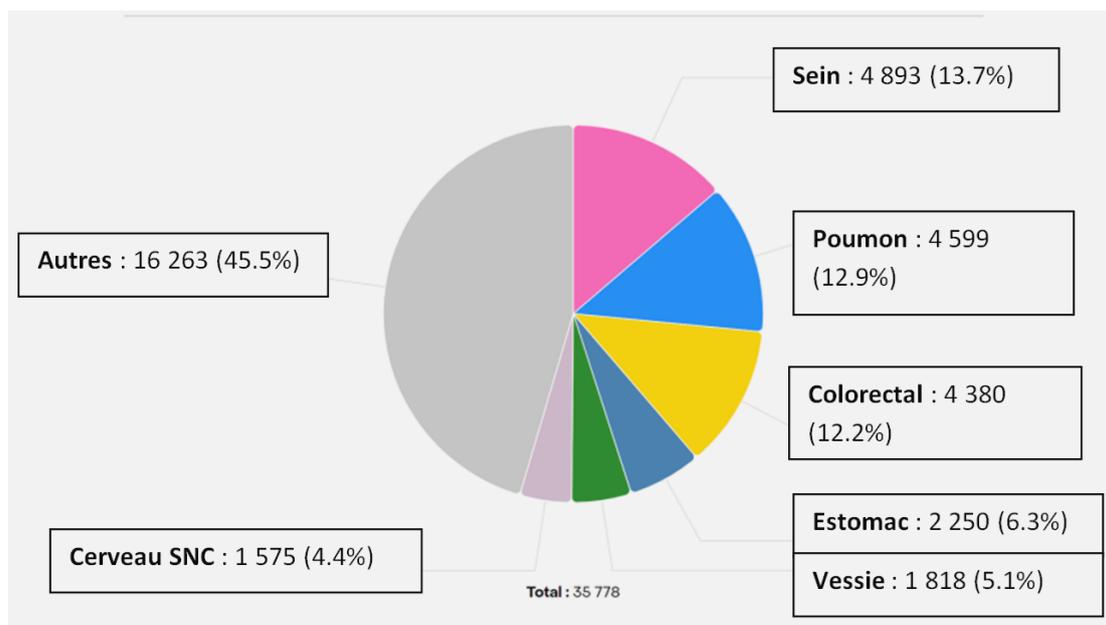


**Figure 11: comparaison des incidences du cancer du poumon de quelques registres du réseau Sud-est, Algérie 2017 (12)**

### 1.3 La Mortalité en Algérie

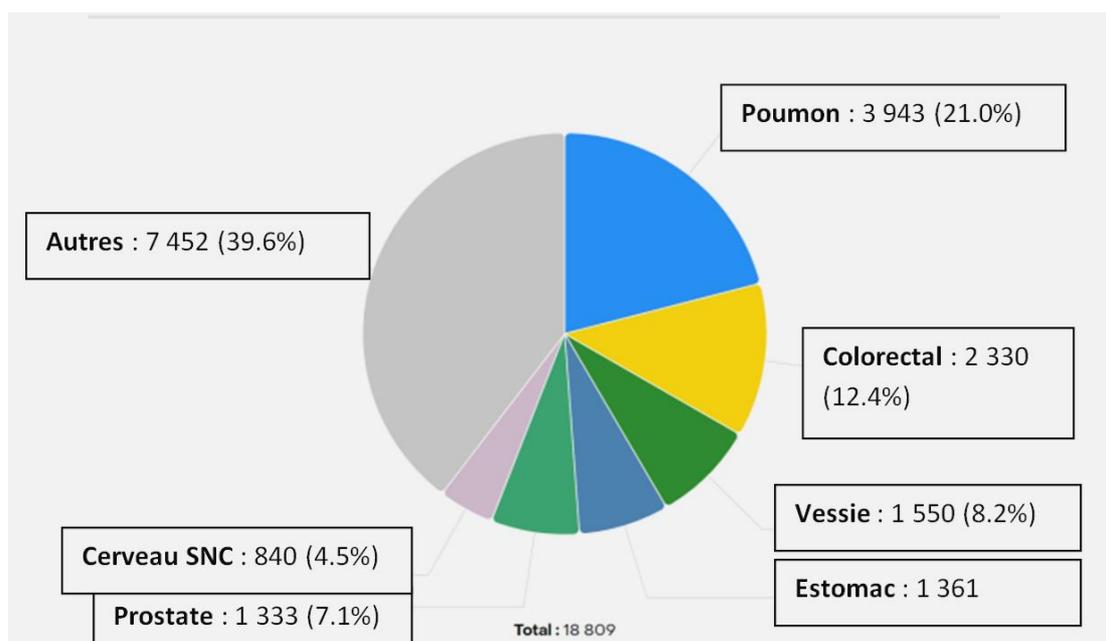
En absence de données fiables, Globocan 2022 se base sur des estimations nationales de mortalité par modélisation, en utilisant les ratios mortalité/incidence dérivés de l'estimation de la survie.

Le cancer du poumon se classe 2<sup>ème</sup> en terme de mortalité avec 4 599 décès soit (12.9%) des décès par cancer (2).



**Figure 12: Estimation de la mortalité par cancer en Algérie en 2022 (2)**

Il se classe au 1<sup>er</sup> rang chez l'homme avec 3 943 décès soit (21.0%) des décès par cancers (2).



**Figure 13: Estimation de la mortalité par cancer chez les hommes en Algérie en 2022 (2)**

Et n'est qu'au 7<sup>eme</sup> rang comme cause de mortalité par cancer chez la femme avec 656 Décès soit 3,86% (2).

## 2 Pronostic et survie

Avec une survie à cinq ans qui tend à être inférieure à 20 % Le CBP est considéré comme un cancer de mauvais pronostic (4) En Europe il est classé 5ème après celui du pancréas, de la plèvre, du foie et de l'œsophage (5).

Une étude des différences de survie selon le stade, le sous-type histologique et le sexe dans les pays à revenu élevé a suggéré que des facteurs liés au traitement, aux systèmes de santé et à l'ampleur des comorbidités jouent probablement un rôle important (4).

La survie relative (diagnostics portés entre 1989 et 1997) était de (20) :

- Globale à 1 an = 43 %, à 5 ans = 14 %.
- Homme à 1 an = 42 %, à 5 ans = 13 %.
- Femme à 1 an = 46 %, à 5 ans = 18 %.

En Europe les données de survie moyenne pour les patients diagnostiqués entre 2001 et 2007 est de 13% (5).

Il est clair que ces données dépendent du stade au diagnostic, ainsi selon les données américaines, le taux de survie relative à 5 ans des patients diagnostiqués entre 1999-2005 est estimé à 52,6% pour les stades localisés contre 3,5 % pour les stades métastatiques (20).

## 3 Etiologies et facteurs de risque

### 3.1 Le tabagisme

#### 3.1.1 Le tabagisme actif

C'est de loin Le facteur de risque le plus important, et le mieux connu. Il est considéré comme la première cause des CBP, il serait responsable de plus de 80% des cas, sa prévalence chez les fumeurs est de l'ordre de 24 à 60%. (21)

Selon les études menées en Europe, au Japon et en Amérique du Nord, 91 % des cancers du poumon chez les hommes et 69 % chez les femmes étaient attribuables au tabagisme (22).

L'évolution du CBP est parallèle à l'évolution de la consommation du tabac, ainsi les fumeurs ont 22 fois plus de risque d'avoir un cancer bronchique dans leur vie que les non-fumeurs (23).

Le risque du CBP chez les fumeurs dépend de différents aspects du Comportement tabagique, notamment la durée du tabagisme, la quantité de cigarettes fumées, le type de cigarette fumée et le type d'inhalation (13).

Ainsi, il est considéré comme **non-fumeur** : toute personne ayant fumé moins de 100 cigarettes (5paquet standards) au cours de toute sa vie. Les anglo-saxons l'appellent le « Never smoker » (jamais fumeur).

Un **Ex fumeur** (former smoker) est toute personne ayant fumé plus de 100 cigarettes mais ayant arrêté depuis au moins une année.

Par conséquent un **fumeur actif** (current smoker) est toute personne ayant fumé plus de 100 cigarettes ou ayant arrêté depuis moins d'un an.

Un **petit fumeur** « Light smoker » désigne toute personne ayant très peu fumé et / ou ayant arrêté depuis longtemps, il est retenu un seuil de consommation de 5 paquets Années et un délai depuis le sevrage de 15ans (24).

**Tableau 2: Définition des différents types de statut tabagique (24)**

Catégorie	Quantité de cigarettes fumée	Délai depuis l'arrêt total	Terme anglo-saxon
Non-fumeur	<100	-	Never smoker
Ex-fumeur	≥100 à ∞	≥1 an	Former smoker
Fumeur actif	≥100 à ∞	0 à 1an	Current smoker
Petit fumeur	≥100 mais < 5 PA	>15 ans	Light smoker

Il est noté une diminution du risque de cancer 5 à 9 ans après l'arrêt du tabac chez les anciens fumeurs par rapport aux fumeurs actuels ; néanmoins, les anciens fumeurs conserveront toujours un risque plus élevé de cancer du poumon par rapport aux jamais fumeurs (25).

Tous les types histologiques de CBP sont alors associés au tabac et le tabagisme augmente le risque de cancers du poumon, que ce soit pour les CBNPC ou les CBPC. Ainsi 95% des CBNPC, 99% des cancers épidermoïdes, 90%des carcinomes à grandes cellules et 70% des adénocarcinomes sont attribuables au tabagisme (26).

Plus de 4000 substances chimiques ont été identifiées dans la fumée de cigarette. Environ 2500 proviennent du tabac naturel transformé, tandis que le reste provient des additifs, pesticides et autres composants métalliques et organiques (27).

Parmi ces substances, près de 60 ont été identifiées comme cancérogènes probables ou possibles (13).

Les carcinogènes connus incluent les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs), les N-nitrosamines, les amines aromatiques, les aldéhydes, les composants organiques (ex : benzène, chlorure de vinyle) et les composants inorganiques (ex : arsenic, chrome, radon 210, polonium 210) (28).

L'effet de la nicotine dans la carcinogenèse reste débattu, l'activation des récepteurs nicotiques à un rôle protumoral et pro angiogénique in-vitro (9).

### **3.1.2 Le tabagisme passif**

Il est défini comme l'exposition continue durant plus d'un an à un fumeur actif vivant sous le même toit ou travaillant dans la même pièce (24).

Ce risque a été mis en évidence en 1981, par une étude japonaise chez des femmes mariées à des fumeurs (29) et depuis 2002, l'OMS a reconnu le rôle cancérigène pour le poumon de l'exposition passive à la fumée de tabac, même si le risque est nettement moindre que chez le fumeur actif (30).

Il augmente le risque de cancers bronchique de 30% et serait responsable de plus de 3000 cas (20 %) de cancer du poumon par an chez les Américains et Américaines non fumeurs (31).

Des études ont retrouvé des taux élevés de cotinine (et d'autres métabolites de la nicotine) et du goudron cancérigène dans les urines des sujets exposés au tabagisme environnemental (32).

## **3.2 Le Cannabis**

La consommation de cannabis serait aussi un facteur de risque du cancer du poumon. En effet sa fumée contient deux fois plus d'hydrocarbures (33), et dépose 5 fois plus de goudrons dans le tractus respiratoire qu'une cigarette avec filtre de taille équivalente et contient de nombreux carcinogènes dont les PAHs (Polycyclic aromatic hydrocarbons) et phénols à concentration plus élevée que dans la cigarette (28).

Plusieurs études ont montré l'augmentation du risque de cancer bronchique chez les fumeurs de cannabis, mais ce rôle ne peut être confirmé vu la consommation concomitante du tabac (33).

## **3.3 Facteurs professionnels**

L'exposition aux carcinogènes professionnels serait responsable de 20% des CBP en France (34).

### **3.3.1 L'amiante**

Est sans conteste la plus fréquente des expositions professionnelles associées au CBP. Les secteurs les plus à risque sont l'industrie textile, le secteur de l'isolation thermique, la fabrication d'amiante ciment, et de matériaux de friction (13).

Moins de 2 % des cas de CBP sont liés à l'amiante et l'exposition agit de façon synergique avec le tabagisme qui semble augmenter la pénétration des fibres d'amiante à travers la muqueuse bronchique. Ces fibres d'amiante peuvent activer la protéine kinase C et activer les proto-oncogènes c-fos et c-jun comme l'expression de gènes dépendant du facteur nucléaire NF- $\kappa$ B et le proto-oncogène c-myc. (28).

### 3.3.2 La silice

Le risque relatif de CBP associé à l'exposition professionnelle à la silice cristalline est généralement compris entre 1,2 et 1,4. Ce risque relatif, en présence de silicose, est compris entre 2 et 2,5, et est d'environ 1,6 après ajustement sur le tabagisme (13).

### 3.3.3 Le cadmium

En milieu de travail, le risque de CBP est observé dans les populations ayant eu les expositions les plus anciennes, et des niveaux d'exposition cumulées vraisemblablement les plus élevées, avec éventuellement une association à d'autres agents cancérigènes (13).

### 3.3.4 Autres

**Arsenic et uranium** : notamment pour les mineurs, fondeurs de minerai et dans la production et l'utilisation des pesticides (35).

**Hydrocarbures** : provenant du charbon et du pétrole : ouvriers d'usine chimique, imprimeurs, travailleurs du goudron (36).

**Nickel, chrome** : travailleur à l'affinage, frittage, chromage, tannage et soudeur (37).

## 3.4 Facteurs environnementaux

### 3.4.1 Le radon

L'isotope le plus fréquent (et relativement le plus "stable") est le radon 222. L'inhalation du radon, gaz naturel radioactif omniprésent dans l'environnement et provenant du centre de la Terre, reste la principale source d'exposition à la radioactivité dans le monde, et est considérée comme la 2<sup>ème</sup> cause de cancer du poumon aux États-Unis (38) (39).

### 3.4.2 Pollution atmosphérique

Une grande étude européenne a établi un lien entre la pollution de l'air extérieur et le CBP et suggère une fraction attribuable à ce type d'exposition d'environ 10,7% (40).

La proportion mondiale de décès par CBP attribuables à la pollution de l'air extérieur par les particules fines était de 14 % en 2017, allant de 4,7 % aux États-Unis et à 20,5 % en Chine (41).

**Le diesel** serait l'un des 1<sup>ers</sup> facteurs, ainsi Plusieurs études semblent montrer un risque accru de CBP en cas d'exposition aux vapeurs et aux fumées du diesel (42).

L'EPA (*US-Environmental Protection Agency*) reconnaît que les études épidémiologiques sur le risque du CBP associé à l'exposition aux fumées diesel montrent des évidences cohérentes avec un lien causal (13).

### 3.5 Antécédents personnels et familiaux

Les antécédents personnels concernent en particulier les personnes atteintes de broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), de silicose, de berylliose et de tuberculose.

L'existence de facteurs génétiques protecteurs est fortement probable et pourrait expliquer qu'un grand nombre de fumeurs (plus de 80%) ne développent pas de CBP car ils ont la capacité de mieux métaboliser les constituants cancérogènes contenus dans la fumée de cigarette. il existe également des facteurs de susceptibilité génétique favorisant ce cancer (21).

Un cas de cancer pulmonaire familial augmente également le risque de survenue de ce cancer (43).

Certains polymorphismes de gènes sont connus pour être associés à un risque accru de CBP. C'est le cas des gènes codant pour les sous-unités  $\alpha 3$ ,  $\alpha 5$  et  $\beta 4$  des récepteurs nicotiques à l'acétylcholine, pour lesquels certains polymorphismes nucléotidiques sont fortement liés à la dépendance tabagique et au cancer pulmonaire (44) et pour le gène TERT qui code pour la télomérase reverse transcriptase (45).

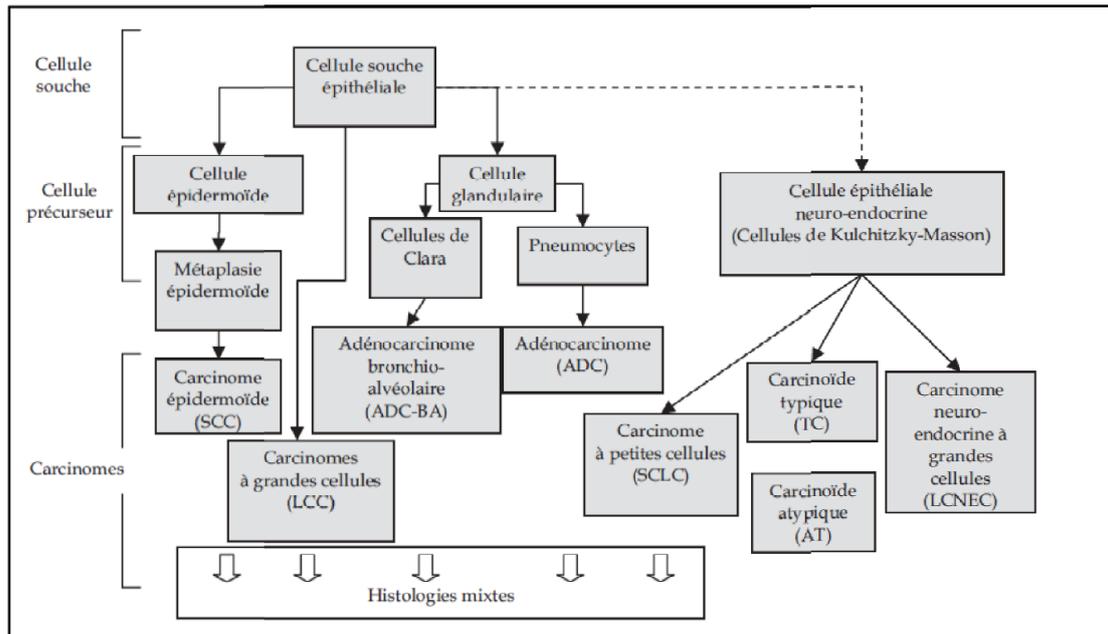
## 4 Histologie et classification anatomopathologique

### 4.1 Histologie de la muqueuse bronchique.

L'arbre respiratoire, du larynx sous-glottique jusqu'aux bronchioles terminales, est tapissé par un revêtement respiratoire pseudo stratifié cilié associant trois types cellulaires : des cellules épithéliales ciliées, des cellules muco-sécrétantes et des cellules basales.

La muqueuse bronchique contient aussi de rares cellules neuro-endocrines porteuses de granules de type neuro-sécrétoire.

La bronchiole terminale possède un revêtement cylindrique cilié appelé cellules de Clara et Les bronchioles terminales s'ouvrent sur les alvéoles pulmonaires, tapissées de pneumocytes de type I et II (46) (47).



**Figure 14: Histo-pathogénèse des CBP (47)**

## 4.2 Anatomie pathologique

Il existe deux grands types histologiques du CBP : les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) qui représentent environ 85% des cancers diagnostiqués et les cancers bronchiques à petites cellules (CBPC) qui représentent les 15% restants (48).

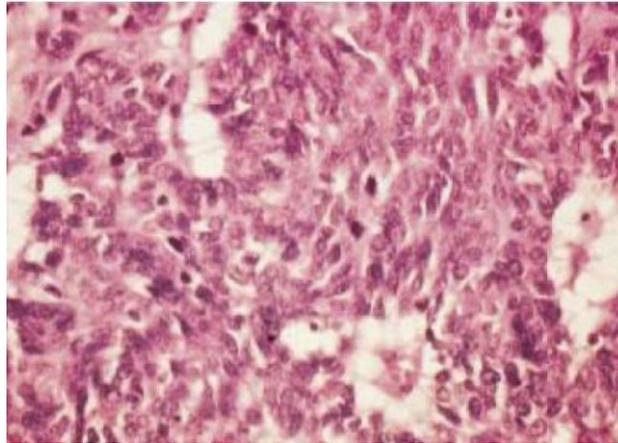
### 4.2.1 Le cancer bronchique à petites cellules (CBPC)

Le CBPC est une tumeur maligne épithéliale neuroendocrine de haut grade de malignité (49).

En effet c'est la forme la plus agressive du CBP et représente 15% de tous les cancers primitifs du poumon. Il est associé à l'exposition au tabac (50) et apparaît fréquemment sous forme d'une masse centrale, et environ 25% sont présents en périphérie (13).

Ces tumeurs sont d'origine neuroendocrine, présentent un temps de doublement extrêmement rapide de l'ordre de 30 jours. Elles ont un pouvoir métastatique très important, par voie lymphatique et sanguine.

Elles présentent une très grande sensibilité à la chimiothérapie et à la radiothérapie mais avec une forte probabilité de rechute (51).



**Figure 15: Carcinome à petites cellules. (hématoéine-éosine × 100) (52)**

#### 4.2.2 Les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC)

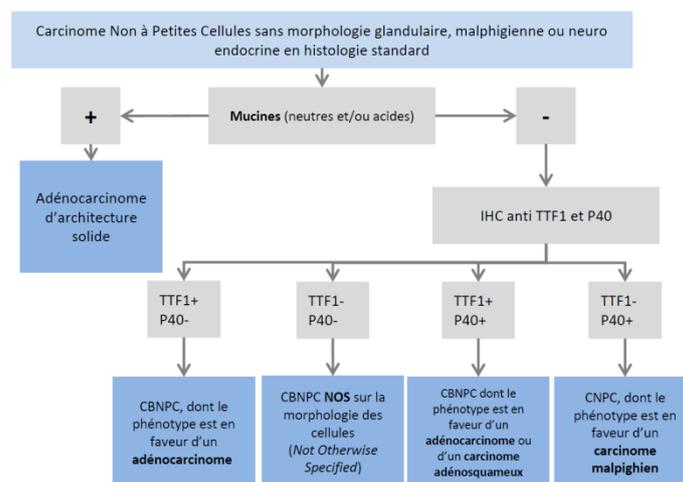
Localisé souvent dans les tissus pulmonaires périphériques (53) (54). Le CBNPC est caractérisé par un temps de doublement plus long (55).

Il existe plusieurs sous types pathologiques dont les 3 principaux sont: les adénocarcinomes (qui représentent environ 45% des cas), les carcinomes épidermoïdes (environ 30-35% des cas), et les carcinomes indifférenciés à grandes cellules (environs 5-10% des cas) (48).

En anatomie pathologique, il est recommandé d'utiliser le moins possible le terme "carcinome pulmonaire non à petites cellules **NOS** (not otherwise specified)" car le carcinome non à petites cellules doit être classé dans un type plus spécifique, comme l'adénocarcinome ou le carcinome épidermoïde dans la mesure du possible (56) (57).

Le terme "carcinome non-épidermoïde" ne devrait pas être utilisé par les pathologistes. Il s'agit en effet d'une catégorisation clinique (56).

En IHC (immuno-histochimie) et devant un CBNPC, il est recommandé d'étudier l'expression de TTF1, spécifique des adénocarcinomes (95 %) et celle de la p40 fortement spécifique des carcinomes épidermoïdes (98 %) (58).



**Figure 16: Arbre décisionnel pour le diagnostic des carcinomes non à petites cellules sur biopsies ou Cytobloc (56)**

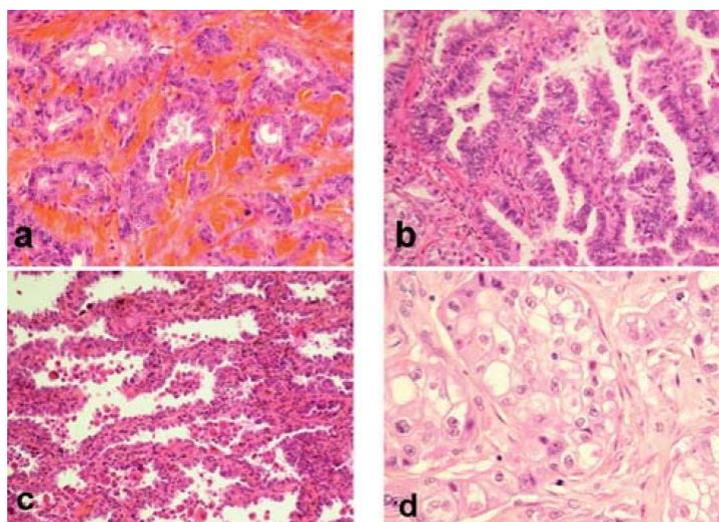
#### 4.2.2.1 Les adénocarcinomes (ADK)

Ce groupe de tumeurs épithéliales malignes présente des signes de différenciation glandulaire ou de production de mucine (59).

Les adénocarcinomes se développent à tous les niveaux depuis les bronches périphériques jusqu'aux alvéoles et peuvent donc donner des processus tumoraux proximaux ou périphériques. Ils peuvent provenir d'une part des cellules caliciformes de l'épithélium bronchique et bronchiolaire et d'autre part des glandes bronchiques. Ils peuvent aussi provenir des cellules de Clara bronchiolaires et des pneumocytes de type II des alvéoles pulmonaires (49) (21).

L'expression IHC du TTF1 signe l'origine bronchopulmonaire de l'adénocarcinome (60).

Les principaux sous-types histologiques sont l'ADC solide, acinaire, papillaire et lépidique (61).

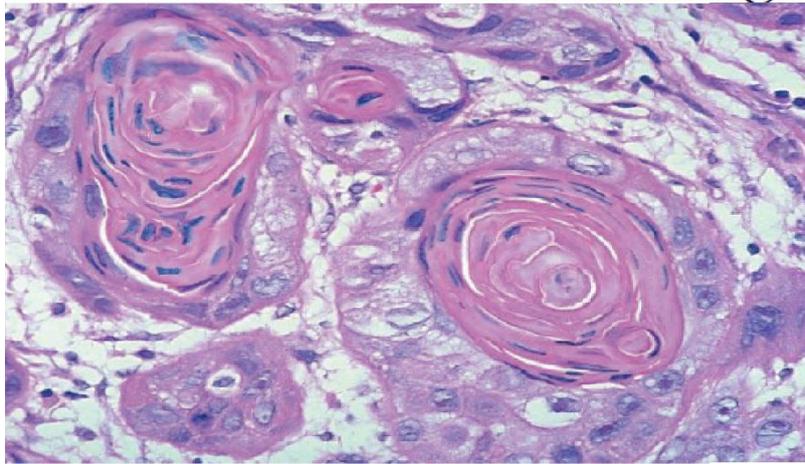


**Figure 17: Coupes histologiques de différentes formes d'adénocarcinome: A : acinaire, B : papillaire, C : lépidique et D : solide (61)**

#### 4.2.2.2 Les Carcinomes épidermoïdes

Appelés aussi carcinomes squameux, ce sont des tumeurs malignes épithéliales avec signe de keratinisation, c'est la tumeur classique du grand fumeur (62).

Ces tumeurs sont proximales car elles se développent surtout au niveau des principales branches. Les carcinomes épidermoïdes peuvent être bien différenciés, moyennement et peu différenciés (63).



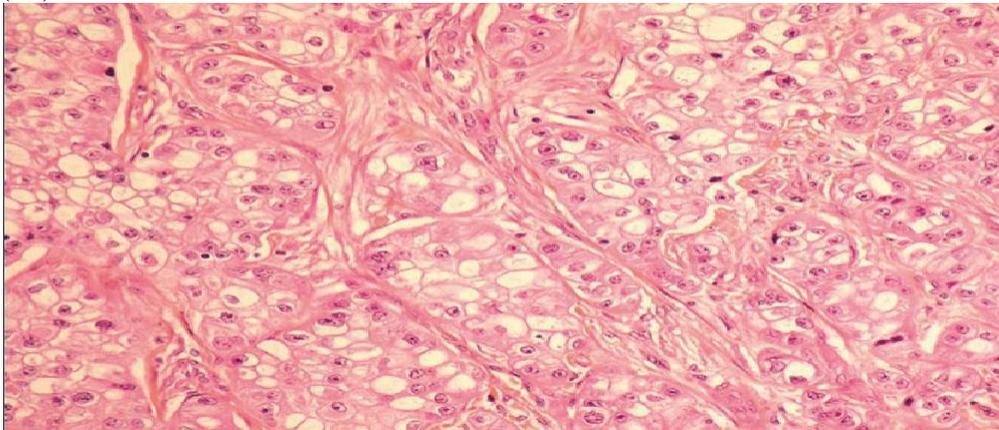
**Figure 18: Carcinome épidermoïde bien différencié (64)**

Ces tumeurs se développent à partir des cellules basales qui n'expriment pas le facteur de transcription TTF1 (60).

#### *4.2.2.3 Les carcinomes à grandes cellules*

Il s'agit d'une tumeur épithéliale indifférenciée dépourvue de composante épidermoïde ou glandulaire. Se développent également très majoritairement chez des sujets fumeurs (65).

Certains de ces carcinomes à grandes cellules correspondent à des carcinomes neuroendocrines à grandes cellules avec l'expression des marqueurs neuroendocrines (60).



**Figure 19: Carcinome à grandes cellules (66)**

Les cellules tumorales du Carcinome à grandes cellules n'ont pas de marqueurs d'IHC spécifique (60).

#### *4.2.2.4 Autres sous types histologiques*

**Carcinomes sarcomatoïdes :** Les carcinomes sarcomatoïdes primitifs pulmonaires représentent 1% des CBNPC. Selon l'OMS c'est tout carcinome ayant un comme point commun de comporter des cellules d'aspect pseudo-sarcomateux (60).

**-Carcinomes adénosquameux :** Ces tumeurs sont plutôt de localisation périphérique. Ils associent une composante épidermoïde et adénocarcinomateuse qui peuvent être de type et différenciation variable dans le même foyer tumoral (60) .

**Tableau 3: Classification anatomopathologique de l'OMS 2021 du cancer du CBP (56)**

**TUMEURS EPITHELIALES**

[...]

**Lésions glandulaires pré-invasives**

Hyperplasie adénomateuse atypique

Adénocarcinome *in situ*

Non mucineux

Mucineux

**Adénocarcinome**

Adénocarcinome minimalement invasif

Non-mucineux

Mucineux

Adénocarcinome invasif non-mucineux

Adénocarcinome lépidique

Adénocarcinome acinaire

Adénocarcinome papillaire

Adénocarcinome micro papillaire

Adénocarcinome solide

Adénocarcinome Invasif mucineux

Adénocarcinome invasif mixte mucineux et non-mucineux

Adénocarcinome colloïde

Adénocarcinome foetal

Adénocarcinome entérique

Adénocarcinome NOS

**Lésions épidermoïdes pré-invasives**

Carcinome épidermoïde *in situ*

Dysplasie malpighienne légère

Dysplasie malpighienne modérée

Dysplasie malpighienne sévère

**Carcinome malpighien (ou épidermoïde)**

Carcinome malpighien NOS

Carcinome malpighien kératinisant

Carcinome malpighien non kératinisant

Carcinome malpighien basaloïde

Carcinome lymphoépithélial

**Carcinome à grandes cellules**

Carcinome à grandes Cellules

**Carcinomes adénosquameux**

Carcinome adénosquameux

**Carcinomes sarcomatoïdes**

Carcinome pléomorphe

Carcinome à cellules géantes

Carcinome à cellules fusiformes

Blastome pulmonaire

Carcinosarcome

**Autres tumeurs épithéliales**

Carcinome NUT

Tumeur thoracique indifférenciée SMARCA4 déficiente

**Tumeurs de type glandes salivaires**

Adénome pléomorphe

Carcinome adénoïde kystique

Carcinome épithélial-myoépithélial

Carcinome mucoépidermoïde

Carcinome à cellules claires hyalinisant

Myoépithéliome

Carcinome muyoépithélial

**TUMEURS NEUROENDOCRINES PULMONAIRES**

**Lésions pré-invasives**

Hyperplasie diffuse idiopathique à cellules neuroendocrines

**Tumeurs neuroendocrines**

Tumeur carcinoïde NOS / tumeur neuroendocrine NOS

Tumeur carcinoïde typique / tumeur neuroendocrine de grade 1

Tumeur carcinoïde atypique / tumeur neuroendocrine de grade 2

**Carcinomes neuroendocrines**

Carcinome à petites cellules

Carcinome à petites cellules composite

**Carcinome neuroendocrine à grandes cellules**

Carcinome neuroendocrine à grandes cellules composite

**TUMEURS MESENCHYMATEUSES SPECIFIQUES AU POUMON**

Hamartome pulmonaire

Chondrome

Lymphangiomatose diffuse pulmonaire

Blastome pleuropulmonaire

Sarcome intimal

Tumeur myofibroblastique congénitale péri bronchique

Sarcome myxoïde pulmonaire avec fusion EWSR1-CREB1

PECome

Lymphangioliéiomyomatose

PECome bénin

PECome malin

[...]

## 5 Classification TNM et stadification

### 5.1 Classification TNM

Cette classification est une classification clinique et topographique, avec des données anatomopathologiques, La dernière version est celle de 2016 (8ème édition) . Notons qu'une 9ème édition est en cours d'élaboration (56).

**Tableau 4: Classification TNM du CBP (56)**

	<b>Tx</b>	Tumeur primitive non connue ou tumeur prouvée par la présence de cellules malignes dans les sécrétions broncho-pulmonaires mais non visible aux examens radiologiques et endoscopiques.
	<b>T0</b>	Absence de tumeur identifiable.
	<b>Tis</b>	Carcinome <i>in situ</i> .
	<b>T1</b>	Tumeur de <b>3 cm ou moins</b> dans ses plus grandes dimensions, entourée par du poumon ou de la plèvre viscérale, sans évidence d'invasion plus proximale que les bronches lobaires à la bronchoscopie (c'est-à-dire pas dans les bronches souches).
	<b>T1a(mi)</b>	Adénocarcinome à invasion minimale
	<b>T1a</b>	≤ 1cm
	<b>T1b</b>	> 1 cm et ≤ 2 cm
	<b>T1c</b>	> 2 cm et ≤ 3 cm
T – Tumeur (plus grande dimension)	<b>T2</b>	Tumeur de <b>plus de 3 cm, mais de moins de 5 cm</b> OU avec un quelconque des éléments suivants -envahissement d'une bronche souche quelle que soit sa distance par rapport à la carène mais sans envahissement de la carène, -envahissement de la plèvre viscérale, -existence d'une atélectasie ou pneumonie obstructive
	<b>T2a</b>	> 3 cm mais ≤ 4 cm
	<b>T2b</b>	> 4 cm mais ≤ 5 cm
	<b>T3</b>	Tumeur de <b>plus de 5 cm et de moins de 7 cm</b> , OU associée à un <b>(des) nodule(s) tumoral(aux) distinct(s) dans le même lobe</b> , OU envahissant directement : -la paroi thoracique (incluant les tumeurs du sommet), -le nerf phrénique, -la plèvre pariétale ou le péricarde pariétal.
	<b>T4</b>	Tumeur de <b>plus de 7 cm</b> OU associée à des nodules tumoraux séparés dans deux lobes différents du même poumon, OU envahissant directement : -le médiastin, -le cœur ou les gros vaisseaux, -la trachée, ou la carène -le diaphragme, -le nerf récurrent, -l'œsophage, -un(des) corps vertébral(ux).
N - Adénopathies	<b>Nx</b>	Envahissement locorégional inconnu.
	<b>N0</b>	Absence de métastase dans les ganglions lymphatiques régionaux.
	<b>N1</b>	Métastases ganglionnaires péri-bronchiques homolatérales et/ou hilaires homolatérales incluant une extension directe.
	<b>N2</b>	Métastases dans les ganglions médiastinaux homolatéraux ou dans les ganglions sous-carénaux
	<b>N3</b>	Métastases ganglionnaires médiastinales controlatérales ou hilaires controlatérales ou scaléniques, sus-claviculaires homo- ou controlatérales.
Métastases	<b>M0</b>	Pas de métastase à distance.
	<b>M1</b>	Existence de métastases :
	<b>M1a</b>	Nodule(s) tumoral(ux) séparés dans un lobe controlatéral, ou nodules pleuraux ou pleurésie maligne ou péricardite maligne
	<b>M1b</b>	Une seule métastase extra-thoracique dans un seul organe
	<b>M1c</b>	Plusieurs métastases extra-thoraciques dans un seul ou plusieurs organes

## 5.2 Classification par stade

**Tableau 5: Classification par stade du CBP (56)**

	N0	N1	N2	N3	M1a-b Tout N	M1c Tout N
T1a	IA-1	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T1b	IA-2	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T1c	IA-3	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IV-A	IV-B
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IV-A	IV-B

## 6 Signes cliniques et diagnostic

Le CBNPC est souvent diagnostiqué à un stade avancé (67). Il peut présenter plusieurs symptômes et les signes peuvent être parfois discrets ou tardifs. Tout signe clinique, indépendamment de son importance doit être un signal d'alarme chez un fumeur de plus de 40 ans (68).

### 6.1 Signes cliniques

#### 6.1.1 Symptômes liés à une atteinte locale

La toux est un symptôme commun présent chez 50 à 75 % des patients, suivi d'une hémoptysie, de douleur thoracique et de dyspnée (69).

#### 6.1.2 Symptômes d'envahissement locorégional

Pleurésie, dysphonie, syndrome cave supérieur, dysphagie, *Syndrome apico-costovertébral* (appelé aussi syndrome de Pancoast Tobias : pour les tumeurs de l'apex qui se manifestent par des douleurs du membre supérieur de type radiculaire C8-) et syndrome de Claude Bernard Horner homolatéral (se manifeste par un myosis, un ptosis et une enophtalmie) (21).

#### 6.1.3 Symptômes liés à des métastases à distance

Plus de la moitié des CBP sont métastatiques d'emblée notamment au niveau du cerveau, de l'os, du foie et des surrénales (70).

### **6.1.4 Syndromes paranéoplasiques**

Hippocratisme digital, hypercalcémie paranéoplasique, hyponatrémie du syndrome de Schwartz-Bartter (syndrome de sécrétion inappropriée d'ADH), syndrome de Cushing.... (28).

## **6.2 Bilan diagnostique**

S'articule autour d'un examen clinique et d'examen d'imagerie.

### **6.2.1 Examen clinique**

L'interrogatoire du patient recherche systématiquement l'exposition à des facteurs de risque, en particulier le tabagisme (actif ou passif), une exposition professionnelle et une éventuelle altération de l'état général.

L'examen clinique recherche principalement les éléments en faveur d'une localisation métastatique et les urgences (syndrome cave supérieur, hémoptysie de moyenne à grande abondance et l'hypertension intracrânienne (HIC) (21).

### **6.2.2 Examen d'imagerie**

#### **6.2.2.1 Radiographie thoracique**

De face et de profil. Les images suspectes sont les images à projection hilare ou juxta-hilaire, les opacités arrondies intra-parenchymateuses, les opacités systématisées rétractiles, les images cavitaires néoplasiques. ... (28).

La normalité de la radiographie thoracique standard est rare en présence d'un carcinome bronchique avéré (< 5 %). elle permet en outre souvent de différencier d'emblée les cancers proximaux des cancers périphériques (71).

#### **6.2.2.2 Tomodensitométrie thoracique (TDM)**

Le TDM doit être réalisé avant l'endoscopie bronchique et doit être réalisé avec injection de produit de contraste (72).

Les CBNPC ont une présentation polymorphe. Le siège périphérique, l'aspect en verre dépoli, les condensations alvéolaires systématisées orientent beaucoup plus vers le type Adénocarcinome.

Les carcinomes épidermoïdes sont le plus souvent de topographie centrale et excavée, nécrotique, que les adénocarcinomes, mais en pratique il n'y a pas de distinction formelle (73) (74).

### **6.2.3 Fibroscopie bronchique**

La bronchoscopie souple est réalisée dans le cas de tumeur centrale, elle permet la visualisation de la tumeur ainsi que ses caractéristiques. Dans le cas de tumeur périphérique la fibroscopie est souvent sans anomalies (75).

## 6.2.4 Prélèvement tumoral et examen anatomopathologique

Plusieurs prélèvements sont possibles en fonction de la localisation de la tumeur :

-**Biopsie bronchique** : réalisée au cours d'une fibroscopie pour les tumeurs centrales

-**Biopsie sous Echo-endoscopie** .

-**Biopsie transthoracique scanno-guidée** : appelée aussi transpariétale, pour les tumeurs périphériques.

-**Biopsie ganglionnaire** ou d'une **métastase** : pleurale, hépatique, osseuse....

-**Biopsie chirurgicale** : si les autres techniques précédemment décrites ne permettaient pas un diagnostic de certitude.

-**Biopsie liquide** : si les autres alternatives sont impossibles à réaliser (76) (77).

## 6.2.5 Bilan d'extension

Permet notamment la réalisation de la classification TNM et donc la stadification de la maladie.

### 6.2.5.1 *Extension intra thoracique*

TDM thoracique, IRM thoracique.

Fibroscopie bronchique.

TEP-TDM (Tomographie par émission de positon couplée au scanner)

### 6.2.5.2 *Extension extra thoracique*

TDM thoracique abdomino pelvien, TDM ou IRM cérébrale.

Scintigraphie osseuse (71) (21).

# Chapitre II : Altérations moléculaires et addiction oncogénique du CBNPC

## 1 Carcinogénèse et anomalies génétiques

Les CBP se développent selon un processus de plusieurs étapes, avec tout d'abord une prolifération cellulaire, suivi d'une abolition de l'apoptose, une néo-angiogenèse puis un envahissement et la dissémination à distance (78).

L'acquisition d'altérations génétiques ou moléculaires confère à la cellule un avantage prolifératif considérable. La plupart de ces altérations ont bien une responsabilité non seulement dans l'initiation mais également dans la progression tumorale ainsi que dans la mise en place de sous clones tumoraux (79). On estime que 95% des CBP ont de multiples anomalies génétiques acquises: mutations, amplification géniques, pertes d'allèle, instabilités chromosomiques, surexpression des gènes et extinction de l'expression (80).

Ces anomalies sont responsables de l'acquisition, par la cellule de nouvelles propriétés (81):

- Autosuffisance en signaux de croissance
- Insensibilité aux signaux antiprolifératifs
- Échappement à l'apoptose
- Potentiel réplcatif illimité
- Angiogenèse soutenue
- Invasion et métastases des tissus.

Plusieurs facteurs peuvent influencés les types et les fréquences de ces altérations moléculaires notamment lorsqu'il s'agit du type histologique. Ainsi ces altérations sont plus fréquentes dans les formes non épidermoïdes (plus particulièrement les adénocarcinomes) que dans les carcinomes épidermoïdes (82) (83).

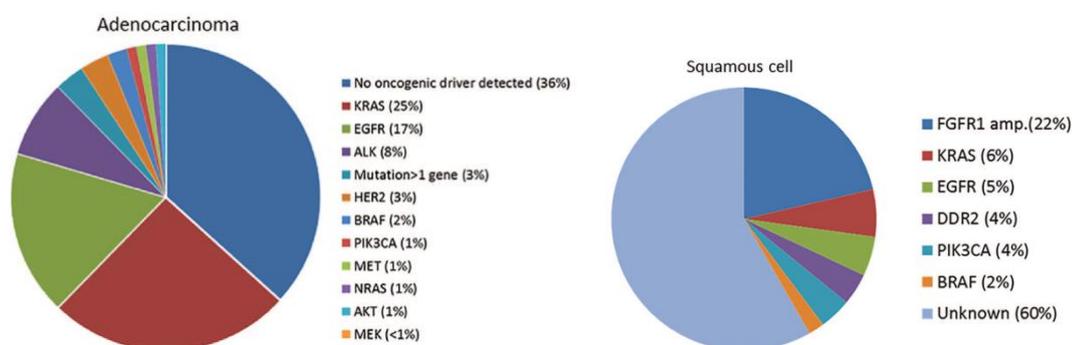
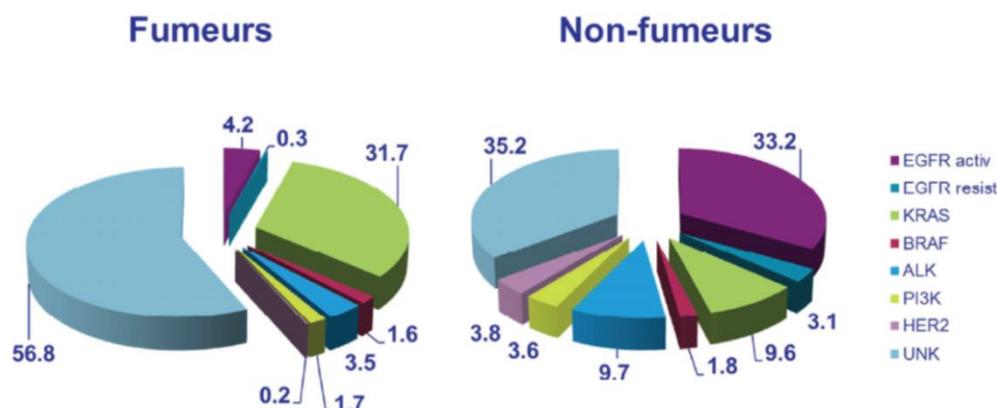


Figure 20: Anomalies moléculaires en fonction du sous type histologique (Adénocarcinome=Adénocarcinome, épidermoïde=épidermoïde) (82)

D'autres facteurs aussi peuvent avoir un impact sur la prévalence de ces anomalies tels que l'âge, le sexe, le statut tabagique et l'ethnie (84).

Aujourd'hui, les altérations moléculaires prédictives sont identifiées chez environ 60% des patients atteints d'adénocarcinome pulmonaire dans les populations occidentales et 80 % dans les populations asiatiques. Ces mutations oncogéniques sont essentiellement fréquentes chez les non-fumeurs, les est-Asiatiques et les patients jeunes (85).



**Figure 21: Biomarqueurs en fonction du statut tabagique dans l'étude «Biomarqueur» en France (86)**

## 2 Altérations moléculaires d'intérêt thérapeutique

Plusieurs altérations moléculaires ont émergé en tant que marqueurs prédictifs et pronostiques du CPNPC. Un marqueur pronostic renseigne sur la survie du patient, indépendamment du traitement reçu, car il est indicateur du comportement intrinsèque de la tumeur (57).

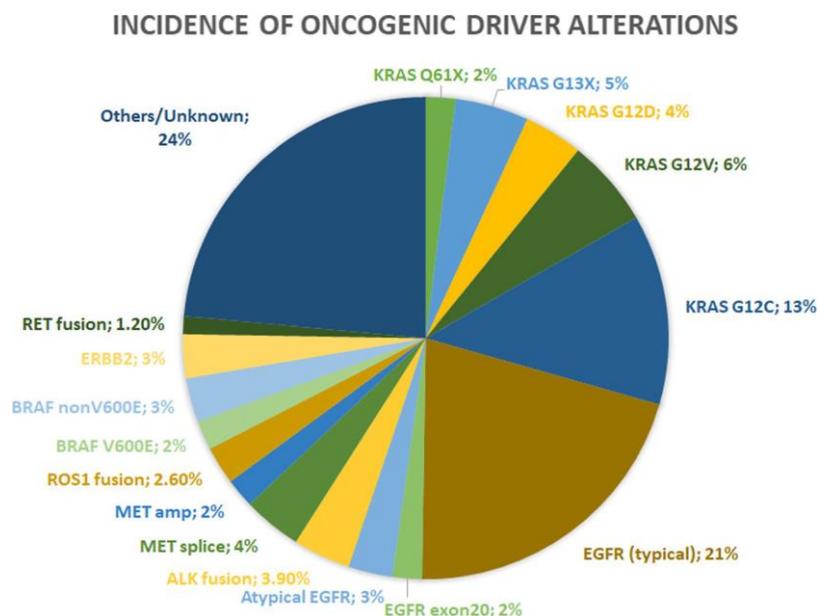
Un marqueur prédictif renseigne sur l'efficacité thérapeutique ou la résistance au traitement, car il existe une interaction entre ce marqueur et la thérapie en question (87).

Ainsi, plusieurs classes thérapeutiques ont été développées dont le but de cibler les conséquences de ces altérations moléculaires qu'on appelle aussi « drivers oncogéniques ». Ces médicaments sont qualifiés de « thérapie ciblée » utilisée dans le cadre de ce qu'on appelle « la médecine de précision » (85).

L'identification des altérations moléculaires ciblables jouant un rôle d'addiction oncogénique est aujourd'hui un pré-requis avant toute prise en charge des patients atteints d'un CBNPC (88) (7).

Les altérations moléculaires recherchées peuvent être des mutations ponctuelles (substitution d'une paire de base conduisant au changement d'un acide aminé au niveau de la protéine – exemple : la mutation L858R de l'EGFR), des petites

délétions/insertions exemple: Délétions 19 de l'EGFR), des amplifications géniques conduisant généralement à une surexpression de la protéine (exemple : amplification du gène MET) ou des réarrangements chromosomiques conduisant à des transcrits de fusion (juxtaposition de 2 gènes ou parties de gènes éloignés – exemple : fusion ALK-EML4) (88).



**Figure 22: Incidence des principales altérations responsable d'addiction oncogénique (85)**

« Seront discutées dans ce travail les altérations moléculaires d'intérêt thérapeutique seulement ».

Parmi ces altérations moléculaires d'intérêt thérapeutique les plus pertinentes actuellement, on retrouve: **les mutations de l'EGFR ,les réarrangements ALK , les réarrangements ROS1, la mutation BRAF V600Es , les fusion du NTRK 1/2/3 , les mutations de l'exon 14 du MET , les rearrangements RET , la Mutation G12C de KRAS et les altération de l'HER2.** D'autres altérations d'intérêt thérapeutique sont toujours en cours d'évaluation : **autres altérations de MET et réarrangements NRG1** (57) (89).

Il est important de signaler que les altérations moléculaires de : ALK, BRAF V600E, EGFR, KRAS, METex14 skipping, les réarrangements RET et les réarrangements ROS1 sont mutuellement exclusifs, c'est à dire qu'ils ne sont pas présent conjointement. Ainsi, rechercher les mutations KRAS (Les plus fréquentes) peut permettre d'identifier les patients qui ne bénéficieront pas des autres tests moléculaires cette approche est également connus sous l'appellation « approches de tests par paliers » (57).

## 2.1 EGFR et altérations de l'EGFR

### 2.1.1 Physiologie de l'EGFR

L'EGFR (**E**pidermal **G**rowth **F**actor **R**eceptor) est une glycoprotéine de 170-kDa qui constitue un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase. Il fait partie de la famille des récepteurs des facteurs de croissance impliqués dans le développement et le fonctionnement normal de différents organes (90).

Il appartient à la famille des récepteurs des facteurs de croissance épidermique ERBB/HER qui sont au nombre de quatre récepteurs : erbB1=Her1 nommé communément EGFR, erbB2/Her2/neu, erbB3/Her3 et erbB4/Her4 (90) (91).

Cette protéine est présente dans les conditions physiologiques, dans les cellules d'origine méso- et ectodermiques à un taux de  $2 \times 10^4$  à  $2 \times 10^5$  récepteurs par cellule. Au niveau de l'appareil respiratoire, l'expression de l'EGFR est forte dans les cellules épithéliales bronchiques et modérée dans les cellules épithéliales alvéolaires (92).

La partie extracellulaire de l'EGFR se divise en 4 domaines : deux domaines de liaison au ligand (I et III) et deux domaines riches en Cystéine (II et IV). L'EGFR possède plusieurs ligands dont les plus importants sont l'EGF, TGF $\alpha$ , la bétacelluline et l'épirubiline (90).

La partie intracellulaire comporte un domaine de régulation et un domaine tyrosine kinase faisant de L'EGFR un récepteur à activité tyrosine kinase (93).

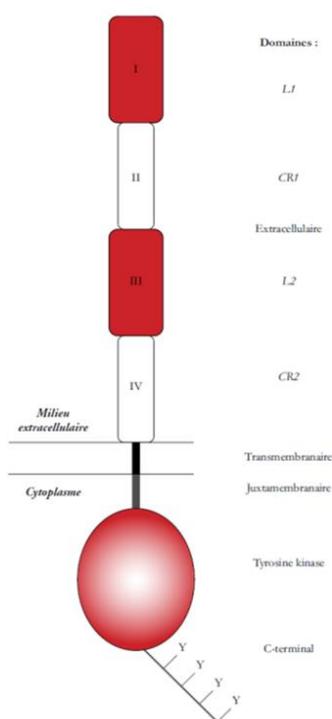
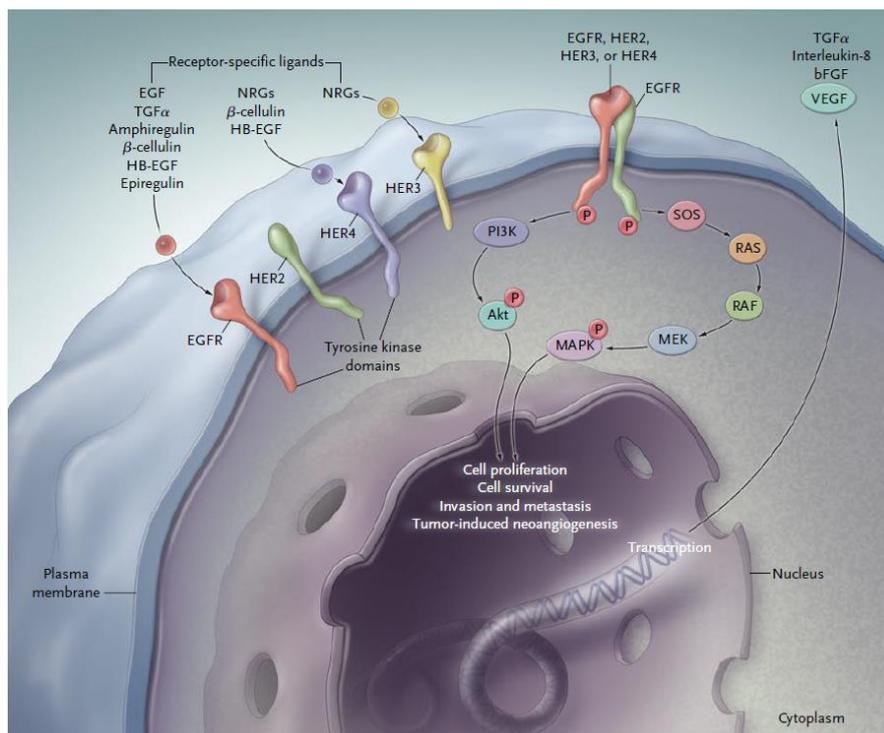


Figure 23: Structure schématique de l'EGFR (90)

La fixation de son ligand au niveau du domaine extracellulaire induit une homodimérisation ou bien une hétérodimérisation avec un autre récepteur (HER2, HER3, HER4) permettant l'activation par autophosphorylation ATP dépendante du résidus tyrosine qui induit l'activation des voies de signalisation intracellulaire, qui sont la voie RAS-RAF-MEK-MAPK qui contrôle la transcription de gènes, la progression du cycle cellulaire et la prolifération cellulaire.

La voie PI3K-Akt active une cascade de signaux anti-apoptotiques via bFGF, HB-EGF, MAPK, PI3K, TGF $\alpha$  et VEGF. Ces voies permettent la régulation et l'amplification du signal EGFR, et contrôlent ainsi les processus de différenciation, de prolifération, de survie, d'adhésion et de migration cellulaire (90) (94).



**Figure 24: Voies de signalisation de l'EGFR (95)**

## 2.1.2 Le gène de l'EGFR

Le gène de l'EGFR est situé sur le chromosome 7p (13.12) est constitué de 28 exons (200kb) (96).

Il présente une forte homologie avec un oncogène viral (vErbB) en fit aussi l'un des premiers « proto-oncogènes » ou oncogènes cellulaires caractérisés (90).

## 2.1.3 Altérations moléculaires de l'EGFR

### 2.1.3.1 La surexpression

L'EGFR est surexprimé dans de nombreuses tumeurs solides comme les tumeurs gliales, les carcinomes mammaires et les carcinomes coliques.

Dans les CBNPC, La surexpression de l'EGFR est retrouvée dans environ 60 % des carcinomes épidermoïdes et 40 % des adénocarcinomes et carcinomes à grandes cellules. A noter qu'aucune surexpression d'EGFR n'est notée dans le cancer bronchique à petites cellules (97). Le mécanisme le plus fréquent en cause dans cette

expression importante est l'amplification du gène de récepteur de l'EGFR en plusieurs copies. (98)

La valeur pronostique de l'expression de l'EGFR dans le CBNPC n'est pas clairement démontrée et son expression ne serait pas corrélée au statut mutationnel de l'EGFR. Par conséquent la recherche d'une amplification du gène et de la surexpression de la protéine EGFR ne sont pas retenues dans la sélection des patients à traiter par TKI (99).

### *2.1.3.2 Les mutations du gène de l'EGFR*

Les mutations de l'EGFR et leurs impacts en thérapeutique dans le CBNPC sont de loin les plus documentés (9) (57).

Les mutations de l'EGFR ont été décrites dans le CBNPC dans les années 2000 et ont constituées les premières cibles d'une thérapie ciblée basée sur la recherche d'altérations génétiques, approuvée par la FDA (85).

Les mutations de l'EGFR sont somatiques et apparaissent précocement au cours de la carcinogenèse pulmonaire (100).

Dans le CBNPC ont compte plus de 200 différentes mutations de l'EGFR (89).

Ces mutations surviennent spécifiquement dans les 4 premiers exons (exons 18, 19, 20, 21) du gène codant pour le domaine tyrosine kinase, c'est à dire au niveau du site de fixation de l'ATP qui est aussi celui des TKI, ce qui a permis de les classer en mutations dites activatrices ou bien de résistance aux TKI (101).

Les altérations de l'EGFR, correspondent à des délétions respectant le cadre de lecture, des insertions ou des mutations ponctuelles faux-sens (102).

Les délétions de l'exon 19 et la mutation ponctuelle L858R de l'exon 21 sont de loin les plus fréquentes des mutations activatrices de l'EGFR « Commun mutations » (plus de 85%). les autres sont plus rares et sont appelées « Uncommun mutations », elles comprennent les insertions de l'exon 20 (6% des mutations de l'EGFR) et les mutations ponctuelles G719X, L861Q and S768I (85) (103).

Il est recommandé de rechercher toute mutation de l'EGFR dont la fréquence est estimée être supérieure à 1% (104).

#### **- Exon 18**

il s'agit essentiellement de mutations touchant le codon 719 qui est à l'origine d'une substitution d'une glycine par une cystéine, une alanine ou une sérine (G719X) représentant 4 % des mutations. La mutation S720F a aussi été décrite au niveau de cet exon (105) (83).

#### **-Exon 19**

Il s'agit de délétions, intéressant toujours la leucine en 747 et la glutamine en 749, représentant 44 % des mutations de l'EGFR. Il existe plus de 20 variants de délétion de l'exon 19 (9, 12, 15, 18, 24 pb ou délétions-insertions, ...).

Il existe également des insertions qui représentent 1 % des mutations (106) (82).

### **- Exon 20**

Il s'agit d'insertions représentant jusqu'à 6% des mutations. Il est possible de retrouver la substitution T790M de manière innée (107), c'est-à-dire chez des patients qui ne sont pas prétraités par des TKI, dans cette situation la mutation T790M est dite germinale et est considérée comme facteur de risque de développer un cancer bronchique (57).

La fréquence de cette mutation T790M augmente à 50% chez les patients développant une résistance sous TKI anti-EGFR de 1<sup>ère</sup> et de 2<sup>ème</sup> génération (108).

Moins de 1% des mutations concernent les mutations ponctuelles V765A et T783A (107).

Les mutations de l'exon 20 (autres que EGFR p.T790M) forment un groupe hétérogène, Il existe actuellement des preuves sur le manque de sensibilité de ces mutations au TKI (exception faite pour la mutation p.A763\_Y764insFQEA) (56) (57) (85).

Pour ces raisons, Il est recommandé actuellement de rechercher ces mutations par NGS vu que la PCR pourrait ne pas détecter certains variants (57).

La présence de plusieurs mutations à la fois est rare mais possible, on parle dans ce cas de mutations combinées ou multiples (56) (103).

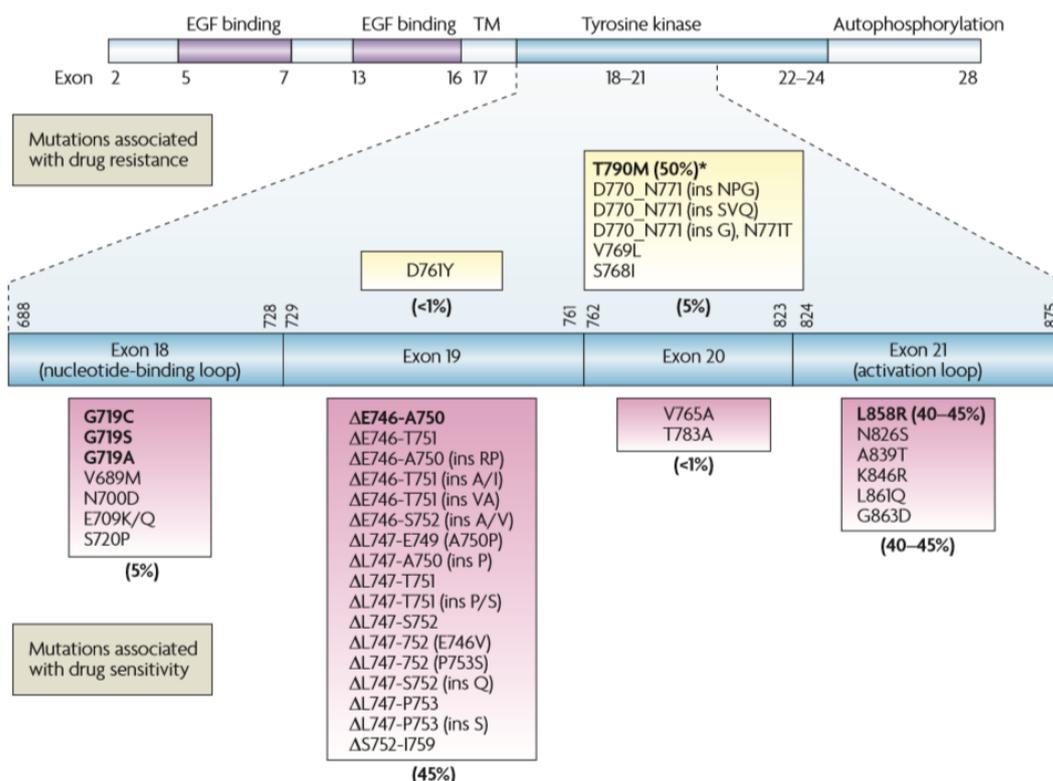
### **- Exon 21 :**

La mutation ponctuelle L858R de l'exon 21 représente **41 %** des mutations activatrices de l'EGFR et la mutation ponctuelle L861Q représente 2 % des cas. La mutation L861R a aussi été décrite dans l'exon 21 (107).

## **2.1.4 Différences pronostic des mutations de l'EGFR**

La valeur pronostique des mutations de l'EGFR dans le CBNPC n'est pas clairement démontrée et toutes les mutations ne seraient pas équivalentes d'un point de vue pronostic. Les délétions de l'exon 19 seraient associées à une meilleure survie que la mutation ponctuelle L858R de l'exon 21 (105).

Les insertions de l'exon 20 seraient moins sensibles au TKI notamment de 1<sup>ère</sup> génération comparées aux mutations classiques de l'EGFR (deletion19 et mutation L858R) (109).



**Figure 25: Altérations moléculaires de l'EGFR des exons 18,19,20 et 21 (110)**

### 2.1.5 Profil des patients présentant une mutation de l'EGFR

Il n'existe pas aujourd'hui d'indicateurs clinico-pathologiques fiables du statut mutationnel, même si certains profils sont plus souvent associés à certaines altérations moléculaires, ceci reste insuffisant pour décider de rechercher ou non une altération moléculaire (76).

Toute fois La fréquence des mutations de l' EGFR peut dépendre de plusieurs caractéristiques et paramètres notamment :

**-l'origine ethnique :** plus fréquentes chez les d'Asiatiques (40 à 50 %) contre (10 à 20 %) chez les Caucasiens (101), et 30% chez les latino-américains (82).

**-le sexe :** plus fréquentes chez les femmes 38 % contre 10 % chez les hommes.

**-le statut tabagique :** plus fréquentes chez les non-fumeurs 47 % contre 7 % des fumeurs (111).

**- le type histologique :** plus fréquentes dans les adénocarcinomes (30 %) (112), avec une fréquence de 50 % chez les patients asiatiques et 15-25 % chez les autres patients. elles sont plutôt rares dans les carcinomes épidermoïdes (moins de 5 %) (101) (113).

Les sous types histologiques de type adénocarcinomes lépidiques non mucineux et les adénocarcinomes papillaires/micropapillaires sont plus souvent associés à des mutations de l'EGFR chez les caucasiens (10—13 %) (76).

### 2.1.6 Mutations de résistance de l'EGFR

Les mutations innées sont plutôt rares, par contre une grande partie est acquise suite à un traitement par TKI.

La mutation la plus documentée reste la T790M de l'exon 20, qui consiste en une substitution d'une threonine 790 par une méthionine (114) et qui apparaît chez 40% à 50% des patients prétraités par des TKI de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération (89).

Cette mutation est responsable d'une modification de l'architecture du site de liaison du récepteur à l'ATP, augmentant ainsi l'affinité du domaine tyrosine kinase pour l'ATP, ce qui réduit l'affinité pour les TKI de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération (114) (115).

Ce mécanisme de résistance a conduit au développement des TKI de 3<sup>ème</sup> génération (notamment l'Osimertinib) actifs y compris en présence de mutations de résistance T790M (116).

D'autres mutations ont été rapportées comme les mutations D761Y dans l'exon 19, T854A dans l'exon 20 et L747S dans l'exon 21 qui fragiliseraient la liaison des TKI à leur site liaison de l'EGFR (117).

La mutation C797S est observée chez environ 10 à 20 % et 7% des patients en progression sous Osimertinib en 2<sup>ème</sup> ligne et 1<sup>ère</sup> ligne respectivement, ce qui confère une résistance acquise envers les TKI de 3<sup>ème</sup> génération (118).

Il est important de noter qu'il peut y avoir d'autres mécanismes de résistance acquise après traitement par TKI qui ne sont pas liés à l'EGFR, mais plutôt médiés par d'autres modifications moléculaires, tels que le réarrangement ALK, l'amplification du MET et du HER2 (117).

Un autre mécanisme de résistance original est la transformation histologique d'un CBNPC à un CBPC dans 6% des cas ou bien même d'une forme épithéliale à une forme mésenchymateuse (57) (119).

## 2.2 Réarrangements du gène ALK

Le gène ALK code pour un récepteur à activité tyrosine kinase. Il a été identifié pour la première fois en 1994 dans les lymphomes anaplasiques. Il conduit à la juxtaposition d'un domaine « hétérologue » en N-terminal au domaine kinase ALK en C terminal (120).

Les gènes partenaires impliqués dans ces réarrangements sont nombreux (*KIF5B*, *TFG*, *KLC1*, *PTPN3*...). Dans les CBNPC, les réarrangements les plus fréquemment observés sont des inversions d'un segment chromosomique du bras court du chromosome 2 dont le plus fréquent est celui résultant de la fusion avec le gène codant pour l'EML4 « echinoderme microtubule-associated protein like 4 » dans sa portion N-terminale (120) (121).

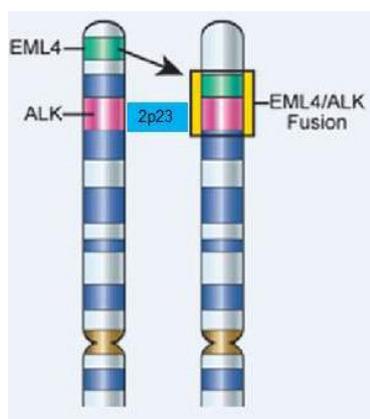
Cette anomalie est à l'origine de l'expression d'une protéine chimérique qui possède une activité ALK tyrosine kinase permanente, donnant des signaux de prolifération

des cellules tumorales, de migration et de survie via les voies de signalisation des MAPK, JAK - STAT et PI3K-AKT (122).

Ces mutations sont mutuellement exclusives des mutations EGFR, KRAS, HER2 et BRAF (123).

On retrouve la translocation ALK- EML4 dans 3 à 7 % des CBNPC, plus fréquemment chez les patients ayant un adénocarcinome et chez les patients plus jeunes (médiane 55 ans) et non ou petits fumeurs (120) (121).

Contrairement aux mutations d'EGFR, les réarrangements d'ALK ne sont pas associés au sexe des patients ni à leur origine ethnique (101).



**Figure 26: Translocation ALK- EML4 (11)**

La recherche des réarrangements du gène ALK peut se faire par IHC, mais la technique de référence reste l'hybridation in situ avec fluorescence (FISH). L'échantillon est considéré comme ALK positif si un réarrangement est observé dans au moins 15 % des cellules tumorales (avec un minimum de 50 cellules analysables) (76).

Le premier inhibiteur de la tyrosine kinase ALK mis sur le marché est le Crizotinib, ensuite plusieurs inhibiteurs de ALK ont fait preuve de leur efficacité clinique et ont obtenus une AMM dans les CBNPC avec réarrangement de ALK (molécules dites de 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération) (7).

**Tableau 6: Différents réarrangements du gène ALK (120)**

Gène RTK	Gène partenaire	Variants*
ALK	EML4	V1 : E13-A20 (54,5%) V3a/b : E6-A20 (34%) V2 : E20-A20 (10%) V5a : E2-A20 (1,5%) Autres : E2/3/10/14/15/17/18/20/21-A20 ; E6-A17 ; E6-A19
	KIF5B	K24-A20 ; K15-A20
	Autres : TFG, KLC1, CRIM1, STRN, CLTC, PTPN3, HIP1, TPR, BIRC6, DCTN1, SQSTM1, BCL11A, NPM1, SEC31A	

### 2.3 Réarrangements ROS 1

Le gène ROS1 est un proto-oncogène qui code pour un récepteur transmembranaire de type tyrosine kinase, dont la structure est proche de celle de l'ALK (122).

Les réarrangements chromosomiques du gène *ROS1* ont été d'abord identifiés dans les glioblastomes et ont été décrits dans le CBNPC début 2012 (124). Il est à l'origine de la production d'une protéine chimérique dont l'activité tyrosine kinase est active de façon constitutive (121).

Les réarrangements chromosomiques du gène *ROS1* impliquent de nombreux partenaires, le plus fréquent étant le gène *CD74* (109).

La fréquence des réarrangements touchant le gène *ROS1* est de 1-2,5 % des CBNPC et sont associés à un profil de patients d'un âge plus jeune et un tabagisme absent ou faible (124).

Les caractéristiques histologiques de ces tumeurs sont similaires à celles des tumeurs réarrangées *ALK* et elles présentent souvent, comme les tumeurs réarrangées *ALK*, une forte expression du PD-L1 (120). Les deux (réarrangement *ALK* et *ROS1*) ne surviennent jamais ensemble (121).

La protéine de fusion est détectable en IHC et les transcrits peuvent également être détectés par RT-PCR mais La FISH peut être considérée comme le « gold standard » pour la détection des réarrangements de *ROS1*, sans nécessiter une connaissance a priori de la fusion partenaire (76).

De nombreux inhibiteurs de tyrosine kinase ont montré leur efficacité sur les tumeurs réarrangées *ROS1*, notamment ceux actifs dans les réarrangement *ALK* (Crizotinib) et la fusion *NTRK* (Entrectinib) (89) (109).

**Tableau 7: Réarrangements des gènes *ROS1*, *NTRK1/2* et *RET* dans le CBNPC (120)**

Gène RTK	Gènes partenaires
<i>ROS1</i>	<i>CD74 (40-45%), EZR, SLC34A2, SDC4, TPM3, GOPC(FIG), LRIG3, CCDC6, MSN, LIMA1, TMEM106B, TPD52L1, KDELR2, CLTC</i>
<i>NTRK1</i>	<i>CD74, MPRIIP, TPM3</i>
<i>NTRK2</i>	<i>TRIM24</i>
<i>RET</i>	<i>KIF5B, CCDC6, NCOA4, TRIM33, RUFY2, CUX1, KIAA1468</i>

## 2.4 Mutation *BRAF V600E*

Pour Raf murine sarcoma viral oncogène homolog B. Le *BRAF* est une sérine-thréonine kinase qui relie les kinases Ras aux protéines MAP kinases de la cascade sous-jacente, contrôlant la prolifération cellulaire (125).

La mutation de *BRAF V600E*, la plus fréquemment trouvée (50% des Cas) se situe sur l'exon 15 (substitution d'une glutamine pour une valine au niveau du résidu 600 (*V600E*) du chromosome 7 (120).

Les mutations somatiques ont été décrites dans un premier temps dans les mélanomes, puis dans le CBNPC avec environ 1 à 3 % des adénocarcinomes pulmonaires (126). La mutation *BRAF V600E* serait plus fréquente chez les fumeurs (109).

Il existe des données discordantes sur la coexistence des mutations du *BRAF* en cas de mutation de l'*EGFR* (57) (120) (127).

Plusieurs molécules antiBRAF ont démontré leur efficacité seules (Vémurafénib) ou en association avec des antiMEK Dabrafenib (ciblant BRAF)+ Trametinib (ciblant MEK ) (13) (128).

## 2.5 Réarrangements du gène *RET*

Pour « rearranged during transfection ». Le gène *RET* est un membre de la superfamille des cadhérines et code pour un récepteur tyrosine kinase. Le gène est localisé sur le chromosome 10 (129).

Ces réarrangements sont décrits depuis très longtemps dans les cancers papillaires de la thyroïde. Le réarrangement KIF5B-RET dans les CBNPC était le premier décrit, depuis d'autres partenaires ont été identifiés (CCDC6, NCOA4, TRIM33, RUFY2, CUX1, KIAA1468). Ces réarrangements sont globalement rares (1-2 % des CBNPC) et généralement absents dans les tumeurs présentant d'autres altérations moléculaires (120) (130).

Les patients présentant ce type d'anomalie sont plus de sexe féminin (7) (130) avec un âge plus jeune et un tabagisme absent ou faible (109) (129).

Les réarrangements de *RET* peuvent être détectables par FISH. L'IHC n'est pas validée comme méthode de screening (76).

Les tumeurs réarrangées *RET* sont susceptibles de répondre à des traitements utilisant des TKI à large spectre (Crizotinib), mais des inhibiteurs plus spécifiques ont été développés (Selpercatinib, Praseltinib) (57) (129).

## 2.6 La fusion NTRK

Les gènes *NTRK 1/2/3* pour neurotrophic tyrosine (**Tropomyosin**) receptor kinase , permettent la production de 3 protéines, TRKA, TRKB et TRKC, jouant un rôle dans la différenciation, la survie et la prolifération des cellules ainsi que leur migration dans l'organisme (131) en activant les voies classiques MAPK, RAS ou PI3KCA (132).

En cas de processus tumoral, la protéine de fusion NTRK est anormalement active menant à un dérèglement cellulaire et au développement de divers types de cancers (131).

Ces fusions sont rares, observées dans une grande variété de types de tumeurs chez l'adulte et l'enfant (carcinome sécrétoire du sein ou le fibrosarcome infantile) (120). Celles observées dans les CBNPC impliquent le plus souvent le *NTRK1*, et différents partenaires ont été identifiés (132), elles sont retrouvées chez moins de 1 % des patients atteints de CBNPC (109).

La rareté de ces cas ne permet pas à ce jour d'identifier des caractéristiques cliniques ou histologiques susceptibles d'orienter le criblage des tumeurs porteuses d'anomalie des gènes *NTRK*. Leur identification est néanmoins cruciale compte tenu de l'efficacité clinique spectaculaire des inhibiteurs de NTRK (Larotrectinib ou Entrectinib) (131).

## 2.7 Les Altérations du *Met*

**Met**, pour mesenchymal-epithelial transition. Il peut s'agir de surexpressions, d'amplifications ou de mutations ponctuelles (76).

Le *c-MET* est un gène localisé sur le bras long du chromosome 7 (7q21-31) qui code pour un récepteur tyrosine kinase dont le ligand est l'Hepatocyte Growth Factor (HGF). Le *c-MET* est l'initiateur d'une signalisation intracellulaire complexe qui intervient dans la prolifération et la résistance à l'apoptose, la mobilité, l'invasion et l'angiogenèse (133) (134).

La protéine *MET* contribue à la résistance primaire et secondaire au traitement par TKI antiEGFR et antiALK (135).

### 2.7.1 L'amplification du gène *c-MET*

Est associée à un mauvais pronostic dans différentes séries rétrospectives de CBNPC (136).

L'amplification du *MET* de haut niveau (high-level *MET* amplifications), constitue un marqueur prédictif émergent, même si la définition de l'amplification du *MET* de haut niveau est en évolution et peut varier selon le test utilisé. Ainsi pour les résultats basés sur le séquençage génomique (NGS), un nombre de copies supérieur à 10 est considéré comme une amplification de *MET* de haut niveau (57).

### 2.7.2 Les skipping Mutations de l'exon 14 du *c-MET*

Sont prédictives de réponse et constituent ainsi une cible thérapeutique (57) (89). Elles sont situées au niveau ou à proximité immédiate des sites d'épissage de l'exon 14 du gène *MET* conduisant à un ARN messager dépourvu d'exon 14 (137).

Elles sont retrouvées chez 3-4% des patients atteints d'adénocarcinome bronchique, elles peuvent être présentes dans les autres types histologiques du CBNPC (1-2%) (109).

Ces skipping Mutations de l'exon 14 du *c MET* sont mutuellement exclusives avec les autres altérations (EGFR, ROS,ALK, BRAF) (57) (137).

Plusieurs molécules ont démontrées leur efficacité dans les skipping Mutations de l'exon 14 du *c MET*, certaines molécules non spécifiques comme le **Crizotinib** et d'autres plus spécifiques (**Capmatinib**, **Tepotinib**) (57) (89).

Ces mêmes molécules sont proposées dans le CBNPC avec amplifications du *Met* de haut niveau (high-level *MET* amplifications), mais les données cliniques quant à leur efficacité restent insuffisantes, raison pour laquelle, elles ne sont toujours pas approuvés par la FDA dans cette indication (57).

## 2.8 Les mutations du *KRAS*

Pour Kirsten Rat Sarcoma virus. C'est une GTPase ancrée dans la membrane plasmique qui joue un rôle dans la transduction du signal entre le récepteur et les kinases cytoplasmiques (RAF et PIK3) (138) (139).

Le gène du KRAS est un Proto-oncogène dont les mutations surviennent majoritairement dans le codon 12, mais d'autres localisations sont possibles (139).

Leur fréquence dans les adénocarcinomes est estimée à 35% dans la population caucasienne et à seulement 10% environ dans la population est-asiatique et seraient plus fréquentes chez les fumeurs (76) (140).

Elles surviennent de façon prédominante dans l'adénocarcinome, rarement dans le carcinome épidermoïde et jamais dans le cancer du poumon à petites cellules (139).

La présence d'une mutation KRAS est considérée comme un facteur de mauvais pronostic. Etant donné que ces mutations sont mutuellement exclusives des autres mutations prédictives (EGFR, ROS1, BRAF, and ALK), leur recherche est intéressante pour exclure la présence d'autres mutations prédictives si elles ne peuvent être recherchées (57).

L'une des mutations les plus fréquentes du KRAS est la mutation **G12C** (89), qui représente à elle seule 40% des mutations KRAS (56), soit 13% des patients atteints de CBNPC (109).

Cette mutation est considérée actuellement comme un marqueur prédictif. En effet, plusieurs inhibiteurs spécifiques pour la mutation de **KRAS G12C** ont été développés, en l'occurrence Le Sotorasib et l'Adagrasib indiqués pour l'instant en 2<sup>ème</sup> ligne (57) (141).

## 2.9 Altérations du HER2 (*erbB2*)

*HER 2* (Human epidermal receptor 2) est un proto-oncogène codant pour la protéine HER2 faisant parti des récepteurs tyrosine kinase de la même famille de l'EGFR (HER1). Il joue un rôle important dans la prolifération cellulaire par l'activation des voies de signalisation intracellulaire *PI3K* et *MEK-ERK* (90) (142).

Le HER2 est surexprimé dans 20% des CBNPC, quasi exclusivement dans les adénocarcinomes. Cette surexpression est liée à une amplification génique qui est associée à un faible pronostic (143).

Les mutations du gène sont beaucoup moins fréquentes (<3%), il s'agit essentiellement d'insertion / duplication sur l'exon 20 et d'autres mutations ponctuelles du domaine extracellulaire (tel que **p.S310X**). Ces mutations sont dites activatrices de l'HER2 (109).

Les mutations *HER2* sont retrouvées dans le même profil de population que celle des mutations EGFR: les non-fumeurs et les femmes, Mais avec une population plus jeune et elles sont mutuellement exclusives des mutations de l'EGFR et du KRAS (57) (76).

Certains anticorps monoclonaux (antiHER2) conjugués ont démontré leur efficacité en 2<sup>ème</sup> ligne et au delà, notamment le Fam-trastuzumab deruxtecan et Ado-trastuzumab emtansine (57) (144).

## Chapitre III : Recherche des mutations de l'EGFR

L'émergence des thérapies ciblées et de l'immunothérapie a fait de l'identification des marqueurs et des altérations moléculaires ciblables un pré-requis avant toute prise en charge des patients porteurs d'un CBNPC. La recherche de ces biomarqueurs prédictifs de réponse est un enjeu important d'une part pour la décision thérapeutique, mais également d'un point de vue pharmaco-économique étant donné le coût de ces traitements (88).

### 1 Généralités

L'EGFR représente l'altération moléculaire la plus étudiée et la mieux documentée et qui a permis l'utilisation des TKI antiEGFR dans le CBNPC. Ces mêmes TKI ont élargi le champ de recherche des mutations dites activatrices pour englober aussi les mutations de résistance secondaires au traitement par TKI, notamment la fameuse mutation de résistance T790M (9) (56).

Toutes les sociétés savantes s'accordent sur la nécessité de rechercher les mutations de l'EGFR avant toute décision thérapeutique (57) (89) (145).

Avant d'entamer la recherche d'anomalies moléculaires en général et de l'EGFR en particulier, plusieurs critères doivent être mis en place et qui doivent permettre d'apporter des réponses aux questions suivantes :

**Quels patients doivent bénéficier d'une recherche de mutation de l'EGFR?**

**Quand réaliser la recherche de mutation de l'EGFR?**

Ces deux questions permettent de définir les critères d'éligibilité à la recherche des mutations de l'EGFR

**Sur quel type de prélèvements peut-on réaliser la recherche des mutations de l'EGFR?**

**Quelles mutations recherchées et avec quelle technique de biologie moléculaire?**  
(76) (146)

### 2 Critères d'éligibilité à la recherche des mutations de l'EGFR

Ces critères incluent essentiellement, le sous type histologique et le stade de la maladie mais aussi dans certaines situations, le statut tabagique et l'âge du patient.

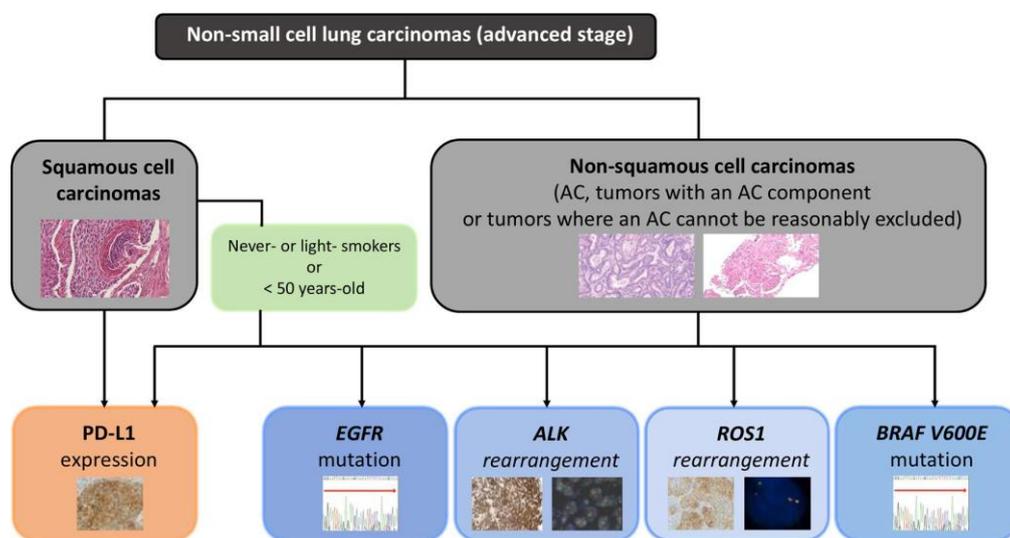
-Ainsi la recherche concerne tous les CBNPC non épidermoïde (56) (57) (89) (145) (147): Principalement les adénocarcinomes, les carcinomes indifférenciés à grandes cellules, les carcinomes adénoquameux et les CBNPC NOS d'une manière générale (57).

Les critères d'éligibilités dans les formes du CBNPC épidermoïde ne font pas consensus. Ainsi, Il est recommandé de rechercher les mutations de l'EGFR dans les cancers épidermoïdes des non-fumeurs, car il peut s'agir de carcinomes adénoquameux dont seul le contingent épidermoïde est présent sur la biopsie (10) (56) (147).

La recherche des mutations de l'EGFR dans les cancers épidermoïdes est étroitement liée au statut tabagique et des précisions sont apporté par l'ESMO et le guide thérapeutique Algérien en oncologie médicale (GTAOM), qui définissent la catégorie des non fumeurs éligibles à la recherche : les jamais fumeur(Never smoker) (<100 cigarettes dans toute la vie), les petits fumeurs (Light smoker) <15 paquet / an toute forme de tabac, et les Ex fumeurs (sevrés depuis plus de 15 ans selon l'ESMO , 10 ans selon le GTAOM (89) (145).

A ça, l'ESMO recommande aussi à ce que la recherche soit effectuée dans les formes épidermoïdes chez les personnes de moins de 50 ans. (89) (113) (89) (104).

Le NCCN dans sa mise à jour de 2024 recommande à ce que la recherche des mutations de l'EGFR soit effectuée pour tous les sous types histologiques du CBNPC, y compris les formes épidermoïdes et ce ci quelque soit l'âge, l'ethnie ou bien le statut tabagique du patient, puisque ces altérations peuvent exister dans les CBNPC épidermoïdes même si avec une fréquence plus faible que celle observée dans les formes adénocarcinomeuses (57).



**Figure 27 : Algorithme diagnostique pour les tests des biomarqueurs chez les patients atteints de CBNPC avancé (104)**

En cas de diagnostic histologique incertain, il est toujours recommandé de rechercher les mutations de l'EGFR. (104)

-Le stade de la maladie est un autre critère important même si les recommandations peuvent changer en fonction des sociétés savantes et d'un pays à un autre (en fonction des indications validées des TKI notamment en situation adjuvante).

Ainsi, la recherche des mutations de l'EGFR est indiquée systématiquement dans les stades localement avancés et métastatiques cela inclus les stades III non résecables (en générale IIIB et IIIC) et les stades IV (56).

Étant donné que certains TKI sont validés pour une utilisation dans des stades précoces (notamment l'osimertinib en situation adjuvante), la recherche des mutations de l'EGFR peut être réalisée chez les non épidermoïdes au stade précoce avec tumeurs résecables (**de stade IB à III**) (56) (147) (148) (149). Les stades III concernent essentiellement les IIIA (56) (147), mais peut aussi inclure dans certaines situations les stades IIIB notamment les T4N2 de la classification TNM 8<sup>ème</sup> édition (56). Dans cette situation la recherche peut se limiter aux mutations les plus fréquentes de l'EGFR en l'occurrence les délétions 19 et la mutation L858R (148).

Cette recommandation pour une utilisation lors de stades précoces, apparait aussi dans la mise à jour de 2024 du guide thérapeutique en oncologie Algérien qui recommande à ce que la recherche soit effectuée dans les CBNPC non épidermoïdes de stade pIB à pIIIA notamment pour la délétion 19 et la mutation ponctuelle L858R (145).

### 3 Les types de prélèvements pour la recherche des mutations de l'EGFR

Plusieurs supports biologiques ou prélèvements peuvent être utilisés pour la recherche des mutations de l'EGFR : prélèvement tissulaire, Prélèvement cytologique et prélèvement sanguin (plasmatique). (76)(33)

La condition la plus importante et que ce prélèvement doit être de bonne qualité afin de permettre l'obtention d'un matériel génétique (ADN) en quantité suffisante et avec une qualité optimale (104).

#### 3.1 Prélèvements tissulaires

Souvent les prélèvements sont obtenus par biopsie ou bien rarement par exérèse chirurgicale (146), en raison de la présentation clinique à un stade avancé de la maladie. Ces biopsies peuvent être obtenues par fibroscopie, par ponction transpariétale, transbronchique ou transoesophagienne. Il peut également s'agir de biopsie de la tumeur primitive ou biopsie des localisations métastatiques comme des biopsies osseuses ou bien hépatiques (76).

La recherche des mutations de l'EGFR est souvent réalisée sur des tissus fixés au formol et incluse en paraffine (FFPE= formalin-fixed, paraffin embedded) (146) (147).

Pour la fixation il est recommandé de ne pas utiliser l'acide picrique et d'éviter les autres fixateurs qui contiennent de l'acide tels que l'AFA (alcool formol acide acétique) (147). La fixation à l'alcool quant elle reste possible (146).

Si une décalcification des tissus est nécessaire (biopsie de métastase osseuse), il faudra privilégier l'EDTA qui permet de conserver un ADN de meilleure qualité (76).

La recherche des mutations est rarement effectuée sur du tissu frais ou bien congelé. (146) (147).

Il existe plusieurs protocoles de fixation qui peuvent tous altérer la qualité du matériel génétique y compris ceux utilisant le formol notamment lorsqu'il s'agit d'analyser de long fragments d'ADN (150).

En général pour les tissus fixés au formol, de meilleurs résultats d'analyse moléculaire, sont obtenus avec des fragments d'ADN inférieur à 300 pb, les résultats sont moins constants avec des fragments d'ADN compris entre 300 et 1000 pb, alors qu'ils sont souvent non concluants pour les fragments d'ADN dont la longueur est supérieure à 1000 pb (151).

Aussi, La fixation au formol provoque parfois des changements aléatoires des bases nucléotidiques, ce qui peut conduire à des résultats faussement positifs, notamment en cas de faible concentration d'ADN (146).

A noter que la fixation à l'éthanol 70° donne des résultats comparables, voire meilleurs, que le formol pour les tests de biologie moléculaire, malgré ça l'alcool n'est pas un fixateur privilégié en routine, pour des raisons d'habitude de sécurité, de coût et de compatibilité avec certains autres examens (par exemple : HER2 par FISH, récepteur d'œstrogène par IHC) (146) (152).

La durée de fixation peut influencer la qualité de l'ADN, des durées allant de 6 à 12 heures pour les biopsies et de 8 à 18 heures pour les pièces chirurgicales donnent généralement de meilleurs résultats. D'une manière générale une durée de fixation comprise entre 6 à 48 heures est acceptable, alors que des durées de fixation très longues affectent la qualité de l'ADN (146) (153).

La cellularité est un autre critère important conditionnant la quantité et la qualité d'ADN, même si ça dépendra aussi de la technique de biologie moléculaire utilisée par la suite pour la recherche des mutations (89).

Toute fois, ce n'est pas le nombre absolu de cellules tumorales qui est important mais la proportion de cellules tumorales par rapport aux cellules stromales, cellules inflammatoires et aux cellules saines. On estime que le taux de cellules tumorales doit être  $\geq 20\%$  dans l'idéale, et qu'un taux d'au moins 10% de cellules tumorales est nécessaire pour des techniques de biologie moléculaire avec une limite de détection  $\leq 5\%$  (89) (147).

Notons qu'actuellement avec certaines techniques de biologie moléculaire très sensibles, une cellularité tumorale même inférieure à 5% peut donner des résultats pertinents (89).

### **3.2 Prélèvements cytologiques**

Ils sont obtenus par aspiration bronchique, brossage, ponctions pleurale, cytoponction ganglionnaire ou pulmonaire (76).

Ils sont très adaptés pour des tests moléculaires, en particulier lorsqu'il s'agit de blocs cellulaires appelés aussi cytobloc (ou cell bloc) qui peuvent constituer une alternative aux biopsies tissulaires y compris pour le diagnostic. Ces blocs cellulaires sont obtenus en enrobant dans un gel, un produit de cytoponction, le culot de centrifugation d'un liquide ou des microfragments tissulaires, afin de réaliser des coupes sériées pour coloration ou permettre la réalisation de réserve de cellules fixées en vue de techniques spéciales (154).

Ils présentent l'avantage d'être assez purs en cellules tumorales et doivent être fixés dans alcool. Ce qui convient généralement pour les tests moléculaires, même si il faut bien s'assurer d'avoir bien éliminé à la fin toute trace d'éthanol car il peut inhiber la réaction de PCR (146).

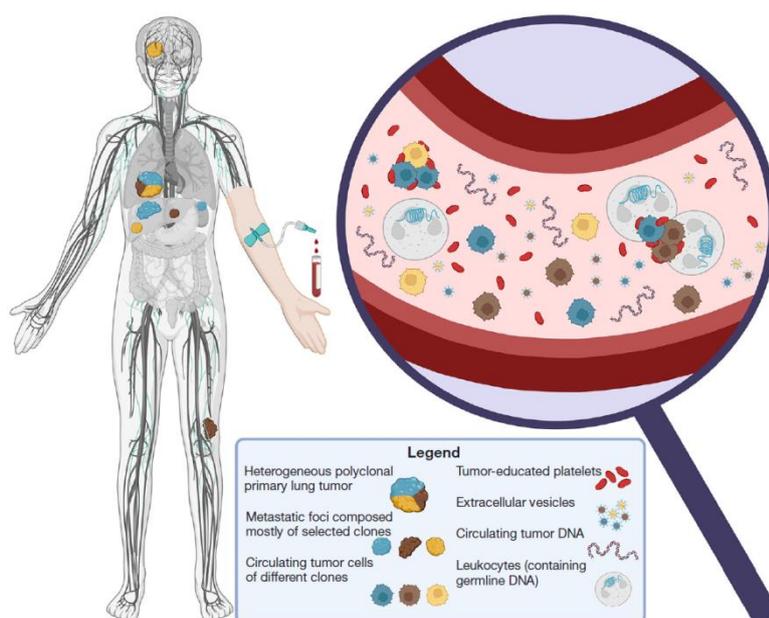
### 3.3 Prélèvement sanguin

Qualifié le plus souvent de **biopsie liquide** par opposition aux prélèvements tissulaires qui constituent les **biopsies solides**.

Les biopsies liquides sont un concept large qui englobe l'analyse des acides nucléiques circulants (ADN et ARN), des cellules tumorales circulantes (CTCs) ou des exosomes en tant que support biologique permettant de rechercher les marqueurs moléculaires des tumeurs (155).

De nouvelles entités ont été rajoutés à ce concept large de biopsie liquide tels que : les plaquettes TEPs (tumor-educated platelets), l'ADN méthylé, et les marqueurs métabolomiques et protéomiques (metabolomic and proteomic markers) (156).

Toute fois, les acides nucléique circulants notamment l'ADNc (circulant), restent de loin le matériel génétique le plus exploité notamment pour l'identification des marqueurs prédictifs en cancérologie (155).



**Figure 28: sources de matériel génétique de la biopsie liquide (156)**

### 3.3.1 ADN circulant

Plusieurs terminologies sont retrouvées dans la littérature: cfDNA (cell free DNA) , ccfDNA( Circulating cell free DNA) pour désigner l'ADN circulant provenant de l'ensemble des cellules de l'organisme ou bien le ADNct (cell tumor DNA) pour désigner la fraction d'ADN provenant des cellules tumorales (157).

#### 3.3.1.1 Historique de la recherche de l'ADNc

La présence d'acides nucléiques dans le plasma a été décrite par Mandel and Metais depuis 1948 (91) et La sécrétion d'ADN par les lymphocytes humains in vitro a été observée dès 1975 (157).

Toutefois, ce phénomène n'a pas suscité beaucoup d'attention jusqu'en 1977, Lorsque Leon et al ont démontré que la concentration d'ADN circulant était beaucoup plus élevée chez les patients atteints de cancer par rapport aux autres et que le niveau d'ADN circulant diminue chez certains patients ayant répondu aux traitements anticancéreux (91).

En 1994, Sorenson et al et Vasioukhin et al ont démontré l'existence de mutations de proto-oncogènes dans le plasma de patients atteints d'un cancer du pancréas et du syndrome myélodysplasique , ce qui a fortement étayé l'hypothèse de la présence d'ADN dérivé des cellules tumorales dans le plasma déjà suggérée par Stroun et al (158).

#### 3.3.1.2 Origines et caractéristiques de l'ADNc et de l'ADNct

Dans la circulation sanguine, une grande partie de l'ADN circulant provient des cellules saines de l'organisme, essentiellement des cellules hématopoïétiques et en moindre degré des autres tissus. Cet ADNc est essentiellement libéré suite à des phénomènes d'apoptose et de nécrose cellulaire (159).

L'augmentation de l'ADNc peut s'observer dans certaines situations physiologiques tel que l'exercice physique, mais aussi dans certaines situations pathologiques comme l'inflammation, les traumatismes, les infarctus, les maladies auto immunes et surtout les maladies cancéreuses (157).

Chez une personne saine, l'ADNc se trouve dans le plasma à des concentrations variables allant de quantités négligeables à une dizaine de ng /ml de plasma. Cet ADN est souvent, liés à des protéines qui le protègent de la dégradation dans le sang (155), il est sous la forme de fragments en double hélice dont la taille est inférieure à 200 pb avec une moyenne de 166 pb, Même si certains fragments peuvent atteindre plus de 10 000 bp lorsqu'ils proviennent de cellules en apoptose ou nécrosées (157).

l'ADNc se dégrade rapidement et sa demi-vie est relativement courte, moins d'une heure en générale (160), même si, des études récentes ont démontré que son élimination est en fait biphasique. Une phase rapide avec une demi-vie de 10 minutes à 1 heure et une autre phase lente avec une demi-vie qui peut atteindre les 13 heures. Cette élimination est souvent hépatique mais peut être en partie rénale (155).

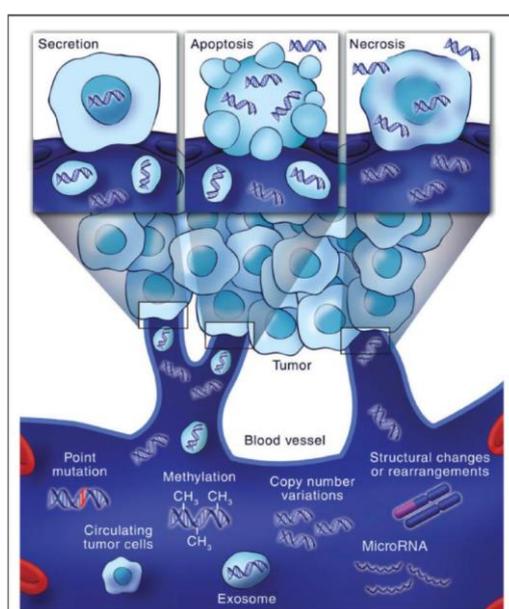
Au cours du processus tumoral, la concentration d'ADNc est souvent significativement augmentée par rapport à celle retrouvée chez les sujets sains (161).

l'ADNct Consiste en une fraction variable de l'ADN plasmatique qui provient des cellules tumorales. En théorie, l'ADNct représente un mélange d'ADN libéré par les différents sous-clones tumoraux, capturant l'hétérogénéité d'un cancer et donnant donc une meilleure description du paysage génomique qui caractérise la tumeur (158).

La 1<sup>ère</sup> hypothèse avancée pour expliquer la présence d'ADNct dans le plasma de patients atteints de cancer était la lyse des cellules tumorales circulantes. Cependant, le nombre de cellules tumorales circulantes ne correspond pas à la quantité totale d'ADNc retrouvée dans le plasma (91).

Rapidement on a compris que d'autres mécanismes sont impliqués dans la libération de l'ADNct, notamment la nécrose tumorale et l'apoptose considérés comme des mécanismes important à l'origine de l'ADNct (157).

Par la suite des études ont aussi démontrée *in vivo* et *in vitro* que la libération active d'ADNct dans la circulation par la cellule tumorale est possible et qu'elle constitue une source non négligeable d'ADNct (162).



**Figure 29: Origine de l'ADN tumoral circulant (162)**

Une fragmentation plus élevée de l'ADNc a été observée des patients cancéreux. En effet, les fragments d'ADNct sont plus petits, autour de 143-145 pb (163).

Chez les patients atteints de cancer, la demi-vie de l'ADNct est <2 heures (155).

Des études portant sur des patients atteints de CBNPC ont démontrés que la concentration en ADNc peut aller de quantités négligeables à 100ng/ml avec parfois des concentrations atteignant même les 1000 ng/mL (164).

### 3.3.1.3 Facteurs influençant les concentrations de l'ADNct

Chez les patients cancéreux, la concentration d'ADNct varie en fonction de plusieurs paramètres :

#### 3.3.1.3.1 Facteurs liés à la maladie tumorale

- **Le Stade et la localisation de la tumeur et des métastases** : On estime que la fraction d'ADNct représente jusqu'à 1 % de l'ADNc total aux stades précoces et peut atteindre 40% aux stades avancés (165) voire plus (90%) (166).

Dans le CBNPC la concentration d'ADNct est plus importante lorsqu'il y a des localisations extrathoraciques, les localisations cérébrales étant associées à des niveaux plus faibles d'ADNct (155).

- **le sous type histologique** : dans les CBNPC, des concentrations plus élevées d'ADNct sont observées dans les carcinomes épidermoïdes par rapport aux adénocarcinomes (155) (161).

- **Autres facteurs** : la taille de la tumeur, les taux de prolifération et d'apoptose, l'étendue de la nécrose, l'inflammation, le microenvironnement de la tumeur ainsi que d'autres paramètres liés au patient peuvent influencer aussi la quantité d'ADNct (155) (167).

#### 3.3.1.3.2 Facteurs liés à au patient

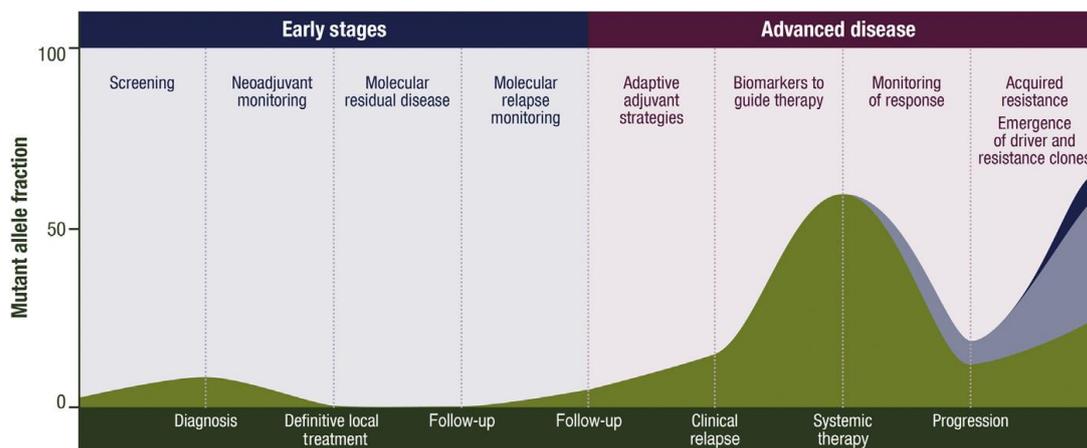
Les facteurs spécifiques au patient comprennent les conditions physiologiques (par exemple, un exercice physique intense), ou physiopathologique (l'inflammation ainsi que les pathologies aiguës ou chroniques (155) (168).

#### 3.3.1.3.3 Facteurs liés à aux traitements

Les concentrations d'ADNct peuvent être affectées par les différents traitements tels que la chimiothérapie, la thérapie ciblée, l'immunothérapie et la radiothérapie.

Une corrélation a été établie entre la réponse et les concentrations d'ADNct. D'une manière générale des concentrations d'ADNc plus faibles ont été rapportées chez les patients en rémission ou avec une maladie stable (169).

Par conséquent, le moment du prélèvement doit être soigneusement planifié en fonction du contexte clinique (155).



**Figure 30: Evolution des concentrations d'ADNct en fonction du stade de la maladie cancéreuse (155)**

#### 3.3.1.3.4 Facteurs liés aux variables pré-analytiques

Ces facteurs peuvent influencer la quantité et la qualité de l'ADNct. (Voir phase préanalytique) :

Type d'échantillon biologique (plasma plutôt que de sérum pour éviter la lyse leucocytaire responsable d'une contamination par de l'ADN génomique) (165), le volume de l'échantillon (volume important=concentration d'ADNc importante), la nature de l'anticoagulant lors du prélèvement, les conditions de conservation et la méthode d'extraction utilisée sont autant de paramètres qui peuvent affecter la quantité et la qualité d'ADNc (155).

### 3.3.2 Les cellules circulantes tumorales (CTC)

Décrites pour la première fois chez les patients cancéreux en 1869. Elles peuvent provenir de la tumeur primitive ou des sites métastatiques et peuvent aussi être présentes à différents moments de l'évolution de la maladie (157).

Les CTC sont considérées comme la principale source de dissémination de la maladie cancéreuse (165), elles sont retrouvées chez 46 % des patients atteints de CBNPC au stade IV (170).

Les CTC sont considérées comme rares (167), en moyenne 5 à 50 CTC sont retrouvées dans 7,5 ml de sang dans les stades métastatiques (157), ce qui correspond à une cellule par CTC par  $10^6$  à  $10^7$  de leucocytes. Cette faible concentration est aussi expliquée par leur demi-vie courte estimée de 1 à 2.4h (170).

D'une manière générale, un nombre élevé de CTC est corrélé avec une évolution pronostique péjorative (157).

Via leurs acides nucléiques, les CTC peuvent apporter des informations sur la structure de la tumeur, le degré d'invasion, la sensibilité et la résistance aux traitements (168).

Il existe différentes technologies pour la détection et l'isolement des CTC :

-Celles utilisant des méthodes de sélection positive basées sur l'utilisation d'anticorps antimolécule cellulaire d'adhésion (« epithelial cell adhesion molecule » ;EpCAM) pour déceler les cellules épithéliales , des anticorps anti-N-cadhérine pour les cellules mésenchymateuses ou encore des anticorps antiplastine 3 pour les étapes transitionnelles entre ces deux.

Cette recherche peut se faire également par sélection négative par élimination des cellules hématopoïétiques normales par anticorps anti-CD45.

Une fois isolées, les CTC sont identifiées par cytologie, analyse biochimique ou génomique et peuvent être mises en culture pour obtenir des lignées cellulaires (157).

Malgré un nombre croissant de technologies, l'étude des CTC reste encore du domaine de la recherche. Une meilleure connaissance de leur biologie, ainsi qu'une connaissance de leur devenir lors des différents essais thérapeutiques devraient permettre d'aider à répondre à de nombreuses questions (168).

### **3.3.3 Les exosomes**

Sont des vésicules extracellulaires de 40 à150 nm provenant de l'endosome cellulaire et libérées dans la circulation sanguine. Ils contiennent de l'ADN, de l'ARN ainsi que des protéines (157).

Leur concentration dans le sang est généralement supérieure à  $10^9$  exosomes par ml de sang et la quantité totale dépend de la charge tumorale et du stade de la maladie (158).

La combinaison de certains marqueurs tels que le CD63, CD9 ou CD81 sur les vésicules peut contribuer à leur identification (157).

L'exploitation en pratique clinique en cancérologie, reste un challenge important, car on manque de marqueurs spécifiques permettant de différencier les exosomes des cellules tumorales de ceux des autres cellules (167).

## **4 Intérêts de la biopsie liquide**

La biopsie liquide représente une alternative ou une méthode complémentaire à la biopsie tissulaire dans la prise en charge du cancer pulmonaire et ceci grâce aux nombreux avantages qu'elle offre au clinicien et au patient (157).

### **4.1 Facilité du prélèvement**

L'un des avantages le plus évident est la faisabilité et la facilité du prélèvement sanguin, comparé à la biopsie tissulaire qui reste une technique invasive qu'elle soit réalisée par bronchoscopie ou par voie transpariétale (76).

Cette facilité peut permettre de procéder à un suivi tout au long du traitement et rend la biopsie liquide beaucoup plus répétable que la biopsie tissulaire (171).

#### 4.2 Alternative si mauvaise qualité de la biopsie tissulaire

Dans certaines situations en biopsie tissulaire, la qualité du prélèvement ne permet pas d'avoir assez de tissu tumoral pour avoir des résultats fiables. Aussi, le bloc tissulaire peut être épuisé suite aux nombreux tests réalisés (notamment coloration spécifique et IHC) (153).

La qualité de l'ADN peut se retrouver altérée par la fixation au formol et l'enrobage par la paraffine, ou bien lorsque le tissu provient de métastases notamment le tissu osseux (89).

L'utilisation de la biopsie liquide comme Alternative à la biopsie tumorale a été démontrée dans l'essai EURTAC, qui a démontré que la survie sans progression (PFS), la survie globale (OS) et la réponse au traitement sont corrélés au type de mutations de l'EGFR détectées grâce à la biopsie liquide (156).

#### 4.3 Meilleure représentation de l'hétérogénéité tumorale

Le tissu tumoral est hétérogène, des variations entre les cellules tumorales peuvent se présenter au sein de la tumeur et/ou bien avec les métastases (171).

Gerlinger et al. a montré que lors de l'analyse de différentes biopsies tissulaires pour une même tumeur, différentes anomalies acquises peuvent apparaître au cours du processus de carcinogénèse (173).

La biopsie liquide permet de se défaire de cette limite puisque elle permet de refléter l'ensemble du matériel génétique de la tumeur (171).

Ainsi, chez les malades atteints de CBNPC traités par des TKI de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération et en progression, environ 30 % des prélèvements tissulaire avec T790M-positifs ne sont pas détectés sur biopsie liquide et un taux similaire de résultats T790M-positifs sur biopsie liquide seraient négatifs sur tissus, rendant ces deux approches complémentaires (156).

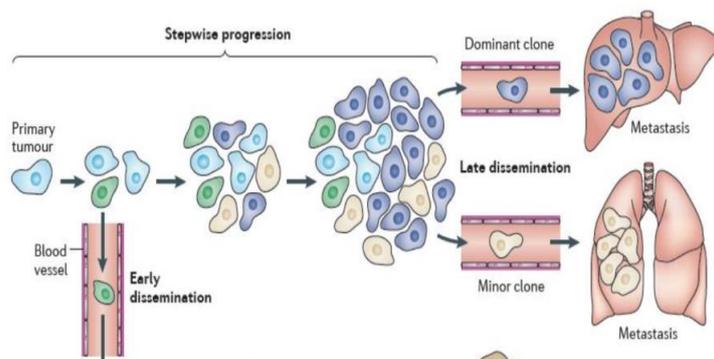


Figure 31: Illustration de l'hétérogénéité tumorale (174).

#### 4.4 Suivi tout au long du traitement et monitoring

La faisabilité de la biopsie liquide, fait en sorte qu'elle soit facilement répétable, ce qui permet de procéder au suivi pour adapter le traitement tout au long de la prise en charge du patient que ce soit dans le cadre d'une évaluation de la maladie résiduelle (MRD) ou bien dans le cadre d'une recherche de résistance qui expliquerait l'échec d'une thérapeutique notamment lorsque cette résistance peut être acquise comme dans le cas de la mutation de résistance T790M dans le CBNPC (155).

### 5 Réalisation des tests de détection des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide (ADNc)

Les tests de détection des mutations du gène de l'EGFR sont des tests dits « compagnons » ou « théragnostiques », car ils sont associés à une thérapie ciblée dont la mise en œuvre dépend de leurs résultats prédictifs de l'efficacité ou de la résistance au traitement selon les cas (87).

Un test compagnon de biologie moléculaire se déroule en trois phases :

- **une phase pré-analytique**, comprenant le prélèvement d'un échantillon, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé.
- **une phase analytique**, correspondant au processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique ; correspond à l'extraction des acides nucléiques et l'analyse par technique adaptée.
- **une phase post-analytique**, comprenant la validation, l'interprétation et la communication des résultats au prescripteur et au patient, dans un délai compatible avec la situation clinique (87).

Tout facteur influençant ces trois phases, peut affecter les résultats de recherche sur biopsie liquide. Contrairement aux idées reçues, la plupart des erreurs sont de sources pré-analytiques (46 % à 68,2 %) tandis que les erreurs en phase analytique et post-analytique correspondent respectivement à (7 % à 13,3 %) et (18,5 % à 47 %) des cas d'erreurs (175).

#### 5.1 Paramètres pré-analytiques et extraction de l'ADNc

Des paramètres généraux et spécifiques doivent être pris en considération pour l'obtention d'une quantité et d'une qualité d'ADNc optimale.

##### 5.1.1 Le Prélèvement

Une des premières difficultés à l'extraction d'ADNc est l'obtention d'une quantité élevée en ADNc tout en évitant toute contamination par l'ADN génomique des cellules sanguines.

Il est recommandé d'utiliser des aiguilles de gros calibre (gauge 21-23) pour garder les cellules sanguines aussi intactes que possible et prévenir la contamination de l'ADNc par l'ADN génomique (163).

Le sérum et le plasma ont déjà été utilisés comme sources biologiques d'ADNc, mais la coagulation augmente la libération de l'ADN et des concentrations plus élevées d'ADN génomique sont retrouvées dans le sérum que dans le plasma.

Par conséquent, l'utilisation de plasma reste préférée, puisque cela permet de minimiser la contamination par l'ADN génomique leucocytaire, optimisant ainsi la sensibilité des tests et l'homogénéité des résultats (175).

### **5.1.2 L'anticoagulant**

l'anticoagulant le plus recommandé est l'EDTA (K<sub>2</sub>EDTA) car l'héparinate de lithium inhibe les réactions de PCR (inhibition dose-dépendante) (163).

Une contamination par l'ADN génomique est possible avec les tubes EDTA s'ils sont conservés trop longtemps à température ambiante. Pour cette raison, des tubes contenant des stabilisateurs de cellules ont été développés afin d'inhiber la lyse des cellules sanguines (176).

Il est recommandé de mélanger les tubes doucement par inversion entre 8 à 10 fois et en évitant toute agitation brusque (163).

### **5.1.3 Volume sanguin à prélever**

La quantité d'ADNc est directement proportionnelle au volume de plasma utilisé et par conséquent, le volume prélevé doit être soigneusement défini, afin de garantir une quantité suffisante de plasma et par conséquent d'ADNc (155). Il est recommandé d'utiliser au moins 12ml de sang total pour la séparation de plasma (176).

L'utilisation des tubes stabilisateurs de cellules peut conduire à un volume de plasma légèrement plus faible que les tubes EDTA (163).

### **5.1.4 Délai Entre le prélèvement et la séparation du plasma**

Lorsque des tubes K<sub>2</sub>EDTA sont utilisés, la séparation du plasma doit être le plus rapide possible, avec un délai ne dépassant pas les 4 heures (176), jusqu'à 6 heures (155).

Si la séparation du plasma doit être retardée, le prélèvement peut être conservé dans des tubes K<sub>2</sub>EDTA à 4 °C jusqu'à maximum un jour. Si la recherche moléculaire concerne l'ADNc d'origine mitochondrial, la conservation à 4 °C doit être évitée car elle augmente la libération d'ADN des éléments plaquettaires (163).

Si des tubes avec agent stabilisant les cellules (tube Streck\*, tube PAXgene\*, Tube Roche cell free DNA\*) sont utilisés, le délai de séparation de plasma peut aller jusqu'à 5 à 7 jours à des températures comprises entre 10 °C à 30 °C (163) (177).

## 5.1.5 Préparation du plasma

### 5.1.5.1 Séparation du plasma

Lo et al. et Chiu et al. ont proposé une procédure de séparation du plasma en 2 étapes. La première étape correspond à la méthode conventionnelle, consistant en une centrifugation du sang total à basse vitesse (1600 g pendant 10 min) pour concentrer les cellules sanguines dans le culot, puis une deuxième centrifugation à vitesse plus élevée (16000 g pendant 10 min) pour éliminer les organites cellulaires et les débris (163) (176).

Plusieurs méthodes ont été proposées, notamment par une double centrifugation à 2000g pendant 10 minutes, ou par centrifugation répétée à 1350g pendant 12 minutes suivie d'un stockage à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'analyse (176).

Mais la méthode la plus utilisée consiste en une première centrifugation à 800 à 1200g à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes et une deuxième centrifugation à 14000 à 16000g à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes (178).

Lors de la récupération du plasma, il est recommandé de s'éloigner de la couche leucocytaire. Les conséquences de l'utilisation du Ficoll sur de l'ADNc ont été peu étudiés et donc son utilisation est peu recommandée (163).

Il est recommandé d'effectuer ces 2 étapes de centrifugation consécutivement. Toutefois, d'autres études n'ont pas retrouvé d'impact significatif lorsque la deuxième étape est effectuée après conservation du plasma à  $-20^{\circ}\text{C}$  ou  $-80^{\circ}\text{C}$  (178).

### 5.1.5.2 Contrôle de qualité du plasma

Toute trace d'hémolyse visible sous la forme d'une couleur orange ou rouge du plasma et peut correspondre à une lyse cellulaire (163).

Le plasma ictérique peut être caractérisé par une couleur jaune ou verte intense, dérivant d'un excès de bilirubine. Il a été constaté une inhibition possible avec la réaction de PCR en utilisant l'ADNc extrait du plasma de patients ictériques (179).

De faibles concentrations d'ADNc ont été obtenues lors d'extraction à partir de plasma opaque ou trouble. Cela peut être dû à la présence de triglycérides après un repas trop gras, ce qui pourrait diminuer le rendement de la méthode d'extraction de l'ADNc (163).

Le contrôle de qualité du plasma est important. Les échantillons peuvent être contrôlés visuellement et ce contrôle de qualité peut être effectué après la première ou la deuxième étape de centrifugation de la préparation de plasma, bien que ces observations n'aient pas été étayées par des statistiques (en raison de la très faible fréquence de ces plasmas anormaux), il est néanmoins recommandé que les échantillons de plasma hémolysé, ictérique ou opaque ne soient pas traités à moins que le prélèvement sanguin ne puisse pas être refait (175).

### 5.1.5.3 Conservation du plasma

L'ADNc est soumis à une sorte d'homéostasie dans la circulation sanguine, où la quantité d'ADNc détectée dépend de l'équilibre entre le niveau de libération et de dégradation. Cette dégradation se poursuit dans le plasma *ex vivo*, et un refroidissement immédiat à 4 °C puis une congélation sont nécessaires pour minimiser l'activité des nucléases (178).

Il y a eu plusieurs études sur la stabilité de l'ADNc dans le plasma à -20 °C ou -80°C dont certains résultats peuvent être incohérents (163) (176) (178), puisque la durée de conservation à long terme dépend des objectifs cliniques et analytiques (163).

Des études ont démontré qu'il est possible, pour la recherche d'une séquence d'ADN spécifique, de congeler le plasma à -80 °C jusqu'à 10 ans (163). Toute fois, une conservation de plus de 3 ans peut entraîner une réduction de la concentration de l'ADNc (176).

L'étude de El Messaoudi S, et al, a révélé que la concentration d'ADNc était stable dans du plasma congelé pendant au moins 09 mois à -20 °C ou -80 °C (178).

Raison pour laquelle une durée de conservation de 9 mois est retenue pour une analyse quantitative de l'ADNc (163).

### 5.1.6 Extraction de l'ADNc

L'ADNc est souvent présent à de faibles concentrations dans le plasma, sachant que cet ADNc est souvent fixé aux constituants biologiques et mélangé à des concentrations élevées de protéines (170).

Selon les objectifs cliniques, le choix de la méthode d'extraction impliquera plusieurs facteurs : l'efficacité de l'extraction de l'ADNc de faible poids moléculaire, la pureté requise, la répétabilité, la reproductibilité, le temps nécessaire pour l'extraction et le coût de la méthode d'extraction (178).

Diverses méthodes d'extraction d'ADNc existent, mais les kits commerciaux d'extraction prêts à l'emploi semblent être une bonne solution pour l'application en routine. L'utilisation de ces kits (avec ou sans automatisation) est souvent nécessaire pour assurer une homogénéité analytique, un bon rendement, une rapidité et une facilités de l'extraction de l'ADNc (177).

Actuellement, les méthodes les plus utilisées sont basées soit sur l'utilisation de membrane de silice, les billes magnétiques ou bien les deux en même temps (163).

Des différences d'efficacité entre les différents kits peuvent exister. La principale raison de cette différence est liée à la taille du fragment d'ADNc (179).

La nature des réactifs utilisés lors de l'extraction doit aussi être prise en considération, en effet certaines méthodes d'extraction utilisent l'éthanol dont les traces résiduelles peuvent inhiber la polymérase et ainsi le déroulement de la PCR. Ce ci ne contredit pas son utilisation mais une étape de séchage efficace est dans ce cas nécessaire (155).

### **5.1.7 Contrôle de qualité de l'extraction**

Il est recommandé d'effectuer un contrôle de qualité de l'extrait d'ADNc avant son utilisation par une évaluation de la quantité et du niveau de fragmentation (163).

Une lecture rapide et précise de la concentration et de la pureté de l'ADN peut être effectuée en utilisant la spectrométrie en mesurant l'absorbance à 260 nm et le rapport d'absorbance 260/280 nm (178).

L'utilisation du NanoDrop® pour mesurer la concentration d'ADNc permet la préservation de ce dernier. Cependant, la mesure de l'absorbance est principalement limitée aux concentrations d'ADN double brin dont la concentration est supérieure à 2 ng/μL (seul le Thermo Scientific™ Nano-Drop™ One® peut aller à des concentrations de 0,2 ng/μL d'ADN double brin) (163).

La quantification par fluorimétrie (en utilisant le Qubit®) est l'option préférée pour l'analyse des échantillons avec une concentration relativement faible d'ADNc (180).

L'utilisation de TapeStation® permet la quantification fluorimétrique mais aussi de déterminer la taille des fragments d'ADNc (181).

Ces méthodes décrites ci-dessus, sont considérées comme simples, rapides et peu coûteuses (176).

Les méthodes basées sur la qPCR (PCR quantitative) et de digital droplet PCR (ddPCR), permettent d'obtenir des niveaux de sensibilité et de spécificité plus élevés lors de la détermination de la concentration d'ADNc (181).

### **5.1.8 Conservation de l'extrait d'ADNc**

Une fois l'ADNc pur obtenu, il est beaucoup moins sensible à la dégradation que l'ADNc au niveau du plasma, et les recommandations pour la conservation des extraits d'ADNc rejoignent celles des extraits d'ADN génomique, même si, la fragmentation élevée spécifique à l'ADNc pourrait entraîner une sensibilité accrue à la dégradation (176).

En général, la dégradation de l'ADN augmente avec la dilution, la durée de conservation et les cycles de congélation-décongélation répétés. Il est recommandé que les extraits soient congelés dans des tubes en polypropylène à -20 °C ou -80 °C, et qu'ils ne subissent pas plus de 3 cycles de congélation-décongélation (163).

L'étude d'El Messaoudi S, et al, a révélé que La concentration moyenne de l'extrait d'ADNc semble diminuer légèrement après 03 mois de conservation à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Néanmoins, une plus grande diminution de la concentration a été observée au niveau du plasma congelé par rapport aux extraits congelés d'ADNc. Selon cette même étude la conservation de l'extrait d'ADNc est possible jusqu'à 09 mois à  $-20^{\circ}\text{C}$  ou  $-80^{\circ}\text{C}$  pour la recherche d'une séquence spécifique, et jusqu'à 03 mois à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour la quantification et la mesure de la fragmentation de l'ADNc (178).

En résumé, la durée possible de conservation d'ADNc dépendra certes des conditions de conservations mais aussi de son application clinique et des utilisations possibles (163) (178).

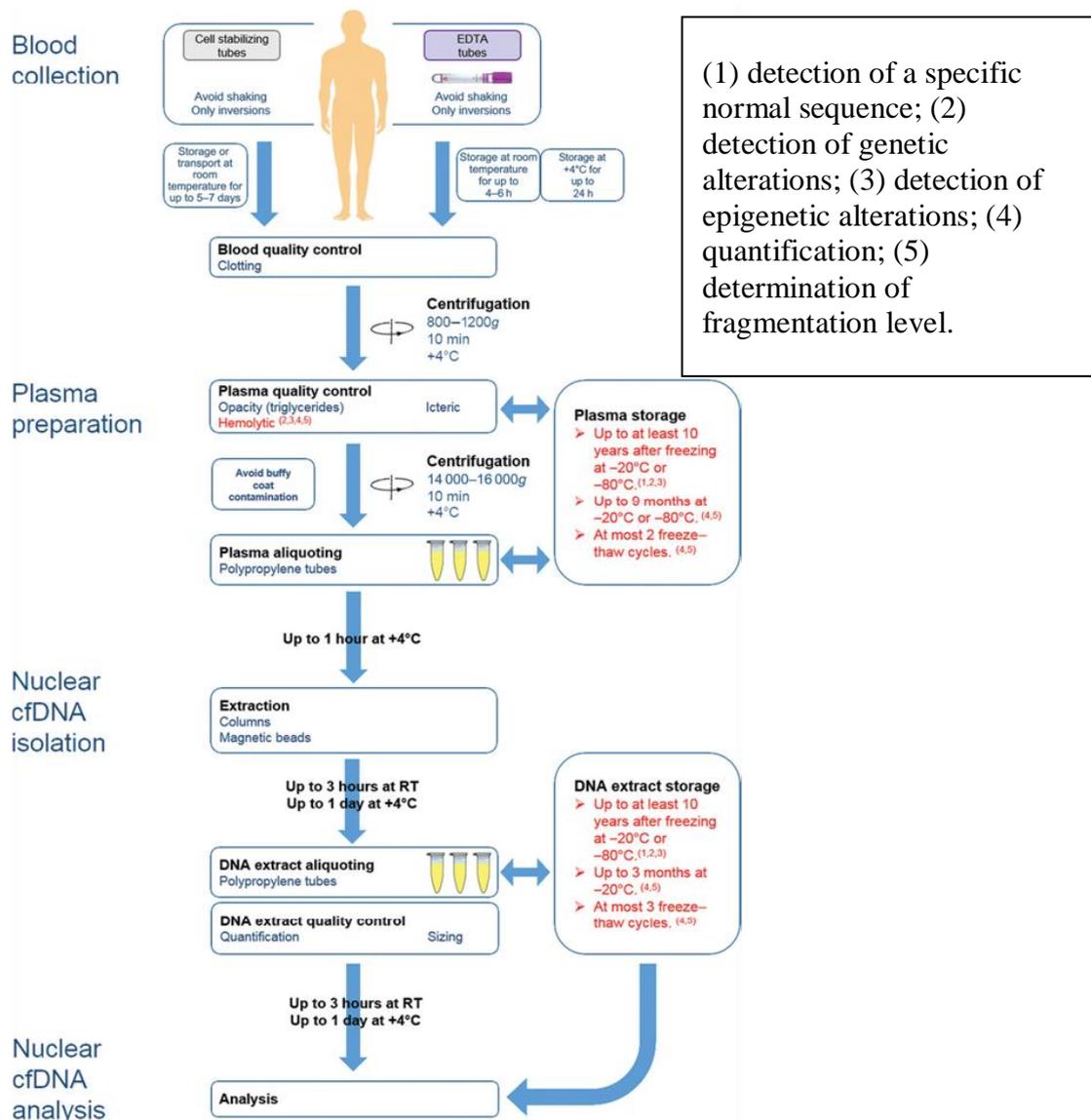


Figure 32: Les différentes étapes pour l'obtention de l'ADNc (163)

## 5.2 Variables analytiques influençant la recherche des mutations sur biopsie liquide

### 5.2.1 Les faux négatifs

De nombreux patients, même atteints d'un cancer à des stades très avancés, peuvent présenter de faibles taux d'ADNct dans leur plasma. L'incapacité à détecter un variant (mutation) lors d'un essai peut être due à l'absence du variant recherché (un vrai négatif) ou à de faibles taux d'ADNct qui empêchent la détection du variant (un faux négatif).

De nombreux facteurs doivent être pris en compte dans l'éventualité d'un résultat faussement négatif, tels que la quantité d'ADNc analysée et la sensibilité de la technique, qui peut même varier selon les différents types d'altérations recherchées.

Ainsi, une technique qui détecte les mutations, les petites insertions ou les délétions avec une sensibilité élevée peut avoir une sensibilité plus faible pour la détection des variations du nombre de copies ou des fusions de gènes (155).

L'interprétation des résultats des essais basés sur l'ADNc doit toujours tenir compte de la possibilité que le plasma ne contienne pas des niveaux suffisants d'ADNct pour détecter différents types de mutations (182).

### 5.2.2 Les Faux positifs

L'ADNc provient aussi en grande partie des cellules hématopoïétiques et des clones cellulaires hématopoïétiques peuvent entraîner des résultats faussement positifs lors de l'utilisation de l'ADNct. Le nombre de ces clones hématopoïétiques au potentiel indéterminé appelés CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) augmente avec l'âge, les traitements anticancéreux reçus et le tabac (155).

Ces CHIP sont source de variants somatiques de gènes courants chez les cellules souches hématopoïétiques vieillissantes et leur présence est associée à un risque plus élevé d'hémopathies malignes ultérieures, de maladies cardiovasculaires, et éventuellement à un pronostic défavorable dans les cancers avancés (183).

Ces gènes mutés des CHIP peuvent se chevaucher partiellement avec les oncogènes des tumeurs solides. Il a été démontré que les variants CHIP sont détectables au sein de l'ADNc et pourraient conduire à des faux positifs notamment avec les gènes suppresseurs de tumeurs (comme TP53) ou les gènes associés à la réparation de l'ADN (exemple ATM) notamment chez les patients atteints de cancer avancé de la prostate, du poumon et du sein (184).

Des CHIP avec des altérations moléculaires responsables de faux positifs des mutations de l'EGFR dans le CBNPC et des mutations PIK3CA et ESR1 dans le cancer du sein non pas été décrites et donc sont qualifiés de « peu probable ». D'autres mutations, comme les mutations du gène KRAS, peuvent être détectés dans les CHIP,

mais avec une faible incidence, chez les patients atteints de cancer colorectal ou de CBP (155).

Ces faux positifs peuvent être facilement identifiés grâce au séquençage de l'ADN génomique, ou minimisés par le séquençage apparié d'un échantillon de tissu tumoral, bien que la grande majorité des techniques actuellement utilisées pour un usage clinique n'analysent que l'ADNc d'origine plasmatique. Ainsi, de nouvelles approches impliquant l'apprentissage automatique (machine learning) sont actuellement à l'étude afin d'éviter l'analyse concomitante de l'ADN génomique qui pourrait être fastidieuse (156).

## 6 Techniques de biologie moléculaire appliquées à la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide

La sensibilité analytique d'une méthode de détection de l'ADNct est exprimée par la MAF/VAF (fraction d'allèles mutants/variant) qu'elles sont capables de détecter. Par exemple, un VAF de 10% correspond à de 1 copie ADNct détecté pour 10 copies d'ADNc génomique (type sauvage). (158)(91)

L'analyse peut être ciblées sur certaines régions génomiques ou non. Dans l'approche ciblée, une seule ou quelques mutations spécifiques de la tumeur sont utilisées ce qui nécessite des informations détaillées sur l'altération recherchée. C'est une approche extrêmement sensible car ces mutations peuvent être détectées à une VAF de 0,01 %, avec une grande spécificité et avec un rythme rapide et rentable (185).

Dans l'approche non ciblée, on réalise une analyse de l'ensemble d'une région génomique à la recherche d'altération par séquençage (186).

Actuellement, deux grands types de technologies sont utilisées pour la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide, celles basées sur la PCR de séquence ciblée (essentiellement la PCR en temps réel ou quantitative (qPCR) et PCR digitale (dPCR)) et celles basées sur le séquençage de nouvelle génération (NGS) (170).

**Tableau 8: Avantage et inconvénients des différentes techniques de biologie moléculaire appliquées à la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide (158).**

Méthodes	Avantages	Inconvénients
qPCR	Rapide, peu coûteux, spécificité élevée	Sensibilité faible, ne détecte que les mutations ponctuelles connues
dPCR	Sensibilité et spécificité élevées	Coûteuse, ne détecte que les mutations ponctuelles connues
NGS	Analyse à haut débit, détection de mutations inconnus, structurelles et du nombre de copies	Sensibilité variable, Coûteuse

Étant donné que les concentrations d'ADNct varient considérablement et peuvent représenter moins de 0,01 % de l'ADNc, les techniques de détection doivent avoir une sensibilité élevée pour détecter les altérations moléculaires, les valeurs les plus couramment observées varient de 15% à 0,01 % . Certaines techniques ou variantes des techniques standards permettent d'atteindre ces seuils de sensibilité comme la PCR ARMS (système d'amplification réfractaire aux mutations), la PCR digitale droplet (ddPCR), les techniques de BEAMing (billes, émulsions, amplification et magnétisme) et certaines variantes du NGS. Les recherches basées sur l'ADNct doivent avoir une spécificité élevée (104).

## 6.1 PCR en temps réel

La PCR en temps réel est une méthode d'amplification des acides nucléiques (ADN ou ARN) qui permet d'enrichir un fragment d'ADN spécifique de longueur définie tout en suivant en temps réel l'amplifiant de l'allèle muté et l'allèle sauvage grâce à des sondes nucléiques spécifiques marquées avec des molécules fluorescentes (170) .

la PCR en temps réel est une méthode largement utilisée pour l'analyse de l'ADN, qui permet également la semi-quantification des échantillons : PCR quantitative (qPCR). La PCR peut être multiplexe c'est-à-dire qu'elle utilise plusieurs amorces s'hybridant à différentes séquences cibles. Cela permet l'analyse simultanée de plusieurs cibles dans un seul échantillon (187).

C'est une technique rapide, peu coûteuse mais peut manquer de sensibilité (VAF peut être supérieur à 10 %) et ne peut détecter qu'un nombre limité de variants connus.

Cependant, pour surmonter cette faible sensibilité, plusieurs variations basées sur la PCR ont été développées tel que la PCR spécifique d'allèles (AS-PCR) dont le seuil de détection atteint le 1% (158).

Plusieurs études ont démontré que les mutations détectées dans le plasma présentent une forte concordance (entre 60 et 90 % ) avec celles détectées dans les tissus chez les patients atteints de CBNPC (188). Par exemple, dans l'étude ASSESS, la concordance globale du statut mutationnel était de 89 % (187).

Plusieurs kits commerciaux de qPCR sont approuvés par la FDA et l'EMA pour la recherche des mutations du gène EGFR (activatrice ou bien de résistance) sur biopsie liquide dans le CBNPC (170), dont Les plus utilisés restent, le test Cobas® EGFR mutation v2 (Roche, Bâle, Suisse) et le TheraScreen® EGFR plus RGQ PCR Kit (Qiagen, Hilden, Allemagne) (156).

## 6.2 PCR digitale

Cette technique est plus sensible qu'une qPCR. La PCR digitale en gouttelettes (Digital Droplet PCR- ddPCR) est l'une des approches standards actuelles utilisées pour la détection des mutations avec des seuils de détection inférieurs à 0,1 % (158).

Dans la ddPCR, une émulsion d'échantillon est fractionnée dans de l'huile en plusieurs milliers de gouttelettes, sur lesquelles une PCR est ensuite réalisée dans les compartiments individuels d'une plaque de microtitration (189).

La dPCR permet de détecter même des événements mutationnels rares et de les quantifier au niveau d'une seule molécule, elle constitue la référence pour la quantification absolue de l'ADNct (170).

**Tableau 9: Sensibilité des Méthodes utilisées en recherche clinique pour la détection d'altérations moléculaires. \*La sensibilité de la qPCR en temps réel est dépendante du type de test utilisé (119)**

Méthode de détection	Sensibilité
Séquençage par la méthode Sanger	> 10 %
Pyroséquençage	5-10 %
High resolution melting (HRM)	5 %
Séquençage nouvelle génération	2 %
qPCR en temps réel*	1-10 %
BEAMing, PCR digitale	< 0,01 %

La technique du BEAMing a encore permis l'amélioration de la sensibilité de la dPCR en utilisant des séquences d'ADN liés à des billes magnétiques permettant d'atteindre ainsi des seuils de détection compris entre 0,01 et 0,1% avec un taux de concordance de 90% entre le tissu tumoral et l'ADNc (158).

Dans l'étude AURA, la dPCR semblaient détecter un nombre plus élevé de mutations T790M par rapport aux autres techniques. Cependant, la comparaison entre plateformes a montré que le test de mutation Cobas EGFR\* et le BEAMing dPCR avaient des résultats fortement concordants, avec une sensibilité élevée (73–81 %) pour la détection de la mutation T790M et une spécificité comprise entre 58 et 67 % (185).

### 6.2.1 Le Séquençage de nouvelle génération (NGS)

Le séquençage de nouvelle génération « next-generation sequencing » (NGS) est une méthode qui permet une analyse génomique à haut débit (186).

Sa sensibilité est variable selon la technologie utilisée, ainsi la limite de détection peut aller de 0,001 à 2 % et présente l'avantage de pouvoir détecter même des altérations génétiques inconnues en utilisant de petits fragments d'ADN (170).

Le NGS est basé sur l'analyse simultanée de plusieurs millions de courtes séquences d'ADN en parallèle, suivie soit d'un alignement de séquences sur un génome de référence, soit d'un assemblage de données des séquences. Cette technologie nécessite une étape pré-analytique et une analyse bio-informatique plus complexe que les autres méthodes (158).

Jusqu'à présent, seules les approches NGS basées sur la capture par hybridation (hybrid capture) et la capture par amplicon (PCR capture) sont régulièrement utilisées dans les tests de routine en IVD (190).

Le séquençage profond associé à un séquençage ciblé permet aujourd'hui une grande sensibilité de détection des variants alléliques, allant jusqu'à une résolution de 0,005 % (157).

Bien que la sensibilité et la spécificité peuvent être élevées, le NGS présente un taux d'erreur aléatoire élevé compris entre 0,1 % et 1 % selon la plateforme utilisée, ce qui peut rendre difficile la détection des mutations rares (<1% dans l'ADNc) (158).

Les résultats obtenus par le NGS, ont un délai de rendu plus long que celui de la qPCR ou la ddPCR, qui peut aller de 1 à 2 semaines (170).

## 7 Mutations de l'EGFR recherchées dans le cadre d'un CBNPC

-Dans le CBNPC ont compte plus de 200 différentes mutations de l'EGFR (89). Il est recommandé de rechercher au moins toute mutation de l'EGFR dont la fréquence est supérieure à 1% (104).

Ce ci correspond essentiellement aux délétions<sup>19</sup>, les mutations ponctuelles L858R, L861R, L861Q, G719X, S768I, C797S, T790M et les insertions de l'exon 20 (118).

Les insertions de l'exon 20 (autres que EGFR p.T790M) forment un groupe hétérogène, Il existe actuellement des preuves sur le manque de sensibilité de certaines de ces mutations au TKI (56) (57).

Pour ces raisons, Il est recommandé actuellement de rechercher ces mutations par NGS vu que la PCR pourrait ne pas détecter certains variants (57).

## 8 Délai de rendu des résultats

-Le délai de rendu idéal recommandé pour les résultats de l'analyse moléculaire est de **7 jours à partir du diagnostic anatomopathologique, avec un maximum de 14 jours** (148).

Sachant que normalement le délai de rendu du diagnostic anatomopathologique est lui-même recommandé à 7 à 10 jours (56).

Pour les analyses en NGS, le délai de rendu ne doit pas excéder 3 semaines calendaires (148).

# Chapitre IV : prise en charge thérapeutique du CBNPC

La conduite thérapeutique devant un CBNPC dépend du sous type histologique de la tumeur, des marqueurs moléculaires, de son extension loco-régionale et à distance mais aussi des antécédents, de l'état général et de l'opérabilité du patient (56).

## 1 Armes thérapeutiques utilisées dans le CBNPC

### 1.1 La Chirurgie

Constitue un traitement qui peut garantir une rémission complète d'un CBP, mais son indication est limitée aux stades précoces Stade I, II et éventuellement IIIA, tout en prenant en compte l'opérabilité du patient ce qui représentent moins de 20% de l'ensemble des malades (21) (145).

Elle consiste en une résection large associée à un curage ganglionnaire systématique en fonction du volume et du siège de la tumeur (145).

### 1.2 La Radiothérapie

Constitue un traitement locorégionale, elle peut être complémentaire à une chirurgie dans le cadre d'un traitement adjuvant ou associée à une chimiothérapie dans les formes localement avancées (21).

La radiothérapie délivrant de 60 à 66 Gy avec un fractionnement conventionnel à 2 Gy par fraction, concomitante à une chimiothérapie à base de sels de platine suivie ou non d'une immunothérapie de consolidation, est le traitement standard actuel des CBNPC de stade III inopérables (191).

Dans les stades avancés : elle peut être indiquée dans les métastases cérébrales et pour le contrôle des symptômes des métastases, telles que la maladie douloureuse de la paroi thoracique et les métastases osseuses douloureuses (145).

### 1.3 Traitements pharmacologiques

#### 1.3.1 La chimiothérapie

Elle trouve ses indications dans le CBNPC quel que soit le stade de la maladie, en situation néoadjuvante, adjuvante, en palliatif, en concomitant ou en séquentielle à la radiothérapie (56).

La chimiothérapie cytotoxique reste la base du traitement de la grande majorité des patients pour lesquels il n'existe pas d'addiction oncogénique accessible à un traitement spécifique, après progression à un traitement spécifique d'une addiction oncogénique et /ou en cas de contre-indication d'une immunothérapie (7).

Les sels de platine, Cisplatine ou Carboplatine en association à d'autres molécules dites de troisième génération (vinorelbine, docetaxel, paclitaxel, gemcitabine ou

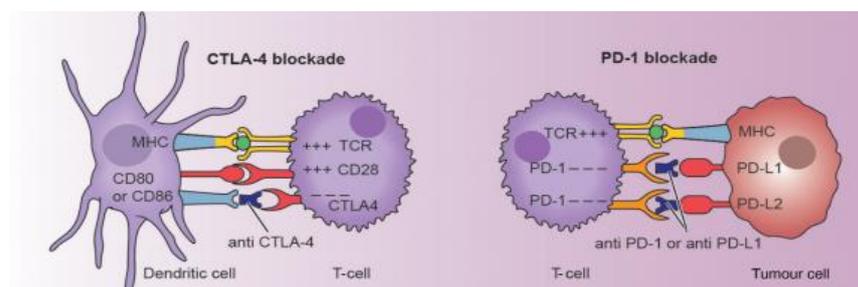
pemetrexed si histologie non épidermoïde) ont longtemps constitués les protocoles de référence dans traitement du CBNPC notamment pour les stades avancés (192).

### 1.3.2 L'Immunothérapie

L'avènement de l'immunothérapie a révolutionné le traitement et la survie des cancers réputés immunogènes comme le mélanome et le cancer du rein. En ce qui concerne le CBP, les premières molécules d'immunothérapie développées étaient des vaccins. Plusieurs d'entre eux (antiMAGEA3, anti BLP25, belagenpumatucell) ont même fait l'objet d'études de phase III qui se sont toutes avérées négatives (101).

Toute fois, le développement des inhibiteurs de points de contrôle immunitaires (check points inhibiteurs) a modifié la stratégie thérapeutique des patients atteints de CBP notamment ceux ne présentant pas d'addiction oncogénique. Parmi ces inhibiteurs de points de contrôle immunitaires, on retrouve: les antiCTLA4, les antiPD 1 et les antiPDL1 (193).

En 1<sup>ère</sup> ligne, L'immunothérapie trouve son indication dans le CBNPC sans addiction oncogénique. Pour les CBNPC avec addiction oncogénique, notamment avec mutations activatrices de l'EGFR, la place de l'immunothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne après progression sous TKI anti EGFR et en absence de mutation de résistance T790M, ne fait pas consensus (56).



**Figure 33: Mécanisme d'action des Check point inhibiteurs (194)**

#### 1.3.2.1 Les Anti CTLA 4« cytotoxic T lymphocyte antigen 4 »

Le CTLA-4 est une molécule exprimée par les LTC activés par les cellules présentatrices d'antigène en présence d'antigènes tumoraux. L'augmentation de l'expression du CTLA-4 est un des mécanismes d'échappement des cellules tumorales au système immunitaire. L'**Ipilimumab** est un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre le CTLA-4 développés dans le traitement de plusieurs cancers.

Dans une étude préliminaire chez des patients atteints de CPNPC à un stade avancé, la survie globale médiane avec Nivolumab plus Ipilimumab était de 17,1 mois contre 14,9 mois pour la chimiothérapie (101).

Dans l'étude CheckMate 227, les patients atteints de CPNPC à un stade avancé ayant reçu du Nivolumab, associé à de l'Ipilimumab en première ligne pendant au moins quatre ans, ont continué à montrer une efficacité durable à long terme, même après avoir cessé l'immunothérapie depuis au moins deux ans. Le taux de survie à quatre

ans avec nivolumab plus ipilimumab était de 29 %, contre 18 % pour la chimiothérapie (109).

### 1.3.2.2 Les Anti PD-1 et anti PD-L1

Pour « programmed cell death 1 » et « programmed cell death-Ligand 1 ».

Le PD-1 et sont ligand le PD-L1, exercent des effets immunomodulateurs par leur liaison. Des études ont démontré que l'expression de PD-L1 est élevée dans divers cancers, y compris le CPNPC, et que cela est associé à un mauvais pronostic (195).

#### 1.3.2.2.1 Le Nivolumab

Est un anticorps monoclonal anti PD-1 a été étudié dans plusieurs essais ouvert (CheckMate 057, CheckMate 026, CheckMate 017) , les résultats ont montré que le Nivolumab améliore la survie globale et présente un meilleur profil de tolérance que celui de la chimiothérapie.

Ainsi, une analyse combinée des études CheckMate 017 et CheckMate 057 a révélé que les taux de survie globale à cinq ans pour le nivolumab comparé au docétaxel étaient de 13,4 % contre 2,6 %, et que les taux de survie sans progression (SSP) à cinq ans pour le Nivolumab comparé au Docétaxel étaient de 8,0 % contre 0 % respectivement. le Nivolumab a entraîné une réduction de 28 % du taux de mortalité par rapport au Docétaxel, et ses effets indésirables étaient également moins fréquents que ceux du Docétaxel (109).

L'intérêt de la mesure de l'expression de PDL1 à la surface des cellules tumorales comme facteur prédictif d'efficacité du Nivolumab a été évalué. Dans les adénocarcinomes l'efficacité du Nivolumab était supérieure chez les patients avec expression tumorale de PDL1 quel que soit le seuil de positivité choisi (196).

Toute fois, le seuil de 1% pour une utilisation en 2<sup>ème</sup> ligne n'est pas retenu comme est le cas pour le Pembrolizumab (197).

#### 1.3.2.2.2 Le Pembrolizumab

Est un autre anti-PD 1, lui aussi a démontré une efficacité remarquable dans le CBNPC (195).

L'étude KEYNOTE-001 a rapporté une survie globale médiane de 22,3 mois chez les patients n'ayant jamais été traités et de 10,5 mois chez les patients ayant déjà reçu un traitement. L'étude KEYNOTE-024 a permis au Pembrolizumab d'être utilisé comme un traitement de première ligne en monothérapie pour les patients atteints de CPNPC avancé avec un score de PD-L1  $\geq 50$  % (109).

Un taux de PDL-1 supérieure à 1% est retenu pour une utilisation en monothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne dans le CBNPC (197).

#### 1.3.2.2.3 L'Atezolizumab

Est un Ati PDL-1, a été étudié dans l'essai POPLAR, qui a inclus 287 patients atteints de CPNPC avancé ayant progressé sous une chimiothérapie à base de sels de platine, le groupe traité avec l'Atezolizumab a montré une survie globale médiane meilleure de 12,6 mois par rapport au groupe Docétaxel, dont la survie globale médiane était de 9,7 mois (198).

L'étude multicentrique OAK a démontré l'efficacité et la sécurité de l'Atezolizumab. La survie globale médiane de l'Atezolizumab dans cette étude était de 13,8 mois contre 9,6 mois pour le Docétaxel. Les patients traités avec l'Atezolizumab ont présenté moins d'effets indésirables de grade 3 ou 4 par rapport aux patients traités avec le Docétaxel. En 2020, l'étude IMpower110 a démontré l'efficacité de l'Atezolizumab comme traitement de première ligne du CPNPC avec expression de PD-L1, quel que soit le type histologique (109).

Un seuil d'expression du PDL-1 pour une utilisation en monothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne n'est pas retenu (199).

### 1.3.3 La Thérapie ciblée

On distingue d'une part les **antiangiogéniques** dont l'utilisation ne nécessite pas un profil moléculaire, et d'autre part les **Inhibiteurs des signaux de prolifération** (101).

#### 1.3.3.1 Les antiangiogéniques

Nombreuses molécules antiangiogéniques ont été développées pour le traitement des tumeurs solides dont le CBP. Parmi ces molécules, certaines sont des anticorps monoclonaux ciblant le VEGF, le VEGFR ou des composantes de la membrane cellulaire (200).

##### 1.3.3.1.1 Le Bévacicumab

Est un anticorps monoclonal ciblant le VEGF (facteur clé de la de l'angiogenèse) et a été pendant longtemps le seul antiangiogénique validé dans le traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) (201).

Il a d'abord été étudié en première ligne en association avec la chimiothérapie : Deux études de phase III (ECOG 4599 et AVAiL) ont évalué la combinaison du Bévacicumab à une chimiothérapie standard versus chimiothérapie seule pour les stades avancés. Ces deux études ont permis au Bévacicumab l'obtention d'une AMM en première ligne thérapeutique des CBNPC de stade avancé non épidermoïdes en association avec un doublet de chimiothérapie à base de sel de platine (101).

le Bévacicumab est aussi validé en traitement de maintenance chez les patients atteints de CBNPC avancé ne progressant pas après une première ligne thérapeutique associant un doublet de chimiothérapie à base de sel de platine et du Bévacicumab (201).

##### 1.3.3.1.2 Le Ramucirumab

Est un anticorps monoclonal humanisé ciblant le VEGFR2. A été étudié en association avec une chimiothérapie de type Docétaxel en chez les patients atteints de CBNPC de stade IV en deuxième ligne thérapeutique, tous types histologiques confondus. L'ajout du Ramucirumab a permis un allongement significatif de la SG de manière significative (202).

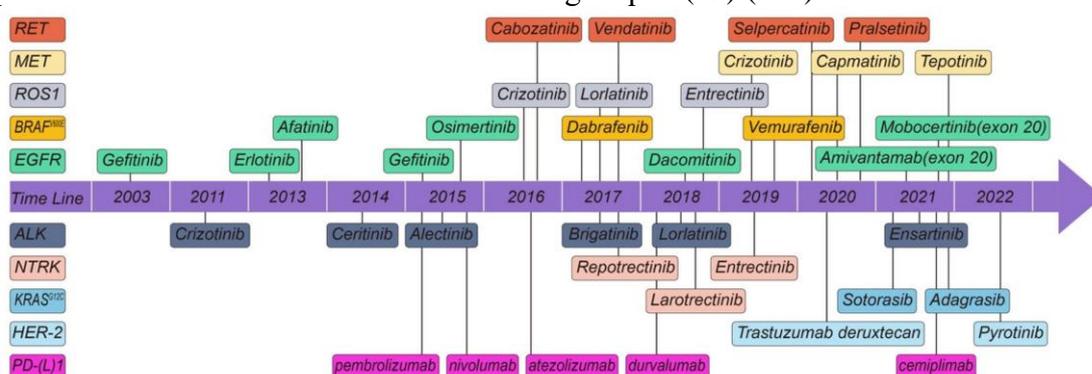
À l'heure actuelle, aucun biomarqueur prédictif de l'efficacité des antiangiogéniques n'a pu être identifié pour améliorer l'efficacité et la sélection des patients recevant ces traitements (101).

### 1.3.3.2 Inhibiteurs des signaux de prolifération

La découverte d'anomalies moléculaires des cellules tumorales du CBNPC jouant un rôle d'addiction oncogénique a modifié considérablement la prise en charge de ces tumeurs (7).

Actuellement, il existe plusieurs molécules qui ciblent ces anomalies moléculaires du CBNPC et qui sont devenues des traitements standards des patients atteints de CBNPC aux stades avancés(101).

Au point que la prise en charge du CBNPC est classée actuellement en fonction de la présence ou bien l'absence d'addiction oncogénique (89) (145).



Plusieurs mutations ont été découvertes depuis, et plusieurs TKI développés qui sont actuellement classés en Générations :

- **1<sup>ère</sup> génération:** Gefitinib, Erlotinib
- **2<sup>ème</sup> génération:** Afatinib, Dacomitinib
- **3<sup>ème</sup> génération:** Osimertinib (9), Lazertinib et Almonertinib, (en chine et Corée) (89).
- **4<sup>ème</sup> génération :** toujours en phase de développement (118).

**Tableau 10: Différentes générations des TKI anti-EGFR dans le CBNPC (118)**

Class	Drugs	Clinical Trial	Approval	CSF Concentration	EGFR Sensitizing Mutations	EGFR Binding
First generation	Gefitinib	NCT01203917	FDA/EMA approved	Low	Del19/L858R	Reversible Competitive
	Erlotinib	NCT00446225	FDA/EMA approved			
	Icotinib	NCT01040780	Approved in China			
Second generation	Afatinib	NCT01466660	FDA/EMA approved	Low	Del19/L858R/T790M	Irreversible Covalent
	Dacomitinib	NCT01774721	FDA/EMA approved			
Third generation	WZ4002	NA	Preclinical	NA	Del19/L858R/T790M	Irreversible Covalent
	Rociletinib	NCT01526928	Rejected	Low		
	Osimertinib	NCT02296125	FDA/EMA approved	High		
	Lazertinib	NCT03046992	Approved in South Korea	High		
	Olmotinib	NCT01588145	Approved in South Korea *	NA		
	Avitinib	NCT02330367	Phase I/II (Active)	Low		
	Nazartinib	NCT02108964	Phase I/II (Active)	NA		
	Mavelertinib	NCT02349633	Phase I/II (Terminated)	NA		
	Naquotinib	NCT02588261	Phase III (Terminated)	NA		
	Almonertinib	NCT02981108	Approved in China	Effective in patient with BM		
Alflutinib	NCT03127449	Approved in China				
Fourth generation	EAI001	NA	Preclinical	NA	L858R/T790M/C797S	Reversible Allosteric
	EAI045	NA	Preclinical	NA		
	JBj-09-063	NA	Preclinical	NA		
	BLU945	NCT04862780	Phase I/II (Recruiting)	NA	Del19/L858R/T790M/C797S	Unknown
	BBT176	NCT04820023	Phase I/II (Recruiting)	NA		
	TQB3804	NCT04128085	Phase I (Unknown)	NA		

## 2.1 TKI anti EGFR de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération

Ces molécules améliorent la RO (réponses objectives) et de la SSP (survie sans progression) par rapport à la chimiothérapie quelque soit l'âge, sexe, statut tabagique et le PS (performance statut).

L'étude IPASS (Iressa Pan-Asia Study) par Mok en 2009 est la première grande étude en Asie à avoir évalué la survie sans progression de deux groupes randomisés, un traité par **Gefitinib** et l'autre par carboplatine+ paclitaxel.

Les résultats montrent une SSP meilleure par Gefitinib chez les patients EGFR muté que chez les patients EGFR non muté (205).

**Tableau 11: Etudes évaluant les TKI antiEGFR de 1ère et 2ème génération versus chimiothérapie (101)**

Études	Race	Nombre de patients avec une mutation d'EGFR	Résultats ITK d'EGFR versus chimiothérapie			
			ITK d'EGFR	Type de chimiothérapie	TRO (%)	SSP (mois)
IPASS [20]	Asiatiques	261	Géfitinib (n=132)	Carboplatine/paclitaxel (n=129)	71/47	9,5/6,3 HR=0,48
WJTOG3405 [21]	Asiatiques	117	Géfitinib (n=58)	Cisplatine/docétaxel (n=59)	62/32	98,2/6,3 HR=0,49
NEJ002 [22]	Asiatiques	228	Géfitinib (n=114)	Carboplatine/paclitaxel (n=114)	74/31	10,8/5,4 HR=0,30
OPTIMAL [23]	Asiatiques	154	Erlotinib (n=82)	Carboplatine/gemcitabine (n=72)	83/36	13,1/4,6 HR=0,37
EURTAC [24]	Caucasiens	173	Erlotinib (n=86)	Doublets à base de platine (n=87)	71/47	9,58/5,5 HR=0,37
LUX-LUNG 3 [25]	Caucasiens	345	Afatinib (n=230)	Cisplatine/pémétréxed (n=115)	56/23	11,1/6,9 HR=0,58
ENSURE [26]	Asiatiques	217	Erlotinib (n=110)	Cisplatine/gemcitabine (n=107)	63/34	11,0/5,5 HR=0,34
LUX-LUNG 6 [27]	Asiatiques	364	Afatinib (n=242)	Cisplatine/gemcitabine (n=122)	67/23	11,0/5,6 HR=0,28

Les molécules de 1<sup>ère</sup> génération sont des inhibiteurs réversibles alors que celles de 2<sup>ème</sup> génération sont irréversibles (118) (206) (207).

Les molécules de 1<sup>ère</sup> et de 2<sup>ème</sup> génération ont les mêmes indications dans leur libellé d'AMM (206) (208) (209).

Il ne semble pas exister de différences significatives d'efficacité entre ces molécules de 1<sup>ère</sup> et de 2<sup>ème</sup> génération notamment pour les mutations les plus fréquentes à savoir L858R et les délétions 19 (9).

Seul le Dacomitinib ferait mieux en termes de SSP, même si cette supériorité est essentiellement observée chez la population asiatique dont la SSP médiane était de 16,5 mois pour le bras Dacomitinib et de 9,3 mois pour le bras Géfitinib. Chez les patients non asiatiques, la SSP médiane était de 9,3 mois pour le bras Dacomitinib et de 9,2 mois pour le bras Géfitinib (207).

**Tableau 12: Etudes évaluant les TKI antiEGFR de 1ère et de 2ème génération entre eux (9)**

Auteur, étude (REF)	Ligne	Population	Molécules (effectif dans le bras)	Médiane de SSP (mois)	Hazard ratio pour la SSP (IC95%), P Value	Médiane de SG (mois)	Hazard ratio pour la SG (IC95%), P Value
Yang, CTONG (60)	1	Mt dans Exon 19 Exon 21	Géfitinib (N=128) Erlotinib (N=128)	10,4 13,0	0,81 (0,62-1,05), P=NR	20,1 22,9	0,84 (0,63-1,13), P=0,250
Paz-Ares, LUX-LUNG 7 (61)	1	Mt dans Exon 19 Exon 21	Afatinib (N=146) Géfitinib (N=151)	11,0 10,9	0,74 (0,57-0,95), P=0,0178	27,9 24,5	0,86 (0,66-1,12), P=0,258
Wu, ARCHER 1050 (62,63)	1	Mt dans Exon 19 Exon 21	Dacomitinib (N=227) Géfitinib (N=225)	14,7 9,2	0,59 (0,47-0,74), P<0,0001	34,1 26,8	0,760 (0,582-0,993), P=0,044
Ramalingam, ARCHER 1009 & A7471028 (analyse groupée) (64)	2	Mt dans Exon 19 Exon 21	Dacomitinib (N=66+53) Erlotinib (N=55+48)	10,9 9,6	0,815 (0,542-1,224), P=0,320	26,6 24,1	0,958 (0,596-1,538), P=0,861
Urata, WJOG 5108L (65)	2	Tous statut EGFR (MT 71,7%)*.	Erlotinib (N=198) Géfitinib (N=203)	10,0 8,3	1,093 (0,879-1,358), P=0,424	26,5 31,4	1,189 (0,900-1,570), P=0,221

\*L'analyse ne porte que sur les EGFR mutés. NR : Non rapporté.

Il est important de noter que pour les mutations les moins fréquentes (uncommun mutations) tels que la G719X , la S768I et la L861Q , l'Afatinib reste préféré aux molécules de 1<sup>ère</sup> génération et au Dacomitinib, (57) (145).

En effet Les données de réponse avec les autres molécules sont plus rares ou moins probantes chez les patients présentant ces mutations, considérées comme moins fréquentes (208).

Les molécules de 2<sup>ème</sup> génération ont été initialement développées dans l'espoir de surmonter la résistance médiée par la mutation T790M. Ils ont montré une activité prometteuse contre la mutation EGFR-T790M dans des modèles précliniques. Cependant, malgré des données encourageantes in vitro, ces TKI n'ont pas démontré d'efficacité in vivo pour empêcher l'émergence de cette mutation (118).

Aussi, pour les insertions de l'exon 20, les données actuelles suggèrent un manque d'efficacité des TKI et les recommandations actuelles penchent plutôt pour l'utilisation d'un doublet de platine ou si disponible chimiothérapie avec Amivantanab (9) (56) (57) (109).

## 2.2 TKI anti EGFR de 3<sup>ème</sup> génération

L'Osimertinib est le TKI anti EGFR de 3<sup>ème</sup> génération le plus utilisé dans le monde (89). Il est enregistré en Algérie depuis juillet 2023 (210) et apparaît dans la dernière mise à jour du guide thérapeutique Algérien d'oncologie médicale, même s'il n'est toujours pas disponible au niveau des hôpitaux (145).

Le Lazertinib et l'Almonertinib sont deux autres TKI anti EGFR de 3<sup>ème</sup> génération utilisées en chine et en Corée du Sud (89) (118).

L'Osimertinib se caractérise par une efficacité supérieur aux TKI de 1<sup>ère</sup> génération pour les mutations activatrices de l'EGFR mais présente aussi une efficacité en cas de mutation de résistance T790M retrouvée rarement de manière innée mais apparaît chez 40% à 50% des patients en progression après traitement par TKI anti EGFR de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération (56) (89) (211).

L'essai AURA a démontré la supériorité d' l'Osmertinib par rapport à la chimiothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne chez les patients traités en 1<sup>ère</sup> ligne par Géfitinib ou Erlotinib et qui présentent la mutation de résistance T790M (211).

L'essai FLAURA quant à lui a démontré la supériorité de l'Osimertinib par rapport au Géfitinib et à l'Erlotinib en 1<sup>ère</sup> ligne chez les patient avec mutation activatrice de l'EGFR et ce ci avec une amélioration significative de la SSP et de la SG (survie globale) (56) (118) (211).

**Tableau 13: Résumé des études AURA3 et FLAURA évaluant l'efficacité de l'Osimertinib (56)**

Étude	conditions	Molécule	RO	SSP mois	SG mois
AURA3	Patients avec mutation T790M prétraités par ITK anti EGFR	Osimertinib Vs sel de platine + pemetrexed +/- pemetrexed en maintenance	71 % Vs 31 %, HR=5,4 IC95% = (3,5 ; 8,5) ; P < 0,001	10,1 Vs 4,4 (HR=0,30 IC95% = [0,23 ; 0,41] p<0,001)	26,8 Vs 22,5 HR=0,87, IC95% = (0,67 ; 1,13) ; P = 0,277
FLAURA	Patients avec mutation activatrices de l'EGFR (non prétraités)	Osimertinib Vs Géfitinib ou Erlotinib	80 % Vs 76 % , HR=1,3 IC95% = (0,9 ; 1,9) ; P = 0,2421	18,9 mois vs 10,2 mois ; HR=0,46 [0,37-0,57] ; p<0.001)	38,6 mois vs 31,8 mois ; HR=0,799 (0,641-0,957) ; p=0,0462)

Il est à noter la réponse importante à l'osimertinib au niveau cérébral par comparaison au bras contrôle (56) (118).

Pour cette raison, en cas de mutation activatrice de l'EGFR, il est recommandé actuellement de proposer un traitement de 1ère ligne par Osimertinib (56) (57) (89) (145).

Pour les mutations rares de l'EGFR (**S768I**, **L861Q** et **G719X**) l'Afatnib et l'Osmertinib ont le même niveau de recommandation (57) (145).

L'Osimertinib est aussi validé en adjuvant après résection tumorale complète CBNPC stade IB – IIIA avec mutations activatrices de (EGFR) (Délétion de l'exon 19 et mutation ponctuelle L858R) (56) (211).

### 2.3 La tolérance au TKI

Les TKI sont largement mieux tolérés que la chimiothérapie en général et les sels de platine en particulier, ce qui en fait un point positif de plus et qui justifie la place actuelle qu'occupent ces molécules dans la prise en charge du CBNPC avec mutation de l'EGFR (212).

Les effets indésirables les plus fréquents sont: les diarrhées et les vomissements généralement légère ou modérée (CTCAE grade 1 ou 2), des rashes (éruption pustuleuse) légère ou modérée (CTCAE grade 1 ou 2), L'asthénie essentiellement légère (CTC grade 1) (213).

Comparé aux molécules de 1<sup>ère</sup> génération, les molécules de 2<sup>ème</sup> génération sont associées à plus de toxicités (Rashes, stomatites et diarrhée) ce qui peut nécessiter une adaptation posologique (89).

l'osimertinib quant à lui a démontré un profil de tolérance meilleur que les molécules des générations précédentes notamment en ce qui concerne les effets indésirables graves (89) (211).

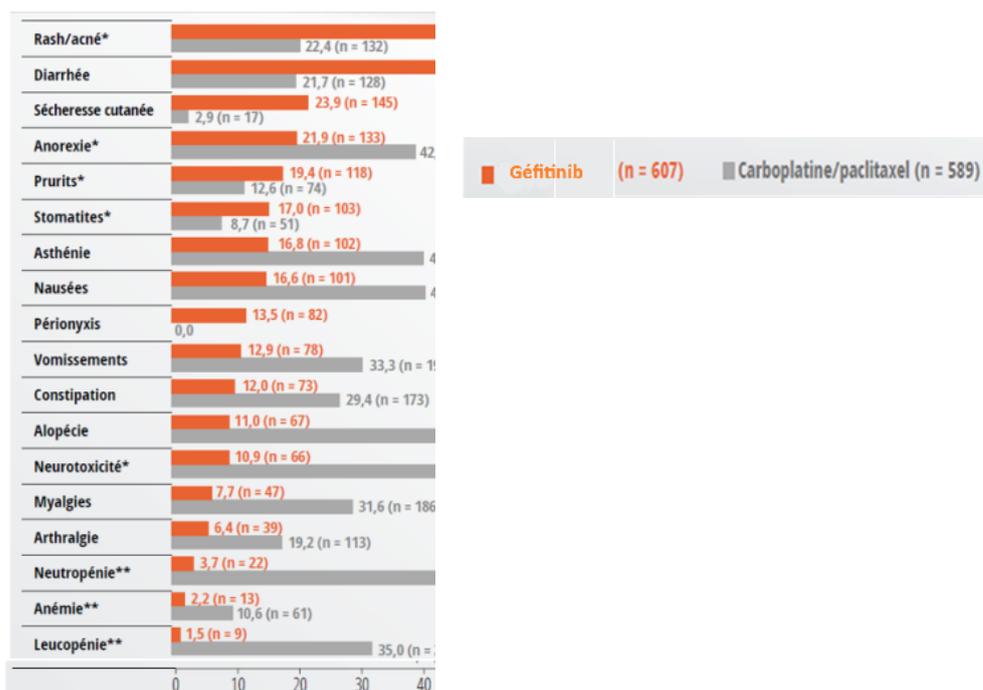


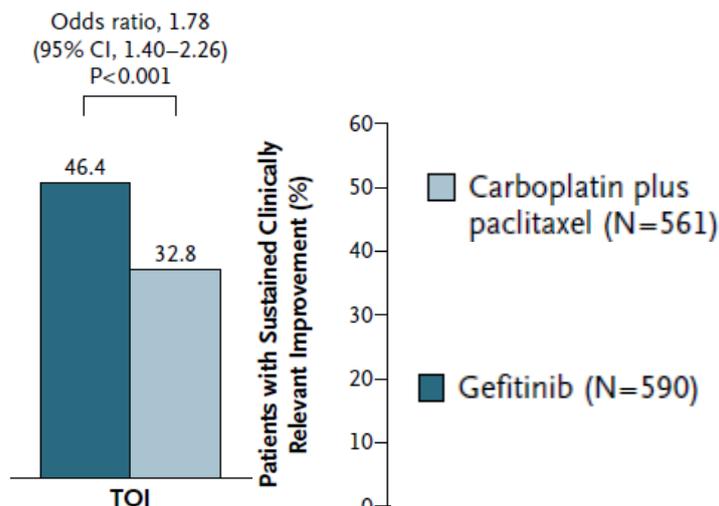
Figure 35: Profil de tolérance du Géfitinib versus chimiothérapie (214)

Tableau 14: Profil de tolérance des TKI de 1ère et 2ème génération (215)

Adverse event (all grades)	Patients (%)		
	Géfitinib (250mg/day)	Erlotinib (150mg/day)	Afatinib (50mg/day)
<b>Nausea</b>	17	40	23
<b>Vomiting</b>	13	25	20
<b>Rash</b>	37	75	78
<b>Stomatitis</b>	6	19	62
<b>Diarrhoea</b>	27	55	86

Notons aussi que les TKI améliorent la qualité de vie en comparaisons à la Chimiothérapie. Cette amélioration est liée au profil de tolérance et à la voie d'administration (Per Os) (208) (214).

Dans l'étude IPASS, les malades sous Géfitinib présentaient beaucoup moins de fatigue (16,8%) que les malades mis sous carboplatine –Paclitaxel (44,0%) (214).



**Figure 36: Evaluation de la qualité de vie des patients sous Géfitinib Versus ceux sous chimiothérapie (214)**

### 3 Classification des CBNPC en fonction de la conduite thérapeutique

#### 3.1 Les CBNPC résécables et opérables

Il s'agit de cancers localisés correspondant aux stades I et II et certains stades IIIA chez des patients opérables, et représentant 20% des CBNPC (216) (56) (145).

La chirurgie reste la meilleure option thérapeutique. La résection carcinologiquement recommandée consiste au minimum en une lobectomie et parfois en une pneumonectomie, en respectant les limites anatomiques et en un curage ganglionnaire complet et systématique (56) (145).

La mortalité péri-opératoire est très faible en cas de lobectomie (< 1%) et non négligeable en cas de pneumonectomie (moins de 4% à gauche mais jusqu'à 10% à droite) (217).

Le traitement adjuvant dépend des résultats anatomopathologiques et moléculaires (analyse de la pièce opératoire). La chimiothérapie adjuvante est le standard dans les stades II et IIIA (où elle améliore la survie à 5ans de 5 à 10%, et n'est pas indiquée dans les stades I si la résection est complète (145).

L'immunothérapie adjuvante n'est pas indiquée, mais en cas de mutations de l'EGFR (L858R ou Del19), l'Osimertinib est indiqué pour les patients de stades pIB, pII et pIIIA réséqués, après chimiothérapie adjuvante lorsqu'elle est indiquée ou réalisable, et restant PS 0-1, pour une durée de 3ans (56) (145).

Si la chimiothérapie n'est pas réalisable, l'Osimertinib est prescrit d'emblée (145).

In n'y a pas d'indication de radiothérapie médiastinale post-opératoire pour les pN0-1 et les pN2 réséqués en totalité (145).

Si la Résection est incomplète, plusieurs options sont possibles en fonction des limites de la résécabilité: Surveillance, reprise chirurgicale si elle est possible, radiothérapie ou bien Association chimio-radiothérapie (9) (145).

### 3.2 CBPNC non résecables ou patients inopérables

Les cas non résecables représentent environ 35% des CBNPC et correspondent aux stades localement avancés non résecables (certains IIIA,IIIB et IIIC), à ça, s'ajoute certains patients aux stades précoces inopérables (216) (56).

Il est proposé une association radiothérapie/chimiothérapie de manière concomitante et en cas d'impossibilité de manière séquentielle, suivie d'une immunothérapie si l'état du patient le permet (56). L'immunothérapie adjuvante n'est pas retenue dans les recommandations Algériennes (145).

### 3.3 CBNPC métastatiques

Ils correspondent aux stades IV et représentent 45% des cas. La conduite dépend des addictions oncogéniques présentes et du taux d'expression du PDL-1.

Le traitement reposera essentiellement sur la thérapie ciblée, l'immunothérapie et la chimiothérapie (9) (145) (216).

La chirurgie et la radiothérapie peuvent avoir un rôle comme traitement localisé de certaines métastases (Exp : métastases cérébrale) (56).

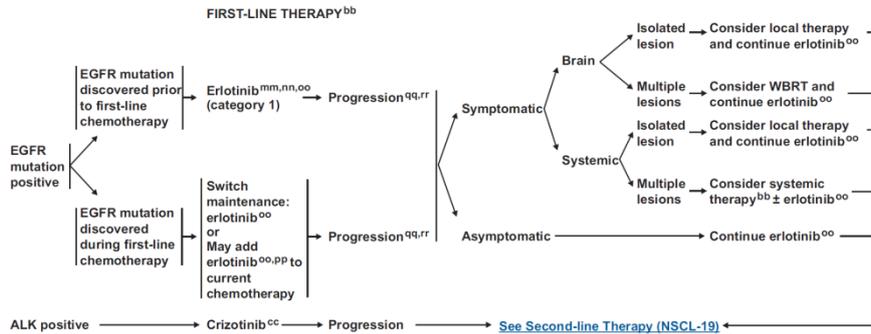
## 4 Recommandations actuelles en matière de conduites thérapeutiques chez les patients atteints de CBNPC aux stades avancés avec mutations de l'EGFR.

### 4.1 Places des TKI anti EGFR

Les TKI anti EGFR restent le gold standard en matière prise en charge des CBNPC aux stades avancés avec mutations activatrices de l'EGFR malgré les progrès en matière d'Immunothérapie, toute fois l'évolution des recommandations concerne l'aspect générationnel notamment celui de l'Osimertinib proposé dorénavant en 1<sup>ère</sup> intention, mais aussi la distinction actuelle faite entre les différents types de mutations activatrices de l'EGFR qui ne sont plus considérées de la même manière, ainsi on distingue actuellement les conduites en fonction du type de mutations retrouvées (57) (89) (145):

- 1) les mutations fréquentes de l'EGFR : **délétions de l'exon 19 et mutation L858R de l'exon 21**
- 2) les mutations rares (uncummun mutations) : **S768I, L861Q et G719X**
- 3) **les insertions de l'exon 20**

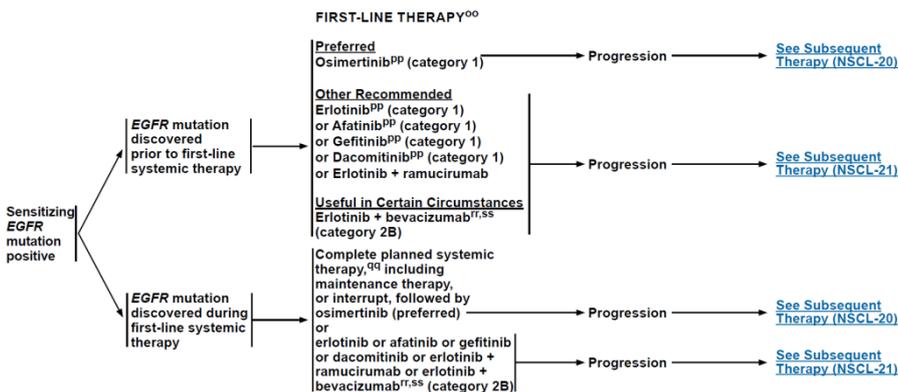
ADENOCARCINOMA, LARGE CELL, NSCLC NOS: EGFR MUTATION OR ALK POSITIVE



**Figure 37: Recommandations du NCCN en 2013 (218)**

Selon les recommandations du NCCN en 2013, l'ensemble des mutations activatrices de l'EGFR faisait l'objet d'une seule et même conduite thérapeutique (218).

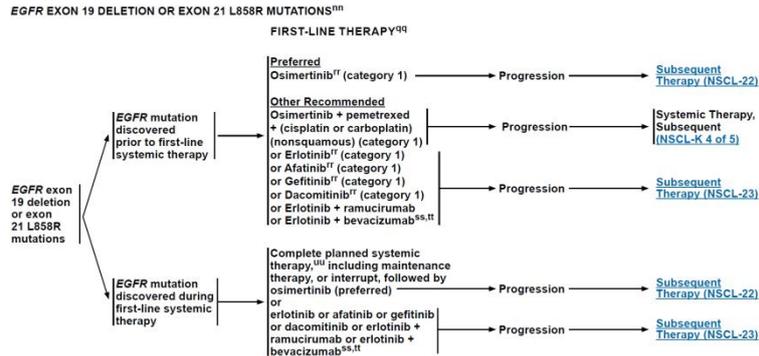
SENSITIZING EGFR MUTATION POSITIVE<sup>ll</sup>



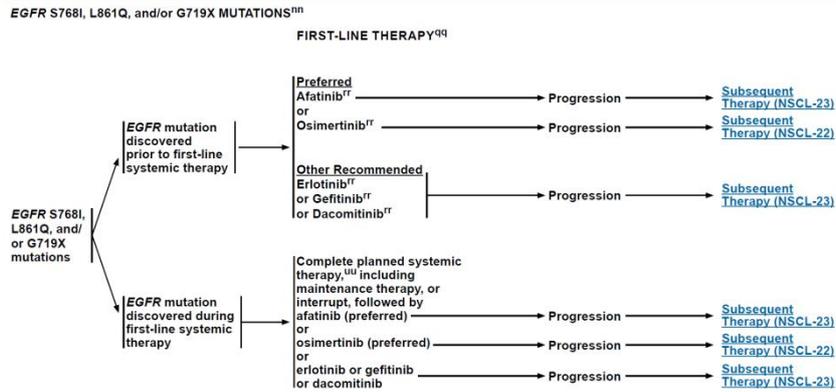
**Figure 38: Recommandations du NCCN en 2020 (219)**

Selon les recommandations du NCCN en 2020 l'ensemble des mutations activatrices de l'EGFR faisant l'objet d'une seule et même conduite thérapeutique mais avec, l'Osmertinib préféré en 1<sup>ère</sup> intention (219).

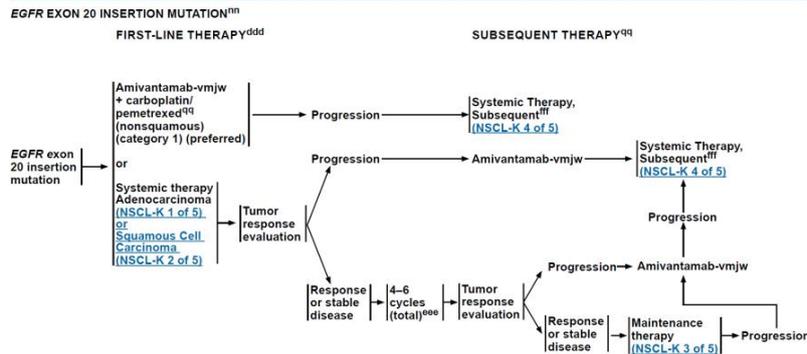
-En 2024, les Recommandations du NCCN prennent en considération trois groupes de mutations (fréquentes, rares et les insertions de l'exon20). Cette distinction entre les différentes mutations de l'EGFR a conduit à une distinction en matière de molécules préconisées et l'exclusion des insertions de l'exon 20 du spectre des TKI anti EGFR (57).



**Figure 39: Recommandations thérapeutique des mutations fréquentes de l'EGFR (Del 19 et L858R) (57)**



**Figure 40: Recommandations thérapeutiques de la prise en charge des mutations rares de l'EGFR (S768I, L861Q et G719X) (57)**



**Figure 41: Recommandations thérapeutique de prise en charge des insertions de l'exon 20 de l'EGFR (57)**

**Ainsi actuellement**, il est recommandé qu'en cas de :

-Mutations fréquentes de l'EGFR type Délétion de l'exon 19 ou mutation L858R, de proposer un traitement de 1<sup>ère</sup> ligne par osimertinib. Les TKI de 1<sup>ère</sup> ou bien de 2<sup>ème</sup> génération gardent leurs indications en absence d'Osimertinib (57) (89) (145).

-En cas de mutation rares type : **S768I, L861Q et G719X**, seuls ou combinées à des mutations fréquentes, il est recommandé de proposer en 1<sup>ère</sup> intention un traitement par Afatinib ou bien Osimertinib (57) (89) (145) .

-Concernant **les Insertions de l'exon 20** : La plupart des patients présentant des mutations d'insertion de l'exon 20 d'EGFR ont des taux de réponse faibles ( $\leq 9$  %) avec l'Afatinib, l'Erlotinib ou le Gefitinib (Exception faite pour la mutation p.A763\_Y764insFQEA). l'Osimertinib(160 mg/jour), est associé à des taux de réponse d'environ 25 % ce qui est beaucoup plus faible que les taux observés avec les délétions de l'exon 19 ou la mutation L858R de l'EGFR (56).

Des inhibiteurs spécifiques on été développés tel que l'Amivantanab (Anticorps monoclonal Bispécifique anti EGFR et antiMet - non enregistré en Algérie) et qui devrait constituer le traitement de 1<sup>ère</sup> intention en association avec la chimiothérapie (57).

Le guide thérapeutique en Algérien oncologie médicale dans sa version de 2024, recommande pour les insertions de l'exon 20, une conduite thérapeutique identique à celle qu'en cas d'absence d'addiction oncogénique (145).

## 4.2 L'association de TKI Anti EGFR avec chimiothérapie et ou AntiVEGF dans le CBNPC

L'association TKI (Géfitinib) et chimiothérapie par doublet carboplatine-pemetrexed a été comparée au Géfitinib seul. Les résultats des études sont concordants, avec une amélioration de la survie globale et de la survie sans progression au prix d'une majoration (attendue) de la toxicité.

L'association constitue une option thérapeutique de 1<sup>ère</sup> ligne selon les recommandations de l'ESMO (89).

**Tableau 15: Etudes comparants l'association Géfitinib carboplatine-pemetrexed versus Géfitinib seul (9)**

Type	Etude	Bras	N	Survie sans progression		Survie globale	
				Médiane (mois)	HR (IC95%)	Médiane (mois)	HR (IC95%)
Chimiothérapie	Hosmi Y et al. NEJ-009 (69)	Géfitinib	172	11,2	0,49 (0,39-0,62) P<0,001	38,8	0,72 (0,55-0,95) P = 0,021
		Carboplatine-Pemetrexed Géfitinib	170	20,9		50,9	
	Noronha V et al. (70)	Géfitinib	176	8,0	0,51 (0,39-0,66) P < 0,001	17,0	0,45 (0,31-0,65) P < 0,001
		Carboplatine-Pemetrexed Géfitinib	174	16,0		NR	
	Cheng Y et al. (71)	Géfitinib	65	10,9	0,68 (0,48-0,96) P = 0,029	-	-
		Pemetrexed - Géfitinib	126	15,8		-	

L'association Erlotinib-Bevacizumab a démontré un bénéfice en survie sans progression par rapport à l'Erlotinib seul.

Le Ramucirumab (anti-VEGFR) a également été testé dans cette indication, en association à l'Erlotinib dans un essai randomisé contrôlé contre placebo. L'essai retrouve une amélioration de la survie sans progression (89).

**Tableau 16: Etudes comparants l'association Erlotinib+Bevacizumab ou Ramucirumab versus Erlotinib seul (9)**

Type	Etude	Bras	N	Survie sans progression		Survie globale	
				Médiane (mois)	HR (IC95%)	Médiane (mois)	HR (IC95%)
Anti-VEGFR	Zhou Q, CTONG 1509, ESMO 2019	Erlotinib	154	11,2	0,57 (0,44-0,75)	-	-
		Erlotinib-Bevacizumab	157	18,0		-	-
	Saito H, NEJ-026 (67)	Erlotinib	114	13,3	0,61 (0,42-0,88) P = 0,016	-	-
		Erlotinib-Bevacizumab	114	16,9		-	-
	Yamamoto N et al, JO25567, ASCO 2018	Erlotinib	77	9,7	0,54 (0,36-0,79) P=0,0015	47,4	0,81 (0,53-1,23) P = 0,327
		Erlotinib-Bevacizumab	75	16,0		47	
	Nakagawa K et al. RELAY, (68)	Placebo + erlotinib	225	12,4	0,59 (0,46-0,76) P<10-4	-	-
		Ramucirumab + erlotinib	224	19,4		-	-

L'association Erlotinib +Bévacizumab constitue une option de 1<sup>ère</sup> ligne selon l'ESMO" (89).

### 4.3 Progression sous TKI anti EGFR

En cas de progression sous TKI, il est important de vérifier d'abord l'observance et les interactions médicamenteuses (dont thérapies non conventionnelles) (9).

S'il existe un bénéfice clinique de TKI en cours, il est possible de maintenir ce traitement même en cas de progression radiologique.

En cas de progression sur un seul site accessible à un traitement local, il doit être discuté en RCP la réalisation de ce traitement local et la poursuite du TKI (56).

**L'identification du mécanisme** de résistance est une approche primordiale. Une recherche de la mutation T790M doit être réalisée sur sang ou tissu si utilisation en 1<sup>ère</sup> ligne de TKI de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération.

Sa détection permet de proposer un traitement de seconde ligne par Osimertinib (si non utilisé en 1<sup>ère</sup> ligne) qui constitue le standard thérapeutique dans cette indication (56) (57) (89) (145).

Chez les patients en progression sous traitement par Osimertinib, l'idéal est de procéder à une nouvelle biopsie avant de considérer une thérapie systémique de deuxième ligne, afin d'exclure une transformation histologique (notamment en CBPC), un phénomène qui survient dans environ 4-5 % des cas. (56) (57) (26) (27)

**Tableau 17: Mécanismes de résistance à l’Osimertinib (56)**

Mécanisme	Type	Schoenfeld et al. (105)	Piotrowska et al. ELIOS, ESMO 2022 <sup>28</sup>	Ramalingam, FLAURA <sup>29</sup>
Transformation	Pléiomorphe	4%		
	Carcinome épidermoïde	7%		
	CPC	4%		
Hors cible	Fusion RET	4%		
	Fusion BRAF	4%		
	Amplification de MET	7%	17%	15%
	Mutation KRAS	4%		3%
	Mutation BRAF			3%
	Del CDKN2A ou B		15%	
	Del MTAP		15%	
	Fusion ALK		2%	
	Amplification CDK4/5			5%
	Amplification HER2			2%
	Amplification ARAF		4%	
	Amplification CCND			3%
	Amplification CCNE		7%	2%
	Amplification NKX2.1		11%	
Mutation PIK3CA			7%	
Sur la cible	Amplification d’EGFR	4%	11%	
	EGFR C797X		15%	7%
	EGFR C724S	4%		

**La mutation C797S** est un autre mécanisme de résistance affectant l’EGFR et qui apparaît après l’utilisation de l’Osimertinib. Elle est observée chez environ 10 à 20 % des patients en progression sous Osimertinib en 2<sup>ème</sup> ligne.

Cette mutation peut émerger en cis ou en trans avec la mutation T790M. La coexistence de C797S et T790M sur le même allèle (en cis) confère une résistance à toutes les générations de TKI AntiEGFR, tandis que lorsque ces mutations sont présentes sur des allèles différents (en trans), les tumeurs conservent une sensibilité à la combinaison TKI anti EGFR de première et de troisième génération (118).

Si l’osimertinib est utilisé en 1<sup>ère</sup> ligne, elle apparaît chez 7 % des patients même en absence de T790M et ne semble pas affecter la sensibilité des TKI de première génération (118).

En deuxième ligne après Osimertinib ou bien en l’absence de détection de mutation T790M après TKI 1<sup>ère</sup> /2<sup>ème</sup> génération et en absence de mécanisme de résistance ciblable, il est recommandé une chimiothérapie à base de sels de platine, en l’absence de contre-indication, et qui obéit aux mêmes règles d’évaluation de l’éligibilité au Bevacizumab et à un traitement de maintenance qu’une première ligne chez les patients sans mutations de l’EGFR (56) (145).

Afin d’éviter tout risque d’effet « rebond » à l’arrêt des TKI, il est recommandé d’arrêter le TKI un à sept jours avant l’administration de la première cure de chimiothérapie (145).

#### 4.4 Identification du statut mutationnel de l'EGFR en cours de traitement

Chez les patients ayant débutés une chimiothérapie de première ligne avant l'identification des mutations de l'EGFR il est recommandé de :

-Poursuivre la chimiothérapie jusqu'à 4 ou 6 cycles (sauf progression, qui sera évaluée à 2 cures, ou toxicité) et de ne pas introduire d'immunothérapie.

-Si Le TKI disponible est de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération, il pourrait être introduit soit en traitement de maintenance, ou en traitement de deuxième ligne (après progression) (9).

-Si disponibilité de l'Osimertinib : introduction de l'osimertinib, dès connaissance du statut *EGFR* muté (56).

Chez les patients ayant reçu une chimio-immunothérapie, il est recommandé d'arrêter l'immunothérapie pour éviter le risque de toxicité pulmonaire notamment à l'introduction de l'osimertinib (56).

#### 4.5 Place de l'immunothérapie dans le CBNPC avec mutation de l'EGFR

Malgré les avancés majeurs de l'immunothérapie dans le traitement CBNPC, son rôle dans la prise en charge du CBNPC avancé avec mutation de l'EGFR reste controversé (56) (89).

Les TKI présentent généralement de meilleurs taux de réponse (80 % avec l'Osimertinib), que l'immunothérapie (faibles taux de réponse) en première ligne, tout en étant mieux tolérées (57).

L'existence d'une mutation de l'EGFR était un critère d'exclusion de l'essai Keynote-189 (Pembrolizumab et chimiothérapie à base de platine en première ligne) (56).

L'étude *IMMUNOTARGET registry* est une analyse rétrospective sur l'efficacité de l'immunothérapie en monothérapie chez des patients avec addiction oncogénique.

La réponse tumorale chez les patients avec des mutations EGFR était de 12 %, avec une survie sans progression médiane (mSSP) de 2,1 mois et une survie globale médiane (mSG) de 10,0 mois (89).

En 2<sup>ème</sup> ligne, après TKI anti EGFR, Les données suggèrent que la monothérapie par inhibiteurs de PD-1/PD-L1 est moins efficace dans le CBNPC avec délétion de l'exon 19 ou mutation L858R de l'exon 21 d'EGFR, quel que soit le niveau d'expression du PD-L1. Aussi, après traitement par Osimertinib, les études de chimio-immunothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne ne montrent pas de supériorité par rapport à la chimiothérapie seule (56).

Les résultats de l'analyse du sous-groupe de l'essai IMPower 150 qui a évalué l'association de l'Atezolizumab à la combinaison carboplatine-paclitaxel et bevacizumab chez les patients avec une mutation de l'EGFR, suggèrent la possibilité d'un bénéfice en termes de survie globale. Toutefois, ce bénéfice n'a pas été retrouvé dans l'analyse finale de l'étude (56).

l'Atézolizumab en association au carboplatine-paclitaxel et au bevacizumab est considéré comme une option thérapeutique en 2ème ligne post TKI AntiEGFR dans le CBNPC aux stades avancés chez les patients avec mutation de l'EGFR (89), même si la commission de la transparence de la haute autorité de santé française (HAS) a jugé le **service médical rendu (SMR)** de cette association, comme étant **insuffisant** suite aux nombreux effets indésirables importants (56) (220).

Les recommandations Algériennes selon le guide thérapeutique en oncologie dans sa mise à jour de 2024, recommandent qu'en cas de progression sous Osimertinib , d'opter pour une chimiothérapie à base de sels de platine (sans immunothérapie), en l'absence de contre-indication, quel que soit le statut PD-L1 (145).

En 3ème ligne Après traitement par Osimertinib puis chimiothérapie seules, l'immunothérapie n'a pas montré de bénéfice par rapport au Docetaxel. Toute fois, une analyse post-hoc de l'essai de phase 2 ATLANTIC évaluant le Durvalumab en 3ème ligne (une immunothérapie non encore enregistrée en Algérie), retrouve que la grande majorité des patients présentant une réponse objective étaient dans le groupe EGFR muté avec un  $PD-L1 \geq 25\%$  . Par conséquent, l'utilisation de l'immunothérapie seule chez ces patients, pourrait être considérée après traitement par TKI puis chimiothérapie à base de sels de platine (56) (221).

## **C. Etude Pratique**

La recherche des mutations de l'EGFR en Algérie se fait actuellement sur biopsie tissulaire, qui constitue une méthode de référence mais présente tout de même plusieurs limites notamment liées à la difficulté de la réalisation de la biopsie tissulaire, l'hétérogénéité tumorale et la possibilité d'avoir un matériel génétique de mauvaise qualité et inexploitable, (10) d'où le nécessité de recourir à des méthodes alternatives notamment celles basées sur la recherche des mutations au niveau de l'ADN circulant sur prélèvement sanguin (biopsie liquide). (11)

## **1 Objectifs**

### **1.1 Objectif principal**

Le but de notre travail est de rechercher les différentes mutations de l'EGFR sur prélèvement sanguin (biopsie liquide), chez des patients atteints de CBNPC à des stades avancés qu'ils soient naïfs de TKI ou bien après progression sous TKI de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération afin d'orienter le clinicien dans le choix du traitement sur la base des résultats retrouvés.

### **1.2 Objectifs secondaires**

- 1) Evaluer la concordance des résultats obtenus sur biopsie liquide avec ceux de la biopsie tissulaire.
- 2) Evaluer l'impact des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur les conduites thérapeutiques.

## **2 Matériel et méthode**

## 2.1 Type d'étude

Étude transversale à recrutement prospectif portant sur la recherche des mutations de l'EGFR chez les patients atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules à un stade avancé.

## 2.2 Population d'étude

Patients présentant un cancer bronchique non à petites cellules à un stade avancé, suivis au niveau du :

- Service d'oncologie médicale : CLCC de Sétif.
- Service de pneumologie du CHU Sétif.

### 2.2.1 Critères d'inclusion

- Age supérieur à 18 ans.
- cancer bronchique non à petites cellules, confirmé par une étude anatomo-pathologique
- Stade avancé : localement avancé (Stade III) ou métastatique (Stade IV).

### 2.2.2 Critères de non inclusion

- Autre Type histologique du cancer bronchique (Non CBNPC)
- Type histologique épidermoïde du sujet fumeur.
- Patients sans preuve anatomo-pathologique de CBNPC.
- Stades précoces accessibles à la chirurgie.

## 2.3 Durée de l'étude

la recherche des mutations sur biopsie liquide a débuté de manière effective le 03/06/2024 jusqu'à épuisement du nombre total de tests disponibles (96 tests : 72 pour échantillons et 24 contrôles) ce qui correspond à la date du 08 /03/2025 , soit une durée de 09 mois et 5jours.

## 2.4 Lieu de l'étude

La recherche des mutations de l'EGFR sur prélèvement sanguin, était effectuée au niveau du **Laboratoire central du CLCC Sétif.**

Le recrutement des patients correspond aux structures du :

- Service d'oncologie médicale CLCC de Sétif.

-Service de pneumologie du CHU Sétif.

## 2.5 Recueil des données

La collecte des données a été effectuée grâce à une fiche de renseignement (Annexe I), qui faisait aussi office de Fiche de demande remplie par le médecin traitant dans laquelle figurent:

-Les données du patient :Age, sexe, adresse, profession, antécédents médico-chirurgicaux, statut tabagique.

-Les renseignements sur la maladie : date de diagnostic, type histologique, localisations métastatiques, statut performance.

-Les données concernant le profil moléculaire tissulaire éventuel

-Les données des traitements reçus et/ou en cours

-Le type de mutations à rechercher sur biopsie liquide

Une autre Fiche technique (Annexe II), dans laquelle figurent les informations concernant le prélèvement, l'extraction de l'ADNc et les résultats de la PCR, remplie à chaque extraction d'ADNc et de PCR.

## 2.6 Variables étudiées

**Caractéristiques démographiques et cliniques :** sexe, âge, résidence, service /établissement de suivi, profession, antécédents médico-chirurgicaux, statut tabagique, sou type histologique, localisation et technique du prélèvement tissulaire, stade de la maladie au diagnostic et au moment de l'étude, nombre et localisation des métastases, statut performance.

**Statut moléculaire :** statut de l'EGFR au niveau tissulaire et sur biopsie liquide, type de mutation de l'EGFR, délais de rendu des résultat de recherche des mutation de l'EGRR au niveau tissulaire et sur biopsie liquide, volume plasmatique, aspect plasmatique et concentration d'ADNc obtenues .

**Prise en charge thérapeutique :** antécédents thérapeutiques (chirurgie, radiothérapie et traitement pharmacologique spécifique), délais de prise en charge thérapeutique, conduites thérapeutiques appliquées après obtention des résultats de l'EGFR sur biopsie liquide.

## 2.7 Protocole de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.

### 2.7.1 Prélèvement sanguin et extraction de l'ADN

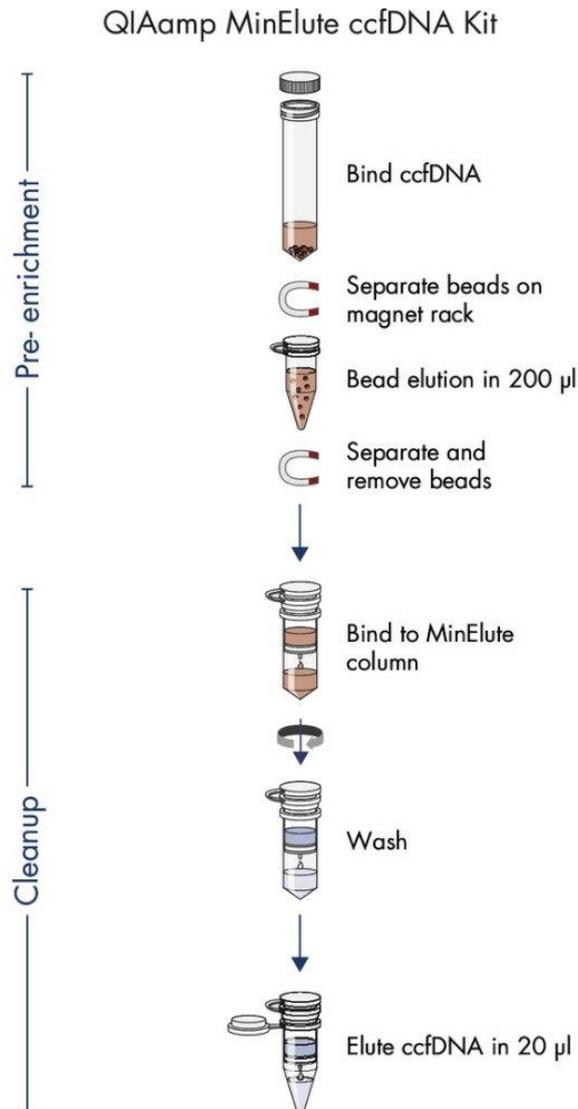
Les prélèvements étaient réalisés sur des tubes EDTA vacutainer. Le volume prélevé variait de 12ml à 20ml en fonction des patients, avec des aiguilles G23 ou bien G21.

La séparation plasmatique était effectuée dans moins de 2H suivants le prélèvement en respectant les recommandations du kit d'extraction et ce ci par à une 1<sup>ère</sup> centrifugation à 3000tr/min à 4°C pendant 10min pour l'élimination de la couche leucocytaire suivi d'une 2<sup>ème</sup> centrifugation à 16600g pendant 10min à 4°C pour l'élimination des débris cellulaires. (222)

Le volume plasmatique final obtenu était soit congelé à -20°C, ou bien passait directement à la phase d'extraction d'ADNc.

Pour l'extraction d'ADNc, on a utilisé le Kit d'extraction QIAamp® MinElute® ccfDNA Qiagen\* Allemagne dans sa forme Mini (volume plasmatique 2ml à 4ml) et sa forme MidiI (volume plasmatique 4ml à 10ml).

Ce kit utilise une procédure rapide d'extraction d'ADNc par une 1ère étape de concentration de l'ADNc via la fixation sur des billes magnétiques. l'ADNc était par la suite libéré lors d'une étape de prélavage et retenu par des colonnes de silice (QIAamp UCP MinElute®). Il était ensuite récupéré par une étape de lavage suivi d'une centrifugation à très grande vitesse (222).



**Figure 42:** : les étapes d'extraction de l'ADNc selon le KIT QIAamp® MinElute® ccfDNA Qiagen\* (222)

L'extrait d'ADN était dosé immédiatement après extraction par méthode fluorométrique Qubit\* (même si, les kits d'extraction et d'amplification utilisés, n'exigent pas le dosage des concentrations de l'ADNc).

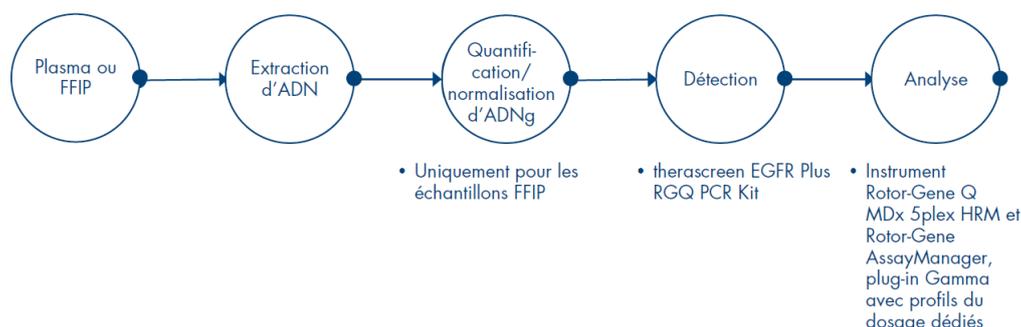
L'extrait d'ADNc de chaque patient était par la suite congelé à -20c. La recherche des mutations étaient effectuées une fois un nombre d'au moins 6 échantillons à tester atteint pour une meilleure optimisation de l'utilisation du réactif.

### 2.7.2 Amplification et détection des mutations de l'EGFR

La recherche des différentes mutations de l'EGFR était réalisée par technique de qPCR qui est une méthode de PCR en temps réel, en utilisant le kit *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR sur appareil Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM.

Le KIT *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR est un kit d'amplification / détection des mutations de l'EGFR validé IVD (in vitro diagnostic) à la fois pour la recherche sur

plasma (biopsie liquide) et tissu (FFPE). Ce KIT est approuvé par la FDA et l'EMA pour la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide (156).



**Figure 43: Déroulement des étapes de recherche des mutations de l'EGFR avec le KIT Therascreen® EGFR Plus RGQ PCR (223)**

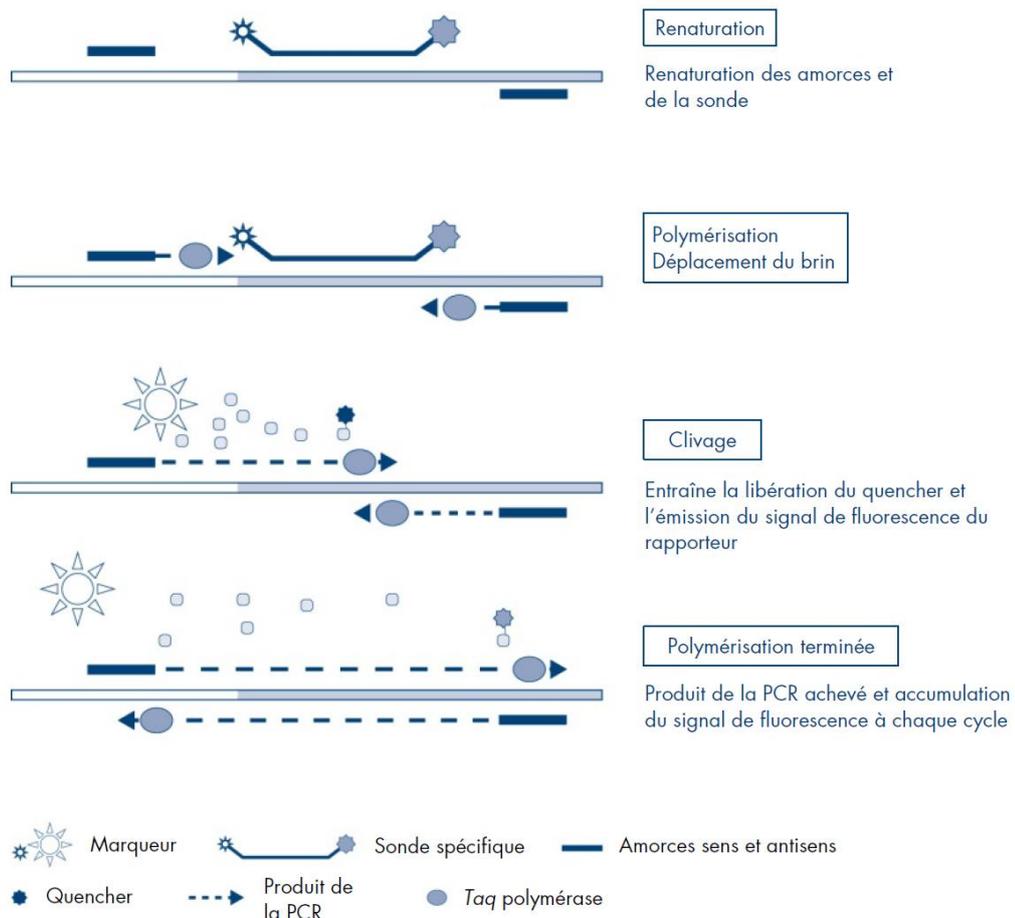
Ce Kit permet la détection qualitative et l'identification de 42 mutations des exons 18, 19, 20 et 21 de l'EGFR à l'aide des technologies ARMS (Amplification Refractory Mutation System) et clamp PCR .

Ce kit permet aussi une mesure semi-quantitative des mutations des exons 18, 20 et 21 du gène de l'EGFR. (223)

### 2.7.2.1 Principe général de la qPCR

La qPCR ou PCR en temps réel permet de détecter la fluorescence générée pendant l'amplification de l'ADN. Le KIT therascreen® EGFR Plus RGQ PCR utilise des sondes d'hydrolyse pour identifier des mutations spécifiques du gène de l'EGFR.

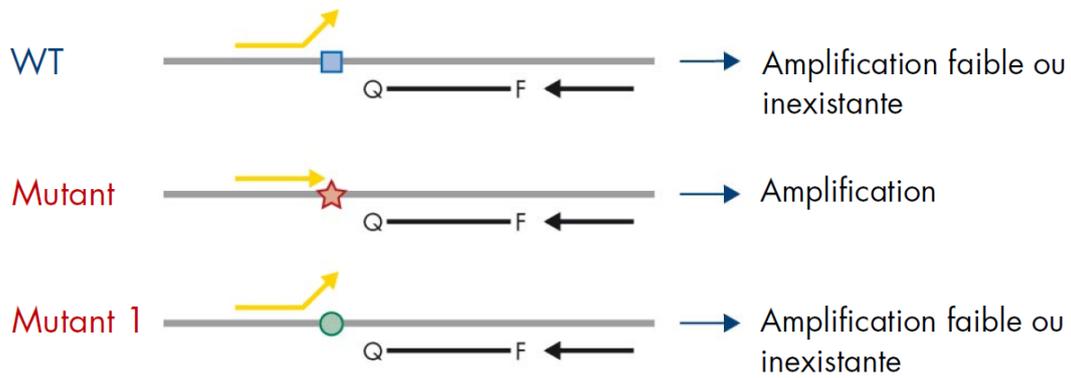
Lors de l'amplification des amorces spécifiques s'hybrident à l'ADN cible, accompagnées d'une sonde fluorescente marquée par un rapporteur et un Quencher. Tant que la sonde reste intacte, la fluorescence est inhibée. Si la cible est présente, la Taq polymérase exerce son activité exonucléase 5'→3', coupant la sonde et séparant le rapporteur du Quencher. Cela libère un signal fluorescent qui augmente à chaque cycle, indiquant une amplification spécifique de la séquence cible. (223)



**Figure 44: Principe de la qPCR selon le KIT theascreen® EGFR Plus RGQ PCR (223)**

### 2.7.2.2 Principe de la technologie ARMS

L'ARMS exploite la capacité du *Taq* ADN polymérase à distinguer un appariement d'un mésappariement à l'extrémité 3' d'une amorce de PCR. Lorsque l'amorce est entièrement appariée, l'amplification s'effectue avec une efficacité maximale. Lorsque la base en 3' est mésappariée, seule une faible amplification de fond se produit. Par conséquent, une séquence mutée est amplifiée sélectivement, même dans les échantillons dans lesquels la majorité de l'ADN ne porte pas la mutation.



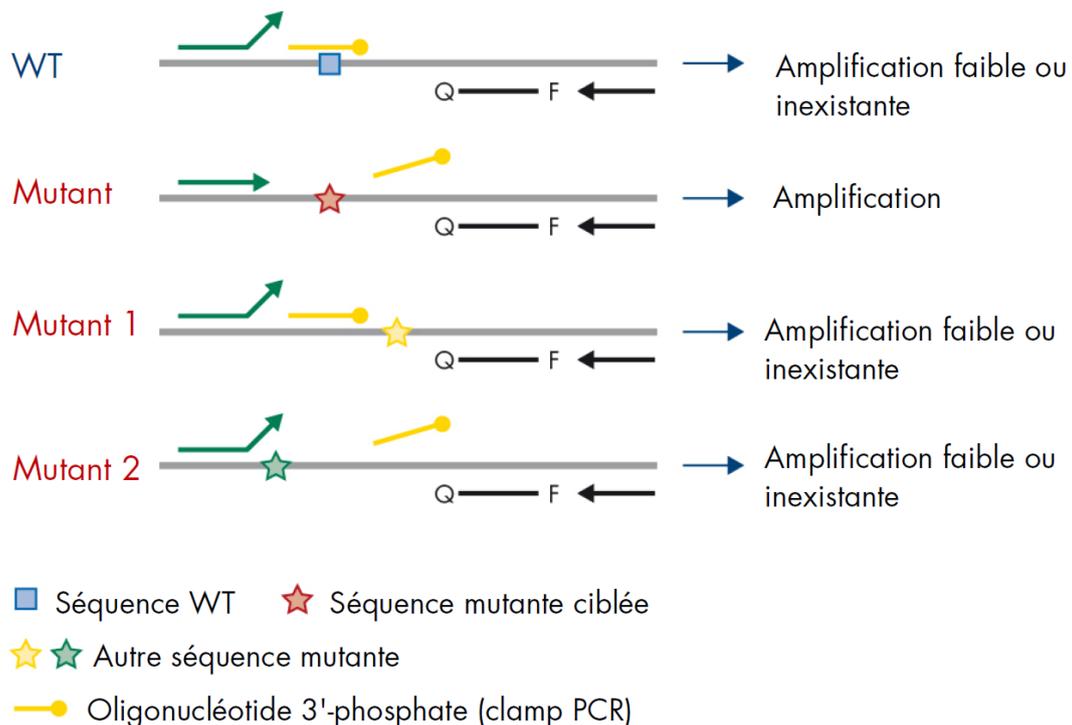
■ Séquence WT    ★ Séquence mutante ciblée    ● Autre séquence mutante

**Figure 45: Identification des mutations spécifiques par ARMS PCR.** WT : type sauvage. Q—F : sonde doublement marquée. D : amorces sens et antisens. (223)

### 2.7.2.3 Principe de la technologie Clamp PCR

Elle permet de détecter plusieurs variants localisés dans le même point chaud (p. ex. les délétions de l'*EGFR* au niveau de l'exon 19). Le clamp associe les amorces et la sonde standard avec un oligonucléotide supplémentaire dont l'extrémité 3' est bloquée par l'ajout d'un groupe phosphate afin d'empêcher l'élongation de la PCR.

L'oligonucléotide clamp, de même que les amorces et la sonde, sont propres à la séquence de type sauvage (clamp PCR). Si la matrice de PCR contient la séquence de type sauvage, le clamp s'hybride avant l'amorce car un  $T_m$  plus important entraîne une amplification faible ou inexistante. A contrario, si une séquence mutée est présente, le clamp ne peut se lier, cela permet la renaturation et l'amplification de l'amorce. (223)



**Figure 46: Détection de mutation par la technologie clamp.** WT : type sauvage. Q—F : sonde doublement marquée. D : amorces sens et antisens. (223)

### 2.7.3 Mutations détectées par le kit *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR

-G719X dans l'exon 18 (détection et semi-quantification de G719S, G719A ou G719C, mais sans distinction entre ces mutations)

-28 délétions dans l'exon 19 (détection de n'importe laquelle de ces 28 délétions mais sans distinction entre elles)

-S768I, T790M, C797Sa et C797Sb dans l'exon 20 (détection et semi-quantification de ces quatre mutations mais sans distinction entre C797Sa et C797Sb)

-Cinq insertions dans l'exon 20 (détection de n'importe laquelle de ces cinq insertions mais sans distinction entre elles) (223)

**Tableau 18: Liste des mutations et des identifiants COSMIC (223)**

Exon	Mutation	COSMIC ID*	Changement de base
18	G719A	6239	c.2156G>C
	G719S	6252	c.2155G>A
	G719C	6253	c.2155G>T
19	Délétions	26038	c.2233_2247del15
		13550	c.2235_2248>AATTC
		6223	c.2235_2249del15
		6225	c.2236_2250del15
		18427	c.2237_2257>TCT
		6220	c.2238_2255del18
		12367	c.2237_2254del18
		12384	c.2237_2255>T
		12678	c.2237_2251del15
		13551	c.2235_2252>AAT
		13552	c.2235_2251>AATTC
		12386	c.2237_2252>T
		12416	c.2237_2253>TTGCT
		12728	c.2236_2253del18
12422	c.2238_2248>GC		
		12382	c.2239_2248TTAAGAGAAG>C
19	Délétions	6218	c.2239_2247delTTAAGAGAA
		12387	c.2239_2258>CA
		12370	c.2240_2257del18
		12403	c.2239_2256>CAA
		6255	c.2239_2256del18
		12383	c.2239_2251>C
		12419	c.2238_2252>GCA
		6210	c.2240_2251del12
		23571	c.2238_2252del15
		12369†	c.2240_2254del15
		13556	c.2253_2276del24
		12385	c.2235_2255>AAT
		20	S768I
Insertions	12376		c.2307_2308insGCCAGCGTG
	12378		c.2310_2311insGGT
	12377		c.2319_2320insCAC
	13428		c.2311_2312insGCGTGGACA
	13558		c.2309_2310AC>CCAGCGTGGAT
T790M	6240		c.2369C>T
C797Sa	6493937		c.2389T>A
C797Sb	5945664		c.2390G>C
Exon	Mutation	COSMIC ID*	Changement de base
21	L858R	6224	c.2573T>G
	L861Q	6213	c.2582T>A

\* COSMIC : Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (Catalogue des mutations somatiques associées au cancer) :

## 2.7.4 Interprétation et rendu des résultats

L'interprétation des résultats de la PCR était faite en automatique par logiciel Rotor-Gene AssayManager® et reconfirmée en manuel par vérifications des valeurs de Ct des contrôles internes, puis des Ct des contrôles positifs ensuite des Ct des mutations détectées (Annexe III).

Il est important de noter que la validation repose sur la vérification directe des Ct qui doivent être inférieurs à des valeurs limites de référence proposées dans le manuel du Kit (Annexe IV), à l'inverse de la validation pour recherche sur FFPE qui correspond au calcul d'un delta Ct (Ct échantillon-Ct contrôle Positif) et qui doit être compris dans un intervalle de référence. (224)

Les résultats étaient communiqués au clinicien, le soir même par SMS et le lendemain sous forme de rapport par mail et en format papier (Annexe V).

## 2.8 Saisie et analyse des données

### 2.8.1 Saisie et traitement des données

Chaque fiche a fait l'objet d'une vérification manuelle afin de compléter les données manquantes, pour minimiser les erreurs de saisie et puis d'un codage des différents types de variables pour faciliter la saisie et l'analyse des données.

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du Microsoft Excel 2010 et processeur IBM SPSS Statistics 28.0 .

Les résultats sont représentés sous forme de tableaux et de graphes.

### 2.8.2 Analyse des données

le calcul des fréquences, la moyenne ( $m$ ), l'écart type ( $\delta$ ), Les tests statistiques: le test de khi-2 , le test de T de Student, l'ANOVA, le Test de Welsh, le test d'homogénéité des variances , Test de la normalité de la distribution, test t des échantillons appariés et test de classement de Wilcoxon.

Avec un risque d'erreur alpha égal cinq pour cent (5%).

### 2.8.3 Evaluation de la performance (225)

Plusieurs paramètres évaluant la performance de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide dans notre étude ont été calculés en prenant comme référence la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie tissulaire.

#### 2.8.3.1 La concordance

Appelée aussi concordance observée, Il s'agit du pourcentage de cas où les deux méthodes donnent le même résultat (mutation présente ou absente). Elle est mesurée par le Calcul du taux de concordance globale (Overall Agreement Rate, OAR),

$$\text{Taux de concordance} = \frac{\text{Nombre de résultats concordants}}{\text{Nombre total de cas}} \times 100$$

### 2.8.3.2 La Sensibilité et la Spécificité

**La Sensibilité** : est la capacité du test à détecter correctement les vrais positifs et donc par déduction les faux négatifs.

**La Spécificité** : est la capacité du test à identifier correctement les vrais négatifs et donc par déduction les faux Positifs.

La détermination de la sensibilité et la spécificité ont été faites selon les formules suivantes :

**Tableau 19: Croisement test référence vs test à évaluer (225)**

	<b>Malade (Test de référence)</b>	<b>Non malade (Test de référence)</b>
<b>Test positif</b>	Vrai Positif (VP)	Faux Positif (FP)
<b>Test négatif</b>	Faux Négatif (FN)	Vrai Négatif (VN)

- Sensibilité (%) =  $\frac{VP}{VP+FN} \times 100$   
→ Proportion des malades bien détectés par le test.
- Spécificité (%) =  $\frac{VN}{VN+FP} \times 100$   
→ Proportion des non-malades bien classés comme négatifs.

### 2.8.3.3 Les Valeurs prédictives

**La Valeur prédictive positive (VPP)** : est la probabilité qu'un résultat positif en biopsie liquide soit réellement positif en tissu.

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100$$

**Valeur prédictive négative (VPN)** : probabilité qu'un résultat négatif en biopsie liquide soit réellement négatif en tissu.

$$VPN = \frac{VN}{VN + FN} \times 100$$

### 2.8.3.4 La Concordance Aléatoire

Permet d'évaluer dans quelle mesure deux méthodes de diagnostic s'accordent **par pur hasard**.

Elle est calculée dans le cadre de la statistique Kappa de Cohen par le calcul de la «  $P_e$  » qui représente la proportion d'accord attendue **par hasard** si les deux méthodes étaient totalement indépendantes.

$$P_e = \left( \frac{(a + b) \times (a + c)}{N^2} \right) + \left( \frac{(c + d) \times (b + d)}{N^2} \right)$$

- **a** = Nombre de cas positifs selon les deux méthodes= 16 cas
- **b**= Nombre de cas positifs selon la première méthode mais négatifs selon la seconde= 02 cas
- **c** = Nombre de cas négatifs selon la première méthode mais positifs selon la seconde= 0 cas
- **d**= Nombre de cas négatifs selon les deux méthodes=17 cas
- **N**=a+b+c+d (total des cas)

### 2.8.3.5 Le Coefficient Kappa

Permet d'ajuster l'accord observé en tenant compte de l'accord aléatoire

$$\kappa = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

- $P_o$ = Concordance observée
- $P_e$ = Concordance Aléatoire

**Tableau 20: Degré d'accord et valeur de Kappa (225)**

Accord	Index de Kappa
Excellent	≥ 0,81
Bon	0,61 -0,80
Modéré	0,41 -0,60
Médiocre	0,21 -0,40
Mauvais	0,01 -0,20
Très mauvais	< 0,0

### **3 Résultats**

### 3.1 Caractéristiques démographiques et cliniques

Le nombre de patients dans notre étude est directement lié au nombre de tests réalisés avec les kits de détection de l'EGFR sur biopsie liquide, soit 96 tests : dont 72 pour les échantillons à tester et 24 pour les contrôles positifs et négatifs.

Étant donné que 02 patients ont été testés deux fois, le nombre final de patients inclus dans notre étude est de **70 patients**.

#### 3.1.1 Répartition selon le service/établissement de prise en charge des patients

La majorité des patients (71,4 %) de notre étude sont pris en charge au niveau du service oncologie médicale du CLCC Sétif et le reste au niveau du service de pneumologie du CHU Sétif (28,6 %).

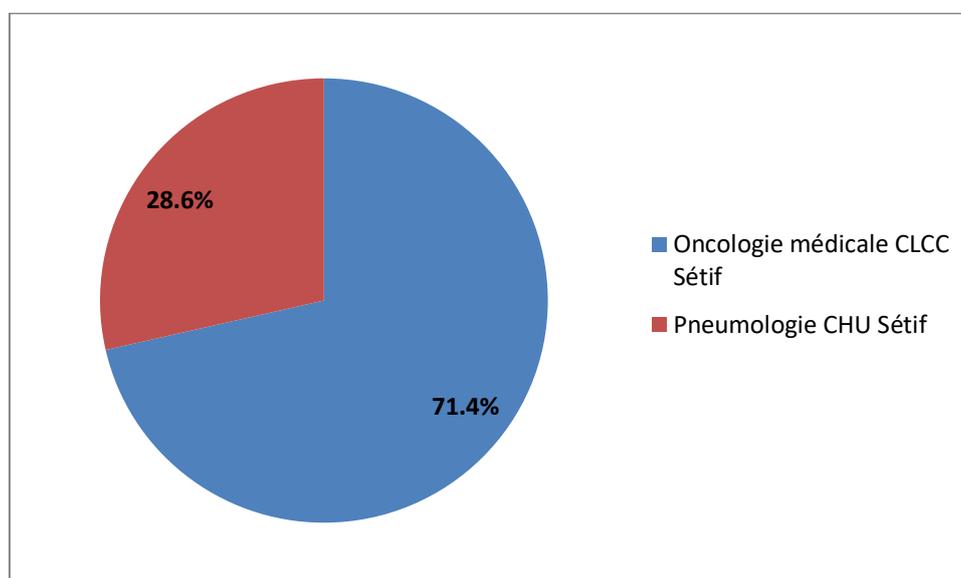


Figure 47: Répartition selon le service/établissement de prise en charge des patients

#### 3.1.2 Répartition selon le sexe

Sur un total de 70 patients, 54,3% sont du sexe masculin vs 45,7% du sexe féminin.

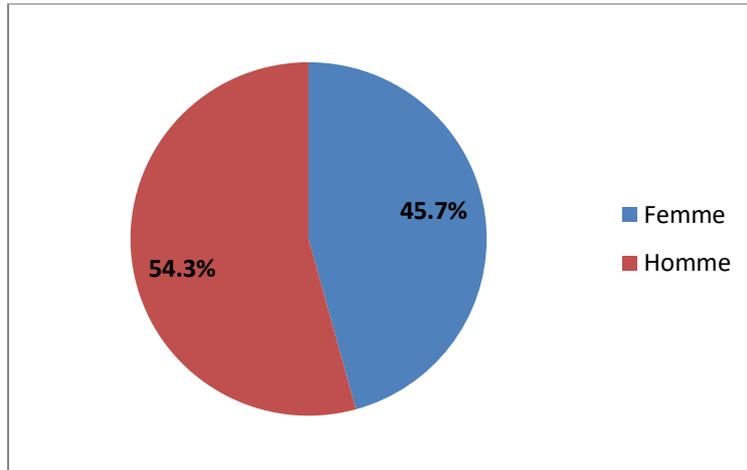


Figure 48: Répartition selon le sexe

### 3.1.3 Répartition des patients selon l'âge

L'âge moyen des patients est de  $62,66 \pm 11,45$  ans allant de 30ans à 80 ans.

Tableau 21: Répartition des patients selon l'âge

Age	Année
Moyenne	62,66
Médiane	64,50
Ecart type	11,452
Plage	50
Minimum	30
Maximum	80

### 3.1.4 Répartition des patients selon les tranches d'âge

64,2% de notre population d'étude a plus de 60 ans, 32,9% a entre 41ans et 60 ans, seuls 2,9% ont moins de 40 ans.

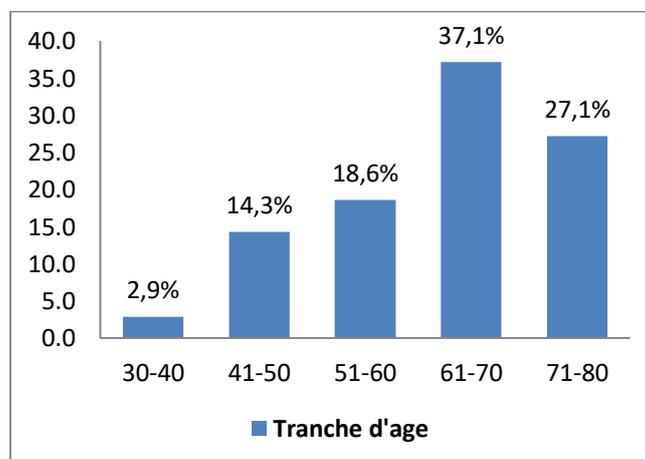


Figure 49: Répartition des patients selon les tranches d'âge

### 3.1.5 Répartition des patients selon l'âge et le genre

La moyenne d'âge chez les hommes est de  $63,47 \pm 11,30$ , elle est de  $61,69 \pm 11,73$  chez les femmes sans qu'il y ait de différence significative ( $P= 0,391$ ).

Même si les sujets de moins de 40 ans sont exclusivement des femmes il n'y a pas de différence significative entre le genre et la tranche d'Age ( $P= 0,323$ ).

**Tableau 22: Répartition des patients selon la moyenne d'âge et le genre**

Age (Années)	Homme	Femme
Moyenne	63,47	61,69
Médiane	66,00	63,00
Ecart type	11,301	11,735
Plage	39	48
Minimum	41	30
Maximum	80	78

**Tableau 23: Répartition des patients selon les tranches d'âge et le genre**

Tranche d'âge	Femme		Homme	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
30-40	2	6,3	0,0	0,0
41-50	3	9,4	7	18,4
51-60	6	18,8	7	18,4
61-70	14	43,8	12	31,6
71-80	7	21,9	12	31,6
Total	32	100,0	38	100,0

### 3.1.6 Répartition selon la wilaya de résidence

72,9% de notre population réside au niveau de la wilaya de Sétif, suivi par BBA (8,6%) et M'sila (4,3%).

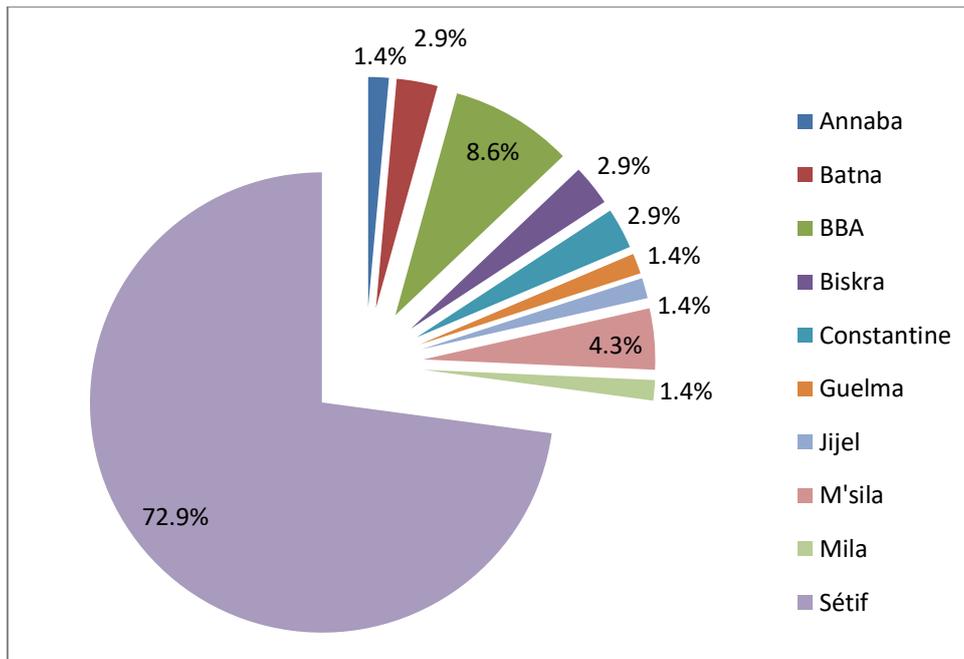


Figure 50: Répartition selon la wilaya de résidence

### 3.1.7 Répartition selon la commune de résidence au niveau de la wilaya de Sétif

un tiers de notre population d'étude réside au niveau de la ville de Sétif, suivie par la commune de Bouгаа (15,7%) , la commune de Ainoulmen (9,8%) et les deux communes d'El-Eulma et de Hamam Sokhna avec (7,8% )chacune.

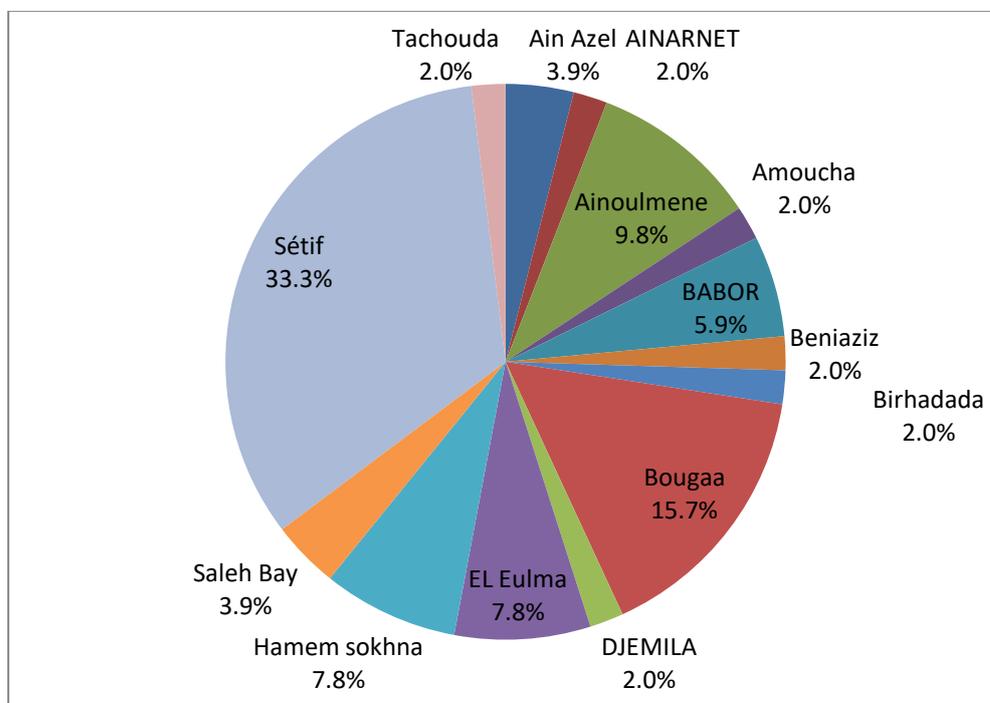


Figure 51: Répartition selon la commune de résidence au niveau de la wilaya de Sétif

### 3.1.8 Répartition selon la profession

Dans notre série, 37,1% des patients sont des femmes au foyer, 12,9% des chauffeurs routiers, suivis par les commerçants et les enseignants avec (7,1%) chacun.

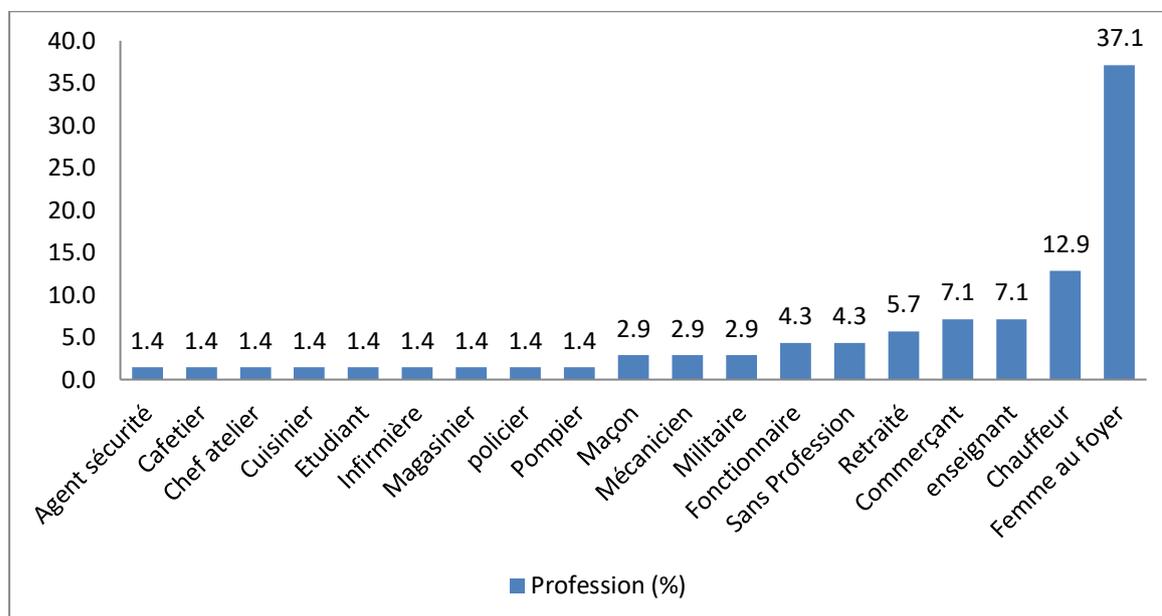


Figure 52: Répartition selon la profession

### 3.1.9 Répartition des patients selon le risque d'exposition professionnel

Parmi les professions à risque de CBP retrouvées dans notre étude, figurent les métiers de chauffeur routier (69%), Maçon (16%) et mécanicien (15%). La catégorie de patients à risque non précisé concerne les cuisiniers, les militaires et les retraités.

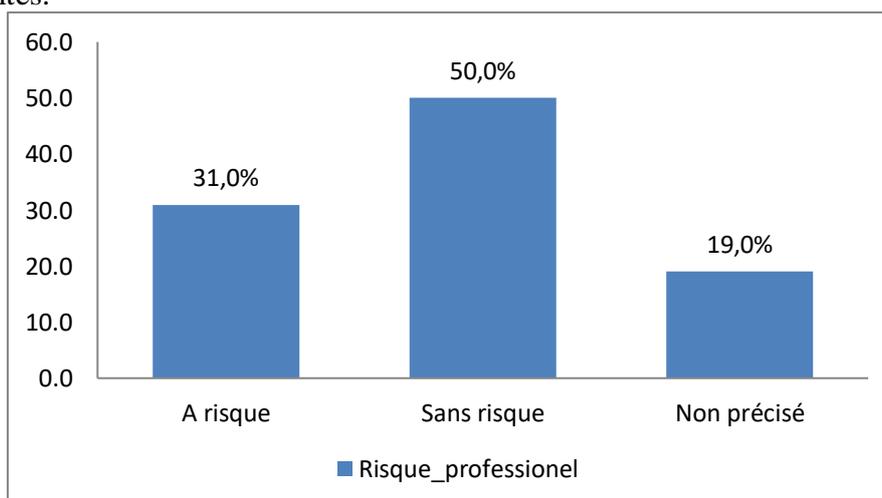
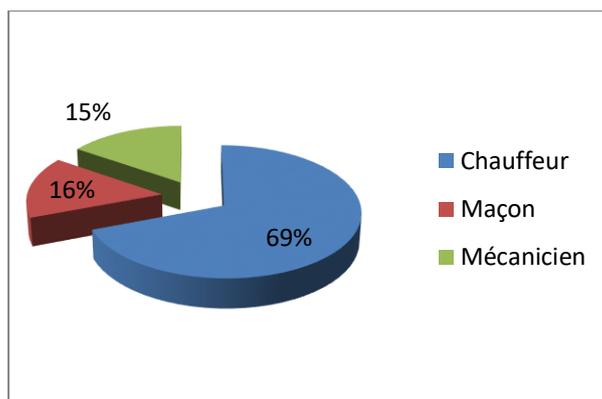


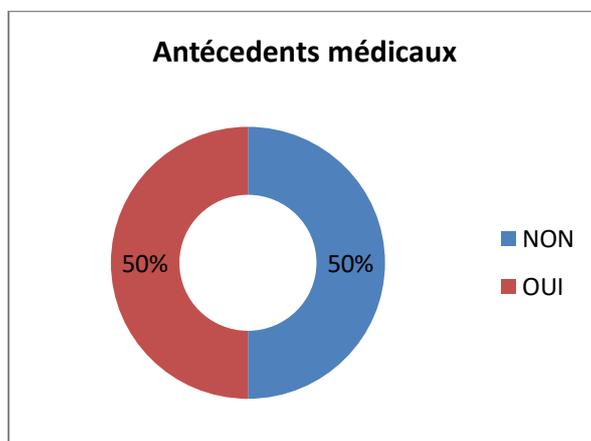
Figure 53: Répartition des patients selon le risque d'exposition professionnel



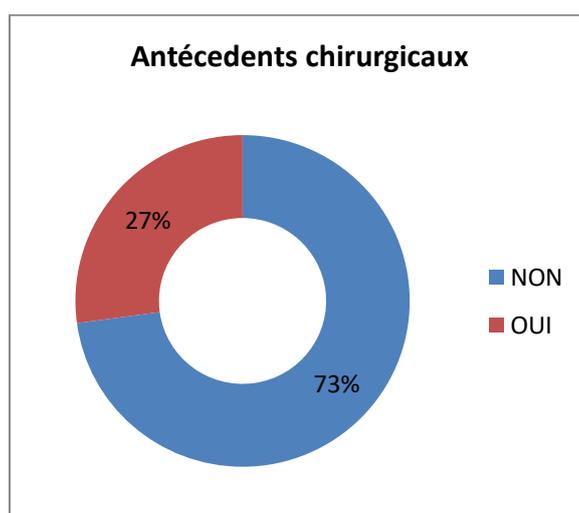
**Figure 54: répartition selon les professions à risque de CBP**

### 3.1.10 Répartition selon les antécédents médico-chirurgicaux

50% des patients présentent des antécédents médicaux et 27% d'antécédents chirurgicaux.



**Figure 55: Répartition selon les antécédents médicaux**



**Figure 56: Répartition selon les antécédents chirurgicaux**

### 3.1.11 Répartition selon les antécédents médicaux par maladie

Dans notre étude un tiers (32,9%) des patients ont une HTA sous traitement, 21,4% sont diabétiques et 8,6% présentent une Hypothyroïdie sous levothyroxine.

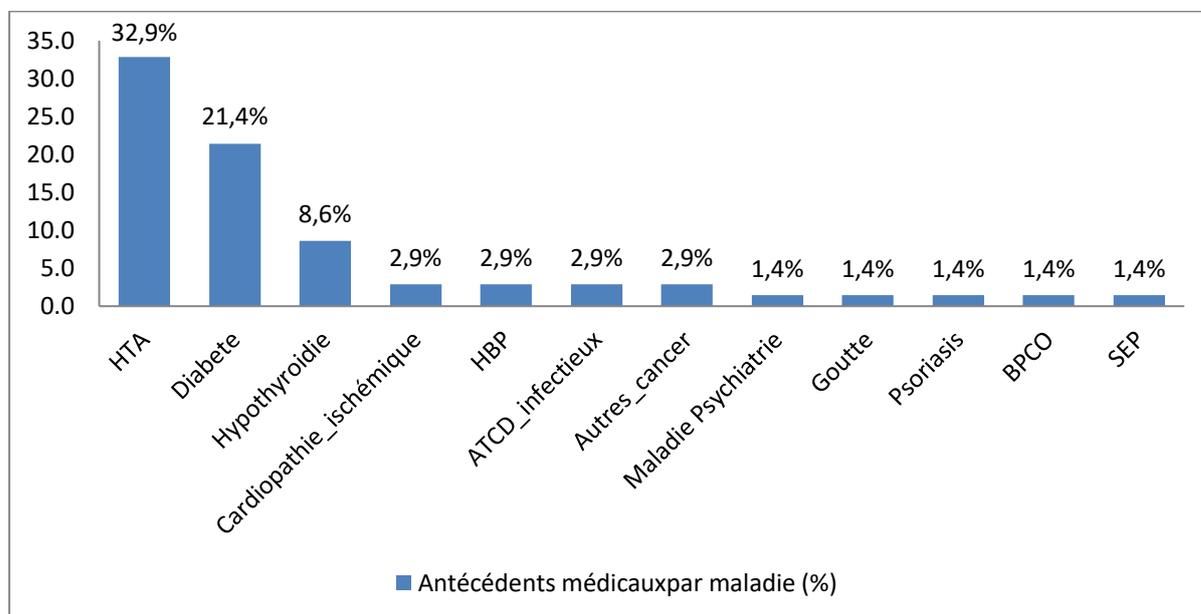


Figure 57: Répartition selon les antécédents médicaux par maladie

### 3.1.12 Répartition selon le statut Tabagique (Tabagisme actif)

Dans notre étude, 56,5% des patients sont non fumeurs, 23,2% sont des EX-Fumeurs, 18,8% sont des fumeurs actifs et 1,4% seulement sont des petits fumeurs.

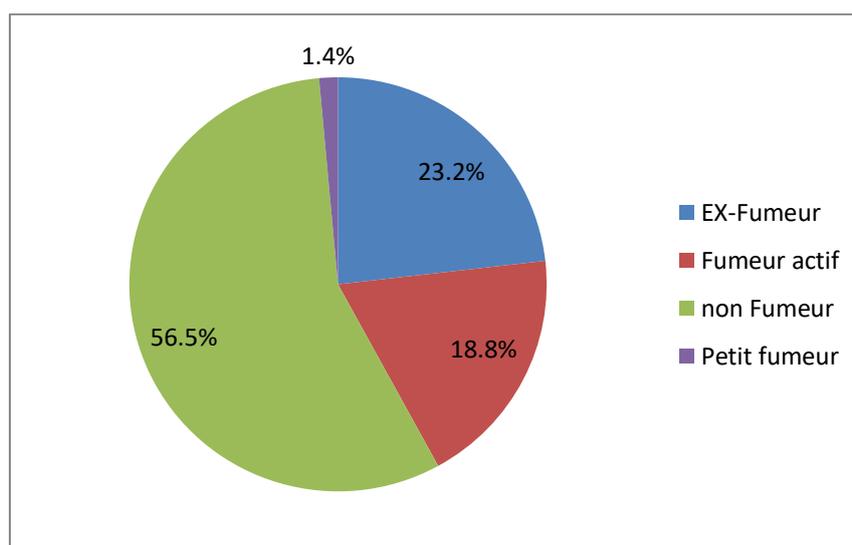


Figure 58: Répartition selon le statut Tabagique (Tabagisme actif)

### 3.1.13 Répartition selon le statut Tabagique actif par genre

Dans notre étude, 18,9% **des hommes** seulement sont non fumeurs, alors que 43,2% sont des EX-Fumeurs, 35,1% sont des fumeurs actifs et 2,7% sont des petits fumeurs. Toutes les **femmes** de notre étude (100%) sont **non fumeurs**.

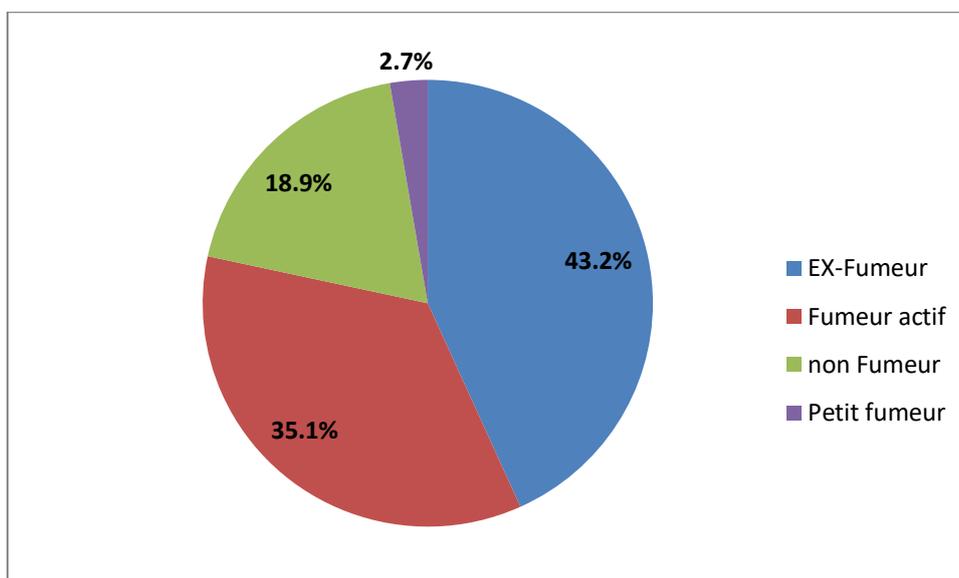


Figure 59: Répartition selon le statut Tabagique actif chez les hommes

### 3.1.14 Répartition selon le Tabagisme passif

Dans notre étude 23,7% des patients non fumeurs présentent la notion de tabagisme passif.

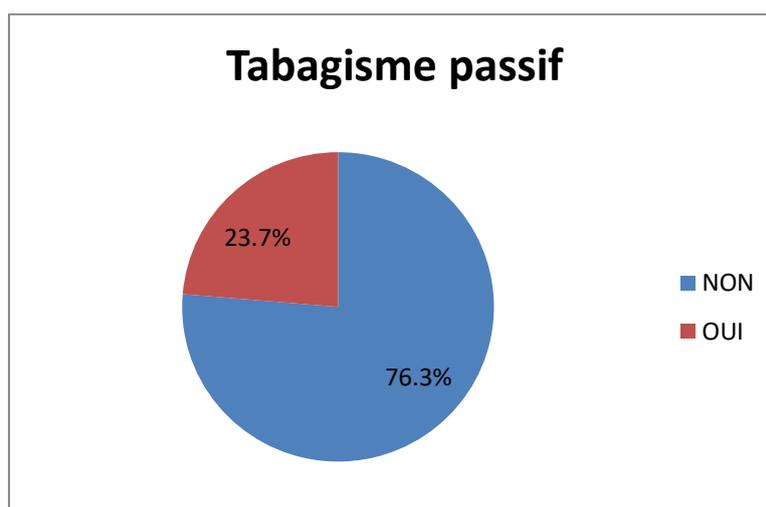


Figure 60: Répartition selon le Tabagisme passif

### 3.1.15 Répartition selon le Tabagisme passif et le genre

16,7% des hommes présentent la notion de tabagisme passif, ce pourcentage est de 25% chez les femmes.

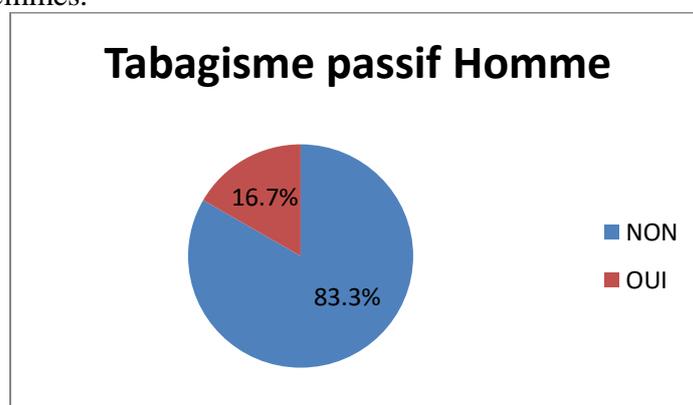


Figure 61: Répartition selon le statut Tabagique passif chez les hommes

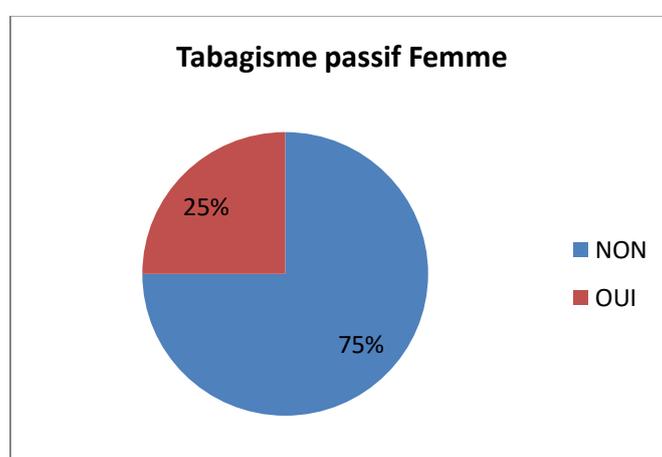


Figure 62: Répartition selon le statut Tabagique passif chez les femmes

### 3.1.16 Répartition selon le sous type histologique

La grande majorité des patients de notre étude présentent un adénocarcinome (94,2%), (2,9%) présentent des carcinomes à grande cellules, et les (2,9%) restants présentent un carcinome pulmonaire type NOS (not otherwise specified).

Tableau 24: Répartition selon Sous type histologique

Sous type histologique	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Adénocarcinome	66	94,3
Carcinome pulmonaire NOS	2	2,9
Carcinome pulmonaire à grande cellule	2	2,9
Total	70	100,0

### 3.1.17 Répartition selon l'origine du prélèvement du tissu tumoral

Les prélèvements histologiques de 79% des patients concernent des localisations tumorales primitives, et les 21% restants des localisations métastatiques.

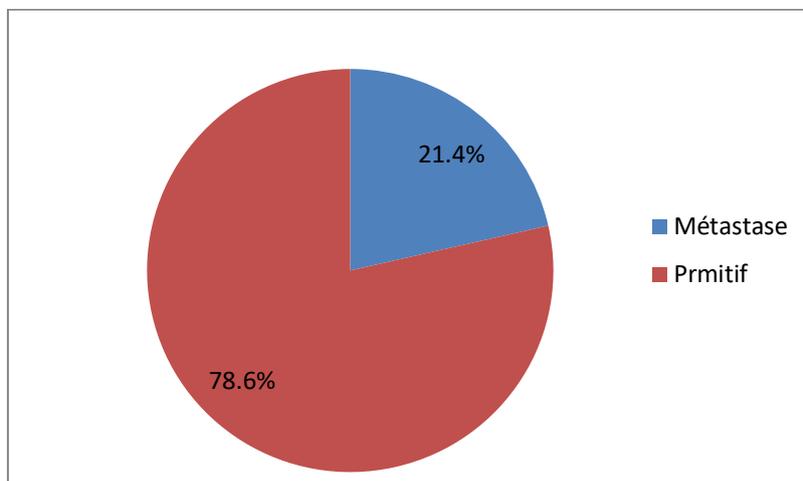


Figure 63: Répartition selon l'origine du prélèvement du tissu tumoral

### 3.1.18 Répartition selon la technique de prélèvements au niveau des localisations tumorales primitives et métastatiques

La technique de prélèvement transpariétale est la technique la plus fréquente (55,7%) des techniques de prélèvements suivi par le prélèvement par biopsie au niveau des sites métastatiques 21,4%. les prélèvements bronchiques par fibroscopie représente 18,6%.

Un seul patient a bénéficié de l'étude anatomopathologique au niveau de la pièce d'exérèse. Notons que pour deux patients (2,9%) la technique de prélèvement n'est pas précisée.

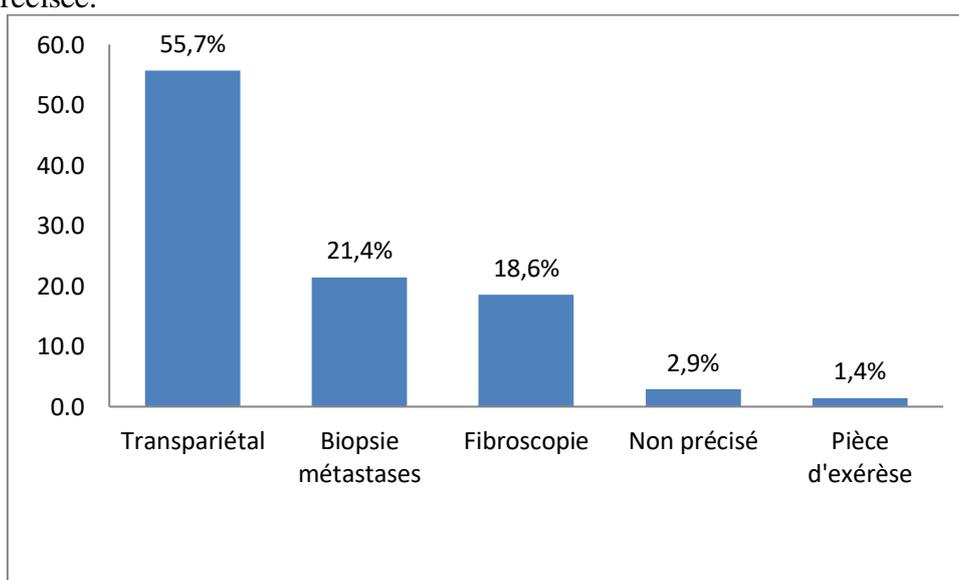


Figure 64: Répartition selon la technique de prélèvements au niveau des localisations tumorales primitives et métastatiques

### 3.1.19 Répartition selon les localisations tumorales secondaires sièges des biopsies des métastases

Une grande partie (60%) des prélèvements tissulaires au niveau des localisations tumorales secondaires se situe au niveau pleural.

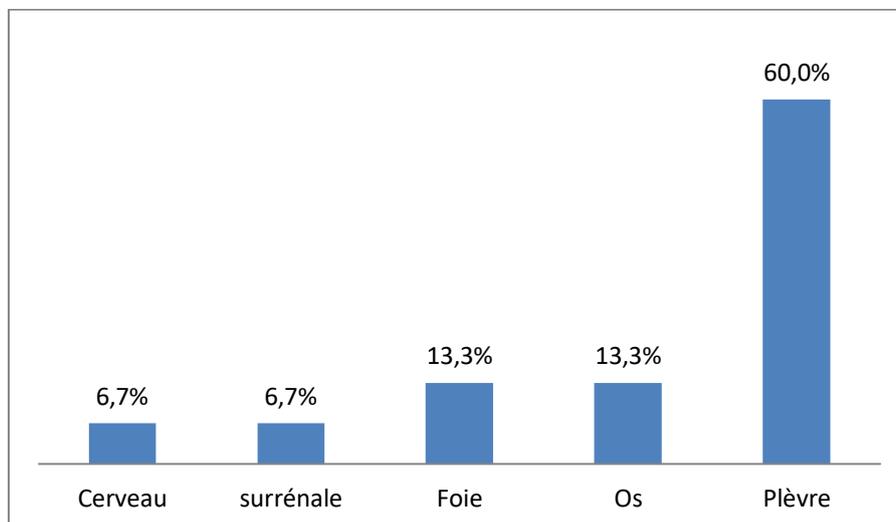


Figure 65: Répartition selon les localisations tumorales secondaires sièges des biopsies des métastases

### 3.1.20 Répartition des patients selon le stade de la maladie au moment du diagnostic

Dans notre étude 98,6% des patients étaient diagnostiqués à des stades avancés dont 82,9% à des stades métastatiques. Seul un patient était diagnostiqué à un stade précoce.

Tableau 25: Répartition des patients selon le stade de la maladie au moment du diagnostic

	Stades précoces	Stades localement Avancés			Stades métastatiques	
		IIIa	IIIb	IIIc	Iva	IVb
Effectif (n)	1	6	4	1	18	40
Pourcentage %	1,4	8,6	5,7	1,4	25,7	57,1

### 3.1.21 Répartition des patients selon le stade actuel de la maladie

94,3% des patients sont à des stades métastatiques au moment de l'étude, et seuls 5,7% sont à des stades localement avancés.

**Tableau 26: Répartition des patients selon le stade actuel de la maladie**

	Stades localement Avancés			Stades métastatiques	
Effectif (n)	4			66	
Pourcentage %	5,7			94,3	
	IIIa	IIIb	IIIc	IVa	IVb
Effectif (n)	2	1	1	23	43
Pourcentage %	2,9	1,4	1,4	32,9	61,4

### 3.1.22 Répartition des patients selon le nombre de localisations métastatiques

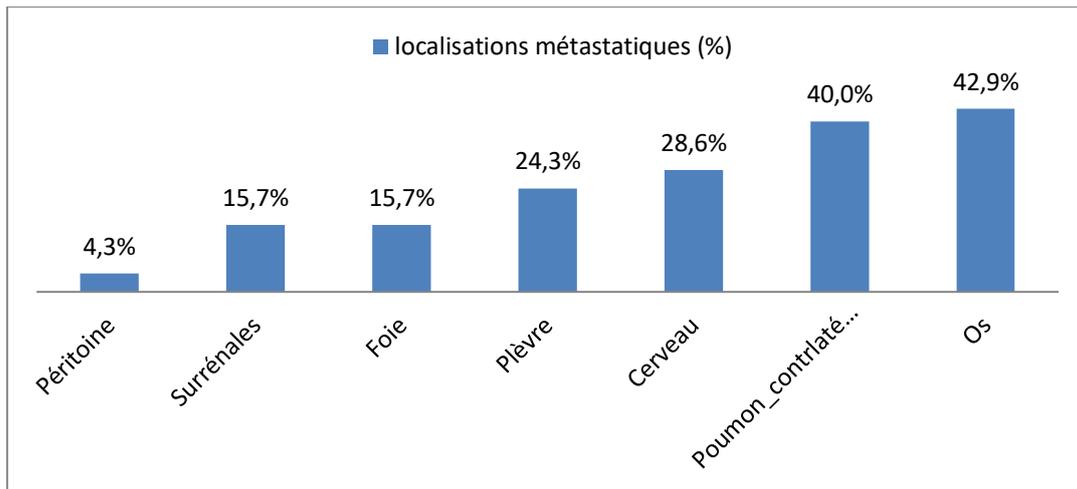
42,9% des patients présentent une seule localisation métastatique, 27,1% deux localisations métastatiques, 18,6% trois localisations métastatiques et 5,7% quatre localisations métastatiques. Les 5,7% restant sont à un stade localement avancé et ne présentent donc aucune métastase à distance.

**Tableau 27: Répartition des patients par le nombre des localisations métastatiques**

Nombre de localisations	Effectif (n)	Pourcentage %
Aucune	4	5,7
Une	30	42,9
deux	19	27,1
Trois	13	18,6
Quatre	4	5,7
Total	70	100,0

### 3.1.23 Répartition selon les organes sièges des localisations métastatiques

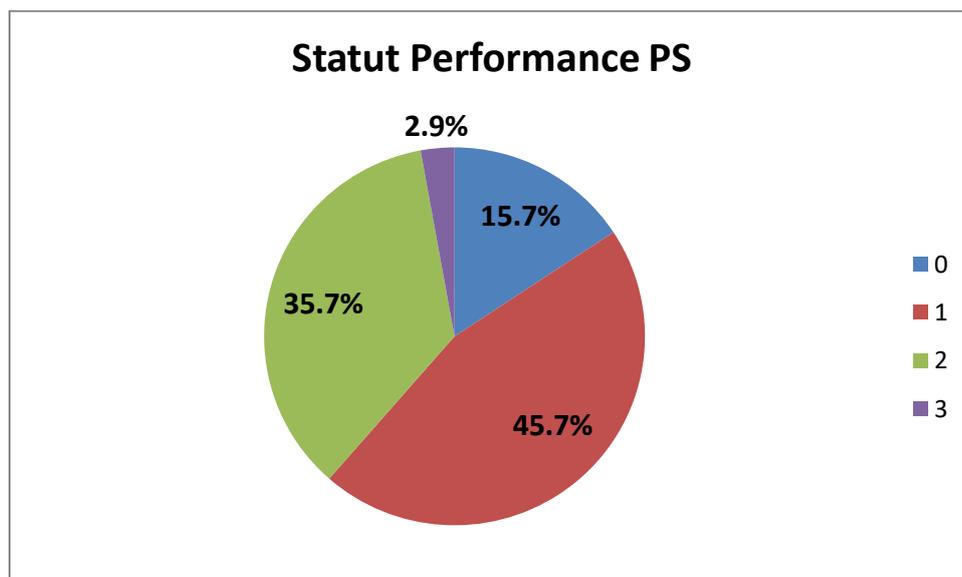
42,9% des métastases siègent au niveau osseux, 40,0% au niveau du poumon controlatéral. Les localisations cérébrales représentent 28,6%, les localisations pleurales 24,3%, les localisations hépatiques et surrénales 15,7% chacune et enfin 4,3% des localisations sont péritonéales.



**Figure 66: Répartition selon les organes sièges des localisations métastatiques**

### 3.1.24 Répartition selon l'indice de statut performance (PS) de l'OMS

Le PS de 46% des patients est de 1, pour 36% des patients le PS est de 2, le PS de 15% des patients est de 0, et enfin seuls 3% des patients ont un PS de 3.



**Figure 67: Répartition selon l'indice de statut performance de l'OMS**

## 3.2 Profil moléculaire

### 3.2.1 Répartition des patients selon l'identification du statut EGFR 18-21 au niveau Tissulaire

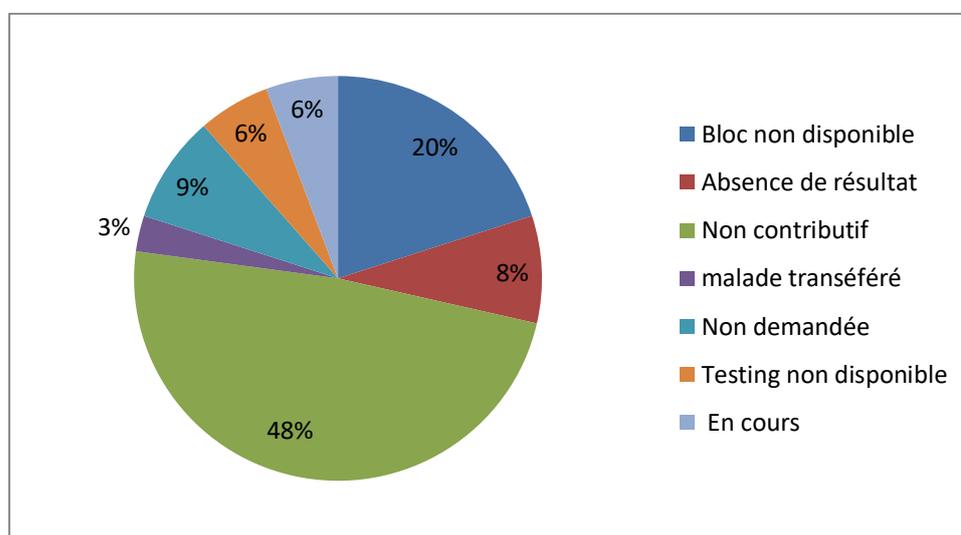
Le statut mutationnel de l'EGFR (18-21) est identifié au niveau tissulaire chez 50 % des patients.

**Tableau 28: Répartition des patients selon l'identification du statut EGFR (18-21) au niveau Tissulaire**

Résultat	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Non identifié	35	50,0%
Identifié	35	50,0%
Total	70	100,0

### 3.2.2 Répartition selon les motifs de l'absence de statut EGFR(18-21) identifié au niveau tissulaire

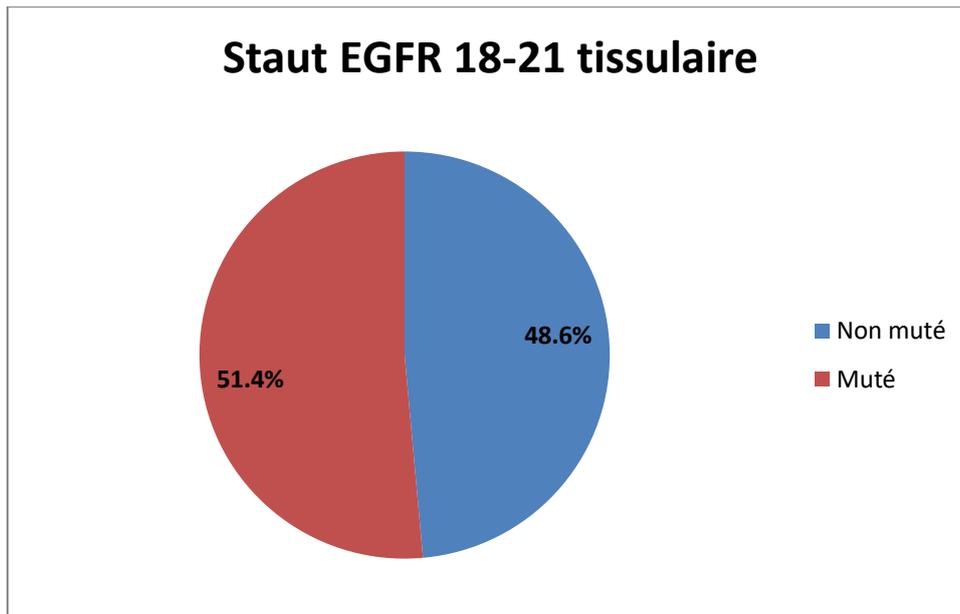
Sur les 35 patients dont le statut EGFR (18-21) n'est pas identifié au niveau tissulaire, 49% ont une recherche du statut EGFR (18-21) tissulaire non contributive, 20% non réalisée par absence de bloc tissulaire, 8% non demandée par le médecin, dans 8% des cas pour absence de résultats communiqués au médecin, dans 6% des cas pour non disponibilité de testing et pour les 6% restants les résultats sont toujours en attente.



**Figure 68: Répartition selon les motifs de l'absence de statut EGFR identifié au niveau tissulaire**

### 3.2.3 Répartition des résultats des patients selon l'identification du statut EGFR 18-21 au niveau Tissulaire

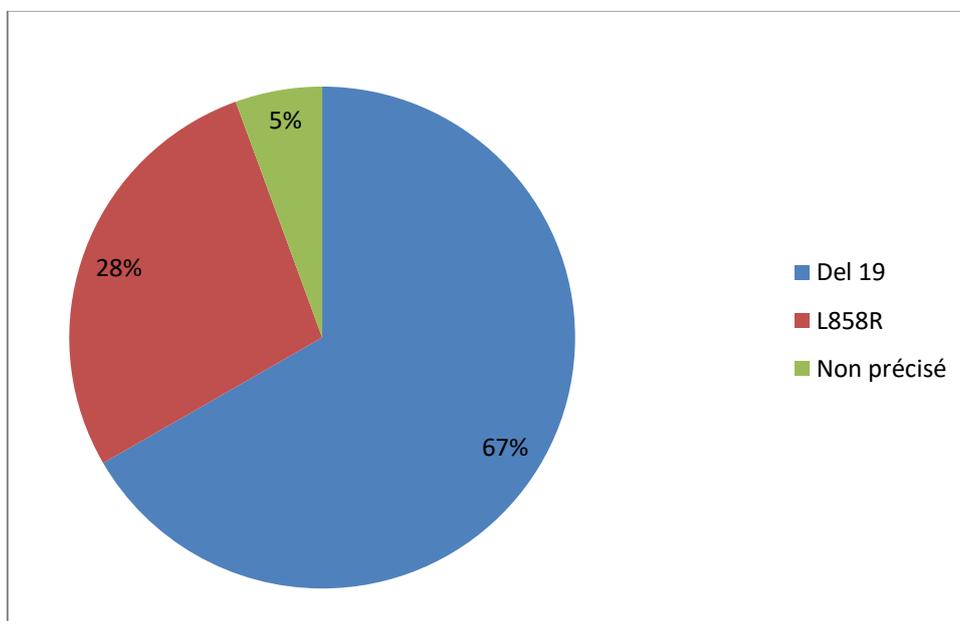
Sur les 35 patients dont le statut EGFR 18-21 est identifié au niveau tissulaire, 51,4% ont un statut identifié comme muté, et 48,6% un statut identifié comme non muté.



**Figure 69: Répartition des résultats des patients selon l'identification du statut EGFR 18-21 au niveau Tissulaire**

### 3.2.4 Répartition selon le type de mutation EGFR 18-21 identifiée au niveau tissulaire

67% des mutations de l'EGFR (18-21) identifiées au niveau tissulaire sont des Délétions de l'exon19 , la mutation ponctuelle L858R est retrouvée chez 28% des patients. Le type de mutation d'un seul patient n'est pas précisé.



**Figure 70: Répartition selon le type de mutation EGFR (18-21) identifiée au niveau tissulaire**

### 3.2.5 Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR au niveau tissulaire

Le délai de rendu moyen des résultats de l'EGFR au niveau tissulaire est de 25,73±17,36 jours, avec un minimum de 8jours et un délai maximal de 81 jours.

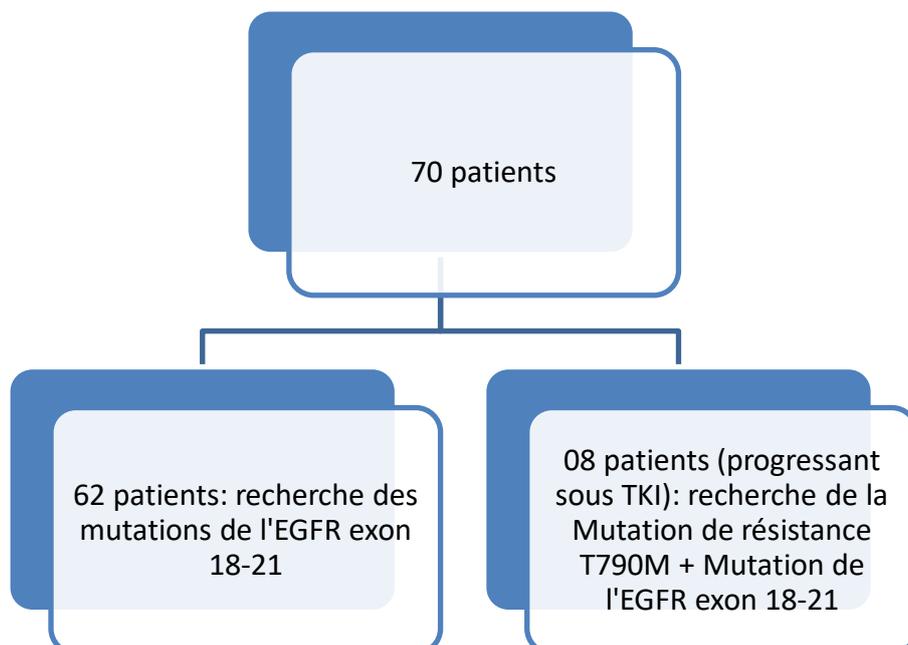
**Tableau 29: Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR (18-21) au niveau tissulaire**

Délais de rendu	Jours
Moyenne	25,73
Médiane	20,50
Ecart type	17,363
Plage	73
Minimum	8
Maximum	81

### 3.2.6 Profil moléculaire au niveau sanguin (biopsie liquide)

Sur les 70 patients, 62 ont fait l'objet de demande de recherche des mutations de l'EGFR (exon 18-21).

08 patients ont fait l'objet de demande recherche de mutation de résistance T790M, mais ont aussi bénéficié d'une recherche des mutations de l'EGFR 18-21.

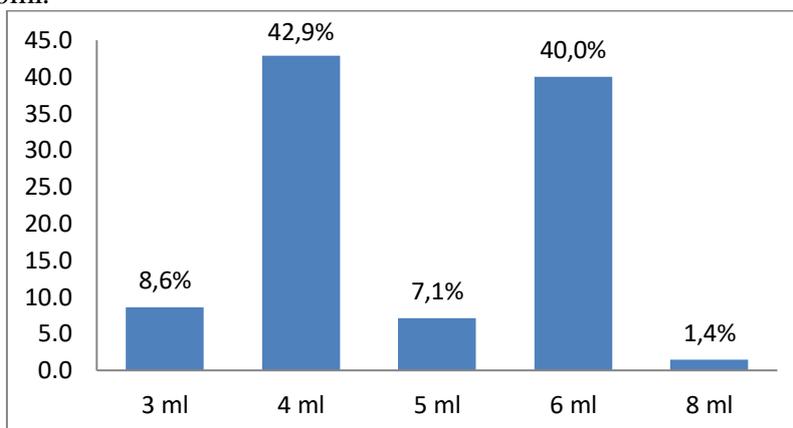


**Figure 71: Répartition des patients en fonction de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

### 3.2.7 Répartition selon le volume plasmatique utilisé pour la recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide

Les volumes plasmatiques utilisés, varient de 3ml à 8ml. Les volumes plasmatiques les plus utilisés sont 4ml et 6ml avec respectivement un pourcentage de 42,9% et 40%

des prélèvements et sont obtenus à partir d'un volume sanguin de départ de 16ml. Le volume plasmatique de 8ml est obtenu une seule fois, à partir d'un volume sanguin de départ de 20ml.



**Figure 72: Répartition selon le volume plasmatique utilisé pour la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

### 3.2.8 Délais entre le prélèvement sanguin et la séparation plasmatique

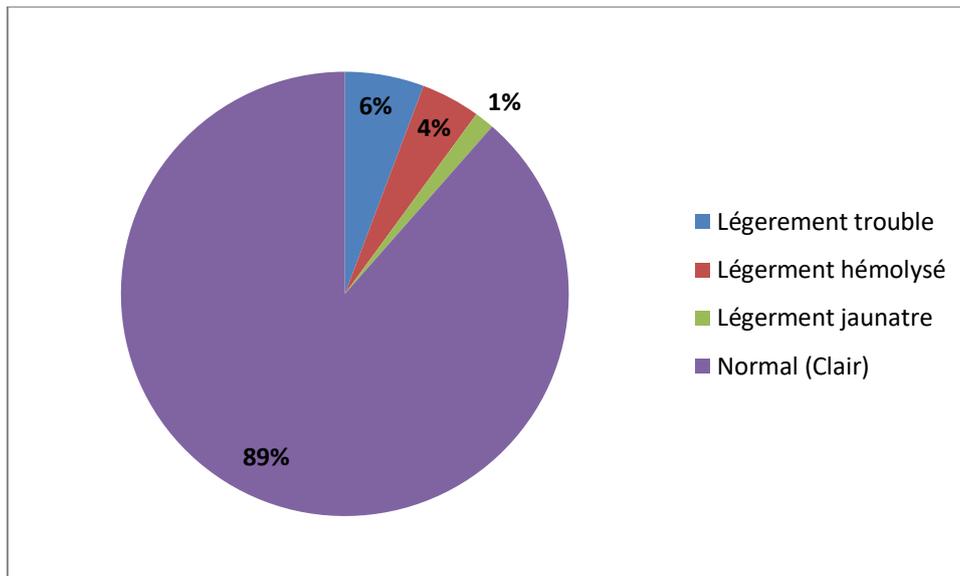
Le délai moyen entre le prélèvement sanguin et la séparation plasmatique est de  $40,17 \pm 19,13$  min sans jamais dépasser les 2H (120min) de temps.

**Tableau 30: Délais entre le prélèvement sanguin et la séparation plasmatique**

Délai	Temps (min)
Moyenne	40,17
Médiane	35,00
Ecart type	19,130
Plage	75
Minimum	15
Maximum	90

### 3.2.9 Répartition selon l'aspect plasmatique

Le contrôle qualité visuel du plasma utilisé pour la recherche des mutations de l'EGFR retrouve que 89% des plasmas récupérés ont un aspect normal(Clair), et rares sont les tubes avec un aspect légèrement trouble, hémolysé ou bien jaunâtre.

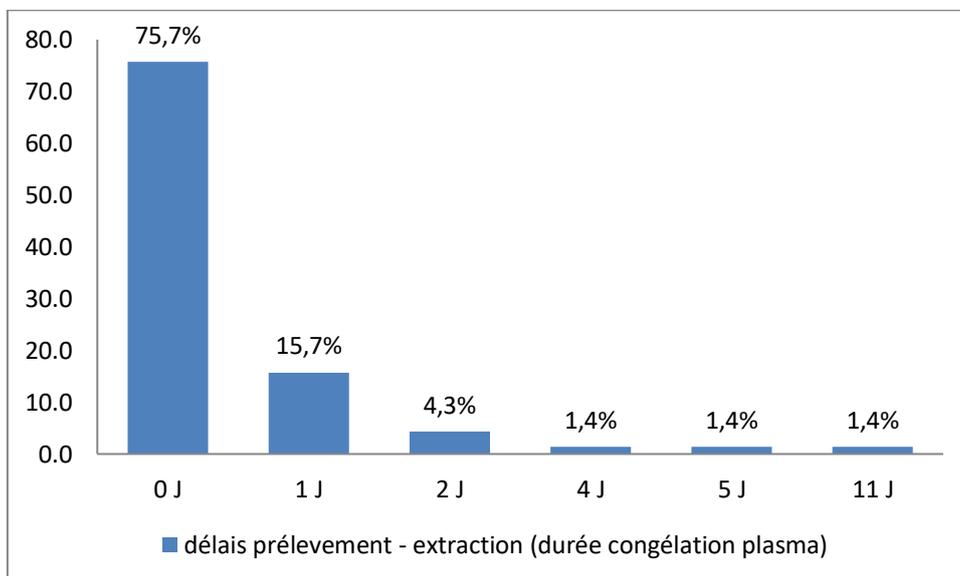


**Figure 73: Répartition selon l'aspect plasmatique**

### 3.2.10 Répartition selon le délai entre le prélèvement et l'extraction de l'ADNc

Ce qui correspond à la durée conservation à  $-20^{\circ}\text{C}$  de chaque volume plasmatique récupéré avant la phase d'extraction.

La majorité (75,7%) des plasmas récupérés n'ont pas été conservés et sont passés à l'étape d'extraction le jour même. La durée de conservation n'a pas dépassé une semaine pour l'ensemble des plasmas récupérés sauf pour un seul prélèvement dont la durée de conservation à  $-20^{\circ}$  a atteint les 11 jours.



**Figure 74: Répartition selon le délai entre le prélèvement et l'extraction de l'ADNc**

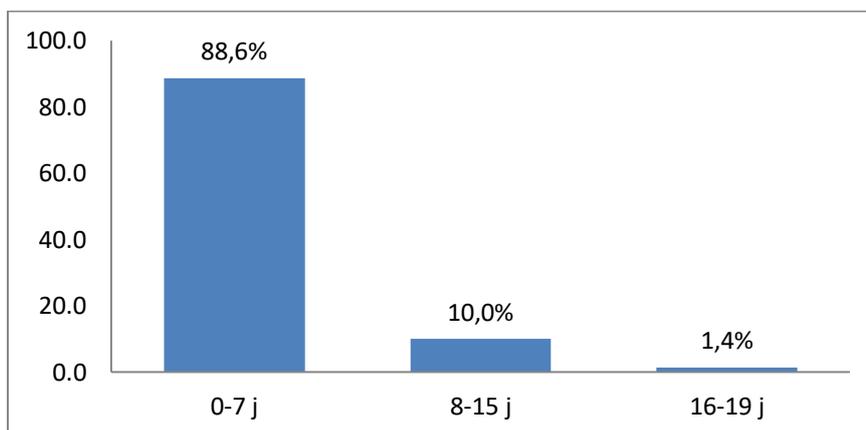
### 3.2.11 Répartition selon les durées de conservation des extraits d'ADNc.

La durée moyenne de conservation de nos extraits d'ADNc à -20°C est de  $4,91 \pm 3,51$  avec un maximum de 19 jours avant de lancer la PCR.

88,6% des extraits ont été conservés pendant moins d'une semaine, 10% des extraits entre une à deux semaines, et un seul prélèvement pendant plus de deux semaines (19 jours).

**Tableau 31: durées de conservation des extraits d'ADNc**

Durée de conservation	Jours (J)
Moyenne	4,91
Médiane	5,00
Ecart type	3,513
Plage	19
Minimum	0
Maximum	19



**Figure 75: Répartition selon les durées de conservation des extraits d'ADNc**

### 3.2.12 Concentrations d'ADNc obtenues après extraction

La concentration moyenne d'ADNc obtenue après extraction est de 3,45 ng/ul avec des valeurs très disparates d'un prélèvement à un autres (minimum 0,51ng/ul - Maximum de 39,ng/ul)

**Tableau 32: Concentrations d'ADNc obtenues après extraction**

Concentration d'ADNc	[C] ng/ul
Moyenne	3,4519
Médiane	1,4000
Ecart type	5,60472
Plage	39,29
Minimum	0,51
Maximum	39,80

### 3.2.13 Répartition selon les concentrations plasmatiques d'ADNc

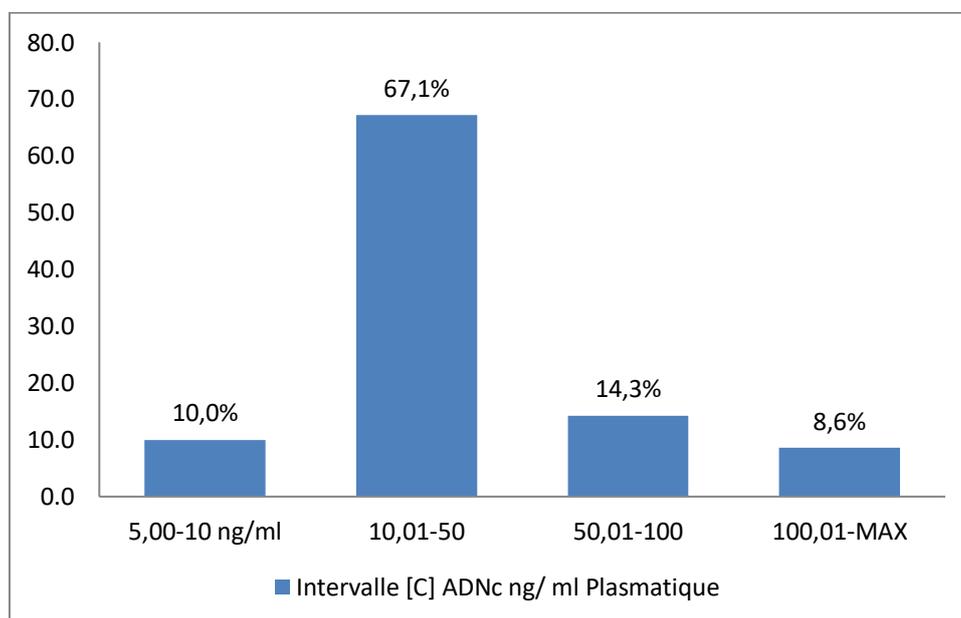
La concentration plasmatique d'ADNc est estimée en multipliant la concentration de l'extrait d'ADNc obtenu par le volume de l'extrait (60ul) qu'on rapporte par la suite au volume plasmatique initial ayant servi à l'extraction de notre ADNc.

La concentration moyenne d'ADNc est de 42,60 ng/ml de plasma avec un minimum de 5,16 ng/ml de plasma et un maximum de 398ng/ml de plasma.

La majorité des patients (67,1%) ont des concentrations plasmatiques d'ADNc comprises entre 10,01 et 50 ng/ml de plasma. 14,3% des patients ont des concentrations comprises entre 50,01 et 100 ng/ml de plasma. 10% ont des concentrations inférieures à 10ng/ml et 8,6% des patients ont des concentrations supérieures à 100 ng/ml de plasma.

**Tableau 33: Concentrations plasmatiques d'ADNc**

[C] plasmatique ADNc	ng/ml de plasma
Moyenne	42,6074
Médiane	20,3250
Ecart type	63,19043
Plage	392,84
Minimum	5,16
Maximum	398,00



**Figure 76: Répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc par tranches**

### 3.2.14 Concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction du nombre de métastases

Etant donnée que le Test Homogénéité des variances est significatif ( $P < 0,05$ ), on a conclu à la non homogénéité des variances, raison pour laquelle au lieu de recourir au

test ANOVA , on procède à une analyse par le test de WELSH dont le (P=0,065) est non significatif.

Il n'y a pas de lien statistiquement significatif entre le nombre de métastases et les concentrations plasmatiques d'ADNc.

**Tableau 34: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction du nombre de métastases**

Nombre métastases	[C] plasmatique d'ADNc ng/ml				
	N	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum
0	4	14,2950	9,43281	5,16	27,40
1	30	34,3770	37,58127	5,68	170,00
2	19	63,7121	105,13385	8,36	398,00
3	13	32,2692	24,82411	10,02	84,00
4	4	66,0000	59,61829	15,00	151,50
Total	70	42,6074	63,19040	5,16	398,00

### 3.2.15 Concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction des délais de séparation plasmatique

Test Homogénéité des variances est non significatif (P=0,123), on a conclu à l'homogénéité des variances. Evaluation par test ANOVA est possible : P=0,495 (non significatif).

Il n'y a pas de lien statistiquement significatif entre les délais de séparation plasmatique et les concentrations plasmatiques obtenues d'ADNc.

**Tableau 35: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction du temps de séparation plasmatique**

Temps de séparation plasmatique (min)	[C] plasmatique d'ADNc ng/ml				
	N	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
0-30	29	31,8517	29,76465	5,68	129,75
31-60	31	49,6306	83,85666	5,16	398,00
61-90	10	52,0270	61,44852	8,36	170,00
Total	70	42,6074	63,19040	5,16	398,00

### 3.2.16 Concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction de l'aspect plasmatique

Test Homogénéité des variances est non significatif (P=0,505), on a conclu à l'homogénéité des variances. Evaluation par test ANOVA: P=0,641 (non significatif).

Il n'y a pas de lien significatif entre les aspects plasmatiques et les concentrations plasmatiques obtenues d'ADNc.

**Tableau 36: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc en fonction de l'aspect plasmatique**

Aspect plasmatique	[C] de plasma d'ADNc ng/ml				
	N	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
Aspect Normal	62	40,0197	64,87164	5,16	398,00
Aspect légèrement jaunâtre	1	39,0000		39,00	39,00
Aspect légèrement hémolysé	3	88,3067	75,49269	21,12	170,00
Aspect légèrement trouble	4	49,3450	13,38402	31,90	63,00
Total	70	42,6074	63,19040	5,16	398,00

### 3.2.17 Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide en fonction des demandes des prescripteurs

Sur les 62 patients faisant objet de demande de recherche des mutations de l'exon18-21, 19 patients (30,6%) ont un statut EGFR muté, 42 patients (67,7%) ne présentent pas de mutation de l'EGFR, et le statut d'un seul patient reste inconnu suite à l'invalidité de la recherche.

Sur les 8 patients faisant objet de demande de recherche des mutations de résistance T790M, un seul patient présente cette mutation.

**Tableau 37: Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide en fonction des demandes des prescripteurs**

Résultats	Mutations de l'exon 18-21		mutation de résistance T790M	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Invalide	1	1,6	0	0
Non muté	42	67,7	7	87,5
Muté	19	30,6	1	12,5
Total	62	100,0	8	100,0

### 3.2.18 Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR (18-21) sur biopsie liquide de tous les patients.

En plus des patients faisant l'objet d'une demande de recherche des mutations de l'EGFR (18-21), ces dernières sont toutes présentes chez les 8 patients faisant l'objet d'une demande de recherche de la mutation de résistance T790M.

**Tableau 38: Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR (18-21) sur biopsie liquide chez tous les patients**

Résultats	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Invalide	1	1,4
Non muté	42	60,0
Muté	27	38,6
Total	70	100,0

### 3.2.19 Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR 18-21 sur biopsie liquide chez les patients dont le statut EGFR 18-21 tissulaire n'est pas identifié

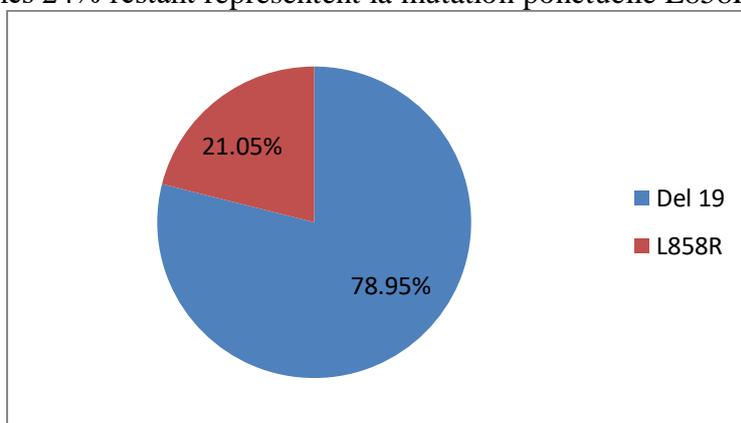
Sur les 35 patients dont le statut EGFR 18-21 tissulaire n'est pas identifié, 11 patients (31,4%) ont un EGFR 18-21 muté sur biopsie liquide.

**Tableau 39: Répartition des résultats de recherche des mutations de l'EGFR 18-21 par biopsie liquide chez la patient dont le statut EGFR 18-21 tissulaire n'est pas identifié**

Résultat	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Invalide	1	2,9
Non muté	23	65,7
Muté	11	31,4
Total	35	100,0

### 3.2.20 Répartition selon le type de mutation EGFR 18-21 identifiée sur biopsie liquide

79% des mutations de l'EGFR 18-21 identifiées sur biopsie liquide sont des délétions de l'exon 19, les 24% restant représentent la mutation ponctuelle L858R.



**Figure 77: Répartition selon le type de mutation EGFR 18-21 identifiée sur biopsie liquide**

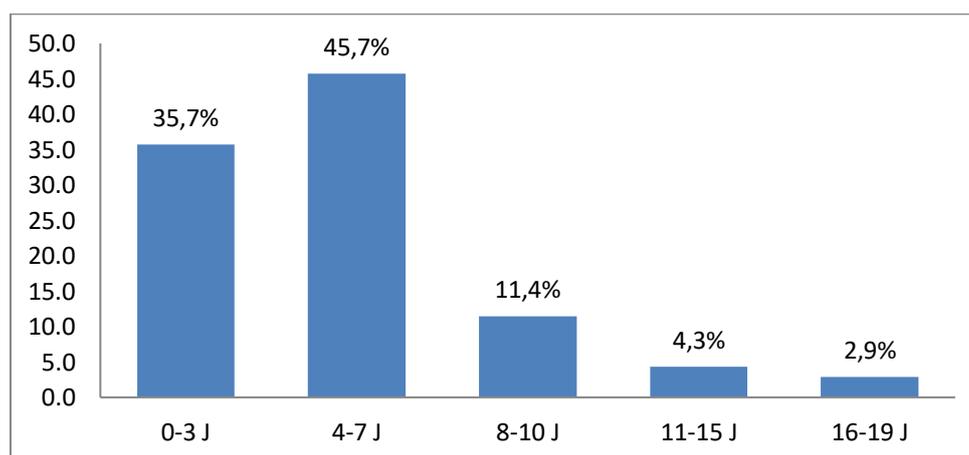
### 3.2.21 Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide

Le délai moyen de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide est de  $5,44 \pm 3,91$  jours. Avec un délai maximal de 19 Jours.

35,7% des résultats étaient rendus dans les 3 jours suivant la demande, 45,7% entre 3 jours à une semaine, 15,7% entre une à deux semaines et 2,9% après plus de deux semaines sans dépasser les 19 jours.

**Tableau 40: Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

Délai de rendu	Jours (J)
Moyenne	5,44
Médiane	6,00
Ecart type	3,911
Plage	19
Minimum	0
Maximum	19



**Figure 78: Délais de rendu des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

### 3.2.22 Comparaison des délais de rendu de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide Vs biopsie tissulaire

La comparaison s'est réalisée par deux méthodes :

- 1) par comparaison des moyennes : test t pour échantillons indépendants (Welch's t-test) donne une statistique t avec une valeur  $p < 0,0001$
- 2) par le test t des échantillons appariés : avec une différence significative ( $P < 0,0001$ ).

Comme la distribution n'est pas normale, on fait aussi appel au test de Test de classement de Wilcoxon qui révèle une différence significative ( $P < 0,0001$ ).

-Cela indique une **différence très significative** entre les délais d'obtention des résultats sur biopsie liquide et sur biopsie tissulaire.

Le délai moyen d'obtention des résultats est **significativement plus court pour la biopsie liquide** par rapport à celui de la biopsie tissulaire.

**Tableau 41: Test de classement de Wilcoxon**

		N	Rang moyen :	Somme des rangs
Délai moyen de rendu biopsie liquide Vs biopsie tissulaire	Rangs négatifs	43 <sup>a</sup>	22,94	986,50
	Rangs positifs	1 <sup>b</sup>	3,50	3,50
	Ex aequo	0 <sup>c</sup>		
	Total	44		
a. Délai Biopsie liquide < Délai biopsie tissulaire				
b. Délai Biopsie liquide > Délai biopsie tissulaire				
c. Délai Biopsie liquide = Délai biopsie tissulaire				

### 3.2.23 Evaluation de la performance de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide dans notre étude

En considérant la recherche tissulaire comme méthode de référence et en prenant en considération les résultats tissulaires valides seulement on obtient les résultats suivants :

**Tableau 42: Résultats valides de recherche des mutations de l'EGFR sur tissu**

Résultats	Effectif(n)	Pourcentage(%)
Négatif	17	48,6
Positif	18	51,4
Total	35	100,0

**Tableau 43: Résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide des malades dont les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur tissu sont valides**

Résultats	Effectif(n)	Pourcentage(%)
Négatif	19	54,3
Positif	16	45,7
Total	35	100,0

**Tableau 44: croisement des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide et biopsie tissulaire**

	EGFR muté sur tissu	EGFR non muté sur tissu	Total
EGFR muté sur biopsie liquide	16	0	16
EGFR non muté sur biopsie liquide	2	17	19
Total	18	17	35

**-La concordance :** Le Taux de « concordance observée » dans notre étude est de **94,29%**.

**-La sensibilité et la spécificité :**

**La sensibilité** de la technique de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide dans notre étude est de **88,89%**.

**La spécificité** de la technique de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide dans notre étude est de **100%**.

**-Les Valeurs prédictives :**

La valeur prédictive positive (**VPP**) est de **100%**

La valeur prédictive négative (**VPN**) est de **89,5%**.

**La Concordance Aléatoire ( $P_e$ )** est de **49,88 %**

**Le Coefficient Kappa** est de **0,886**.

Un kappa de 0,886 indique une **très bonne concordance** entre les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide et ceux sur biopsie tissulaire, bien au-delà de ce qui serait attendu par hasard.

### **3.2.24 Répartition selon le statut mutationnel définitif de l'EGFR**

En combinant les résultats de recherche obtenus par les deux méthodes (tissulaire et liquide) on retrouve :

-29 patients (41,4%) ont une mutation de l'EGFR (Exons18-21), 40 patients (57,1%) sont non mutés, un seul patient est resté avec un statut indéterminé.

-un seul patient (12,5%) sur les 8 patients progressant sous TKI anti EGFR présente la mutation de résistance T790M.

**Tableau 45: Statut mutationnel définitif de l'EGFR de l'ensemble des patients**

Statut EGFR	Mutations de l'exon 18-21		mutation de résistance T790M	
	Effectif (n)	Pourcentage (%)	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Non déterminé	1	1,4	0	0
Non muté	40	57,1	7	87,5
Muté	29	41,4	1	12,5
Total	70	100,0	8	100,0

**3.2.25 Fréquence réelle du statut EGFR (18-21)**

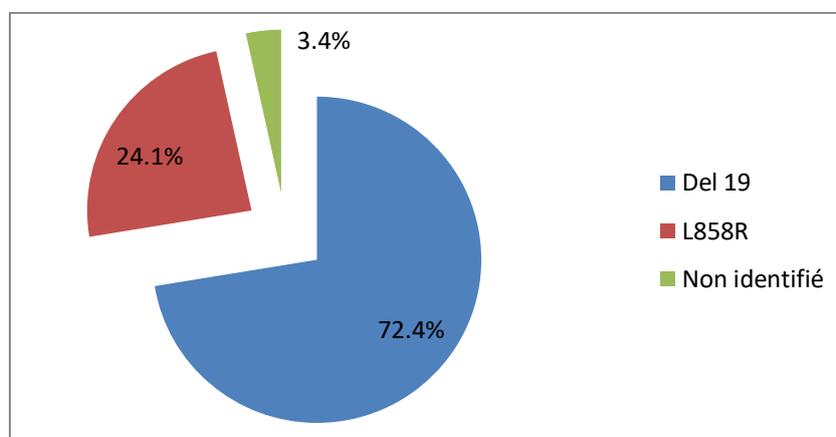
Étant donné que sur les 70 patients, 08 les patients faisant objet de recherche de mutation T790M ont un statut EGFR muté connu avant l'étude, et pour éviter les biais d'échantillonnage, la fréquence réelle des mutations de l'EGFR (18-21) est de 33,9%.

**Tableau 46:Fréquence réelle du statut de l'EGFR (18-21)**

Résultats	Mutations de l'exon 18-21	
	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Non déterminé (ND)	1	1,6
Non muté	40	64,5
Muté	21	33,9
Total	62	100,0

**3.2.26 Répartition selon le type de mutation du statut définitif EGFR.**

(72,4%) des mutations de l'EGFR sont des délétions de l'exon 19, (24,1%) correspondent à la mutation ponctuelle L858R et pour 3,4% (ce qui correspond à un seul patient) le statut est resté non identifié sur tissu et sur biopsie liquide.

**Figure 79: Répartition selon le type de mutation du statut définitif de l'EGFR**

### 3.2.27 Statut EGFR en fonction de sexe

Dans notre série il existe une différence significative du statut EGFR en fonction du sexe avec une prédominance nette d'EGFR muté chez les femmes (P value<0,001)

**Tableau 47: répartition du statut EGFR en fonction du sexe**

		Statut EGFR			Total
		ND	Négatif	Positif	
Sexe	Femme	0	11	21	32
	Homme	1	29	8	38
Total		1	40	29	70

### 3.2.28 Statut EGFR en fonction de l'âge et tranches d'âge

Dans notre série il n'existe pas de différence significative du statut EGFR en fonction de l'âge (P value=0,415) ni les tranches d'âge (P value=0,663).

### 3.2.29 Statut EGFR en fonction des antécédents médicaux

Il n'existe pas de lien significatif entre le statut EGFR et les antécédents médicaux (HTA, Diabète, Hypothyroïdie).

**Tableau 48: répartition du Statut EGFR en fonction des antécédents médicaux**

Antécédents		statut EGFR			Total	Pvalue
		ND	Négatif	Positif		
HTA	NON	1	29	17	47	0,374
	OUI	0	11	12	23	
Total		1	40	29	70	
Diabete	NON	1	29	25	55	0,341
	OUI	0	11	4	15	
Total		1	40	29	70	
Hypothyroïdie	NON	1	39	24	64	0,093
	OUI	0	1	5	6	
Total		1	40	29	70	

### 3.2.30 Statut EGFR en fonction du type histologique

Il n'existe pas de lien significatif entre le statut EGFR et le sous type histologique Pvalue= 0,806.

**Tableau 49: Répartition du statut EGFR en fonction du sous type histologique**

Sous Type histologique	statut EGFR			Total
	ND	Négatif	Positif	
Adénocarcinome	1	37	28	66
Carcinome pulmonaire NOS	0	2	0	2
Carcinome pulmonaire à grande cellule de type NOS	0	1	1	2
Total	1	40	29	70

**3.2.31 Statut EGFR et stade de la maladie**

Il n'existe pas de lien significatif entre le statut EGFR et le stade de la maladie avec un P value=0,467.

**Tableau 50: Croisement du statut EGFR et stade de la maladie**

Stade	Statut EGFR			Total
	ND	Négatif	Positif	
IIIa	0	1	1	2
IIIb	0	1	0	1
IIIc	0	1	0	1
IVa	1	15	7	23
IVb	0	22	21	43
Total	1	40	29	70

**3.2.32 Statut EGFR et statut tabagique (tabagisme actif)**

Il existe un lien significatif entre le statut EGFR et le statut tabagique avec une prédominance d'EGFR muté chez les non fumeurs (Pvalue< 0,002).

**Tableau 51:répartition du statut EGFR en fonction du statut tabagique**

Tabagisme	statut EGFR			Total
	ND	Négatif	Positif	
NON	1	14	24	39
OUI	0	25	5	30
Total	1	39	29	69

**3.2.33 Statut EGFR et tabagisme passif**

Il n'existe pas de lien significatif entre le statut EGFR et le tabagisme passif (Pvalue=0,809)

**Tableau 52: répartition du statut EGFR en fonction du tabagisme passif**

Tabagisme passif	statut_EGFR_			Total
	ND	Négatif	Positif	
NON	1	11	17	29
OUI	0	3	6	9
Total	1	14	23	38

### 3.3 Conduites thérapeutiques

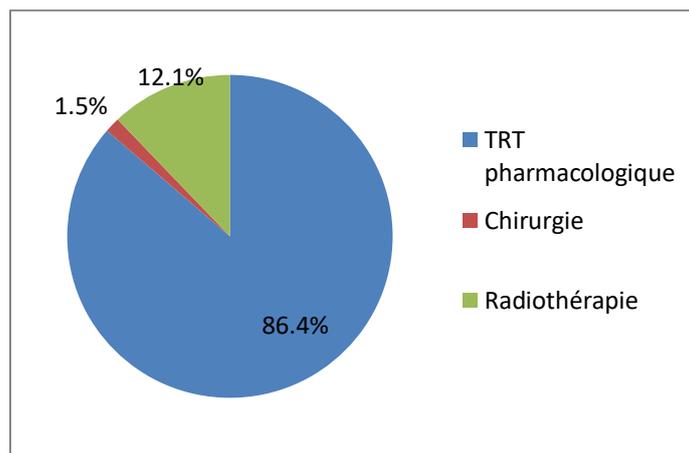
#### 3.3.1 Délais de prise en charge et 1<sup>er</sup> traitement spécifique reçu.

Le délai moyen de prise en charge thérapeutique est de 33,95±23,22 jours avec un minimum de deux jours et un maximum de 116 j.

La 1<sup>ère</sup> prise en charge consisten un traitement pharmacologique spécifique dans 86,4% des cas, une radiothérapie dans 12,1% des cas et une chirurgie dans 1,5% des cas.

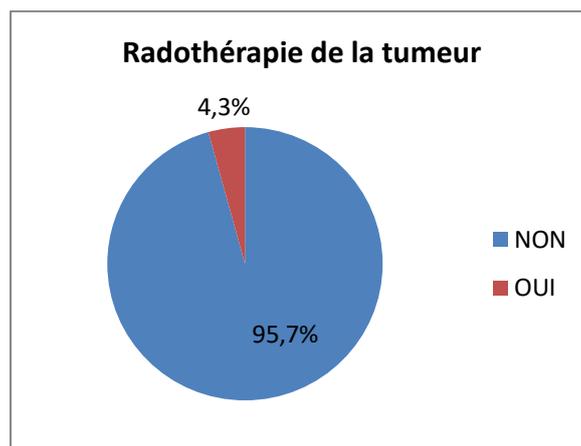
**Tableau 53: Délais de prise en charge thérapeutique des patients**

délais de prise en charge	Jours (J)
Moyenne	33,95
Médiane	29,00
Ecart type	23,228
Plage	114
Minimum	2
Maximum	116

**Figure 80: Répartition selon le 1er traitement spécifique reçu par le patient**

#### 3.3.2 Répartition des patients en fonction du traitement de la tumeur primitive par radiothérapie

Seuls 3 (4,3%) patients ont reçu une radiothérapie de la tumeur primitive, ces patients étaient tous diagnostiqués à un stade localement avancé.



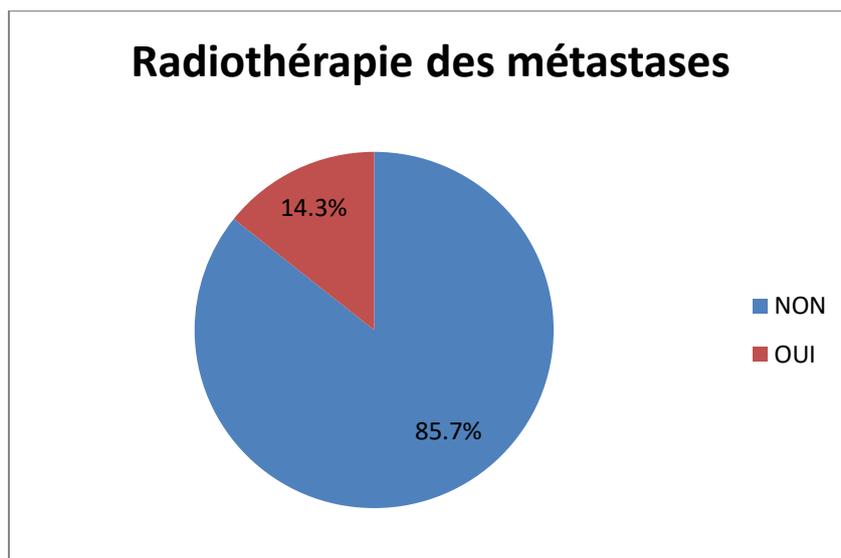
**Figure 81: Répartition des patients en fonction du traitement par radiothérapie tumorale**

**Tableau 54: Répartition en fonction du stade au diagnostic des patients ayant reçu une radiothérapie tumorale**

Stade au diagnostic	Effectif (n)	Pourcentage (%)
IIIa	2	66,7
IIIb	1	33,3
Total	3	100,0

### 3.3.3 Répartition des patients en fonction de la radiothérapie des localisations métastatiques.

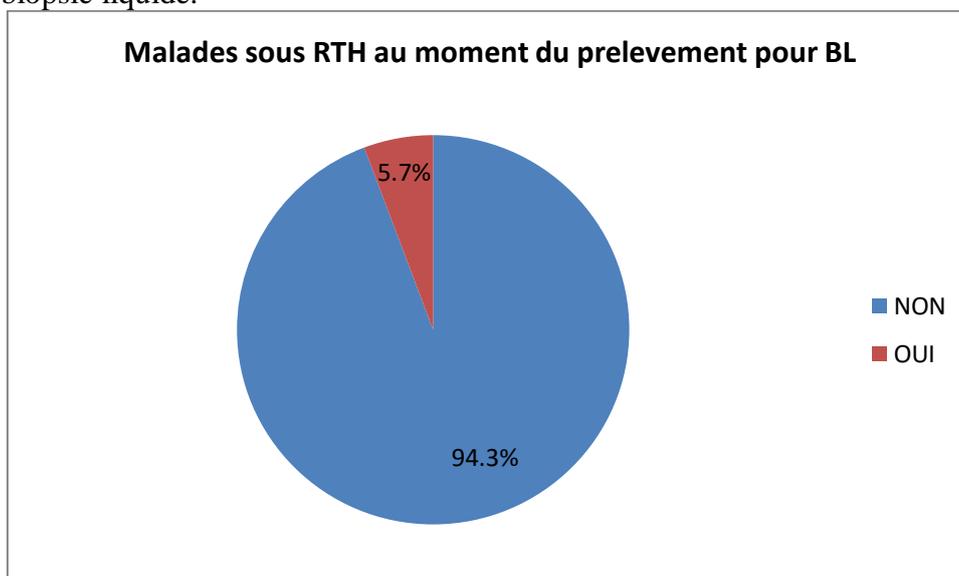
10 patients (14,3%) ont reçu une radiothérapie des localisations métastatiques. ces localisations sont toutes à l'étage cérébral ce qui représentent la moitié des patients de notre étude avec métastases cérébrales.



**Figure 82: Répartition des patients en fonction de la radiothérapie des localisations métastatiques**

### 3.3.4 Patients sous radiothérapie au moment du prélèvement pour biopsie liquide

04 patients (5,7%) ont reçu une radiothérapie dans le mois précédent le prélèvement pour biopsie liquide.



**Figure 83: Patients sous radiothérapie au moment du prélèvement pour biopsie liquide**

### 3.3.5 Concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous radiothérapie au moment du prélèvement.

Etant donné que le Test Homogénéité des variances est significatif ( $P < 0,05$ ), on a conclu à la non homogénéité des données, raison pour laquelle on procède à une analyse par le test de WELSH dont le  $P = 0,579$  (non significatif).

Il n'y a pas de lien significatif entre le fait que le malade soit sous radiothérapie et les concentrations retrouvées d'ADNc.

**Tableau 55: répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous radiothérapie au moment du prélèvement**

<b>[C] ADNc ng/ml de plasma</b>			
Malades sous radiothérapie au moment du prélèvement	N	Moyenne	Ecart type
Oui	4	83,5050	139,35753
Non	66	40,1288	56,86169

### 3.3.6 Répartition des patients selon le traitement chirurgical carcinologique.

3 patients ont fait l'objet de chirurgie carcinologique de la tumeur primitive, l'un deux à un stade précoce et les deux restant à un stade localement avancé opérable.

Une seule patiente a bénéficié de la résection de métastase cérébrale.

**Tableau 56: Répartition des patients selon le traitement chirurgical carcinologique**

type de chirurgie	Stade au diagnostic	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Chirurgie de la tumeur primitive	II	1	25,0
	IIIa	2	50,0
Chirurgie de métastase cérébrale	Iva	1	25,0
Total		4	100

### 3.3.7 Répartition selon le traitement pharmacologique spécifique du CBNPC

45,7% des patients sont naïfs de traitement pharmacologique (non reçu).

54,3% de nos patients sont non naïfs de traitement pharmacologique (déjà reçu) au moment du prélèvement pour la recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide.

**Tableau 57: Répartition selon le traitement pharmacologique spécifique du CBNPC**

TRT pharmacologique spécifique	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Reçu	38	54,3
Non reçu	32	45,7
Total	70	100,0

### 3.3.8 Répartition selon le nombre de lignes thérapeutique déjà reçues au moment du prélèvement pour biopsie liquide

28,6% des patients ont reçu au moins une ligne thérapeutique, 12,9% deux lignes thérapeutiques, 8,6% ont reçu trois lignes thérapeutiques, 2,9% des patients quatre lignes thérapeutiques et enfin un seul patient (1,4%) est allé au bout de la 5<sup>ème</sup> ligne thérapeutique.

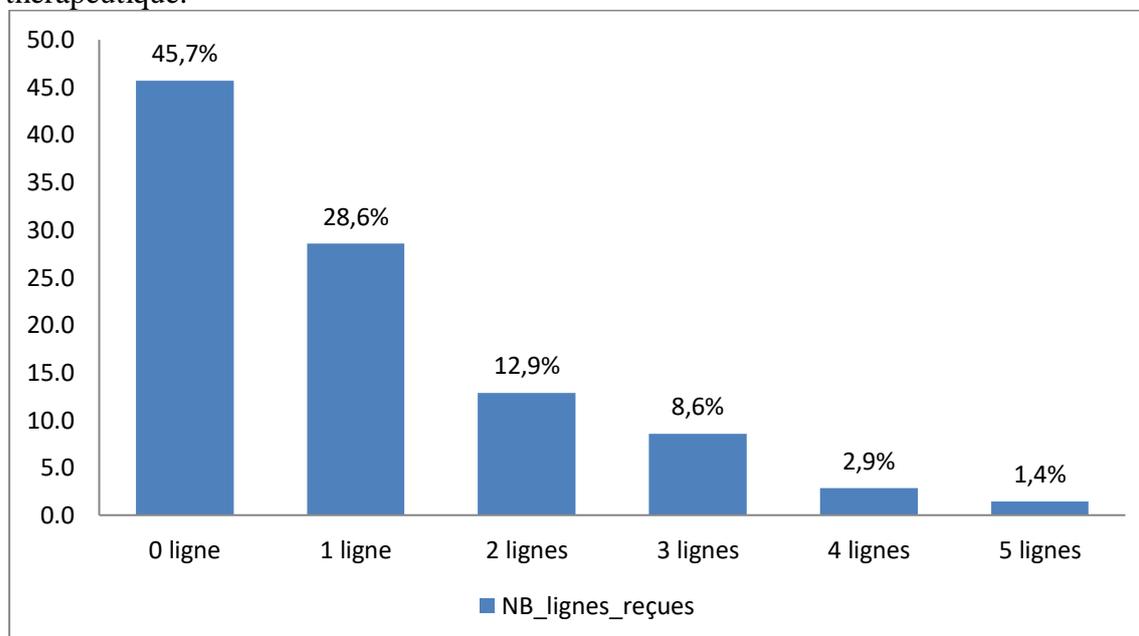


Figure 84: Répartition selon le nombre de lignes thérapeutiques reçues

### 3.3.9 Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 1<sup>ère</sup> ligne.

Chez les patients avec EGFR muté, 63,2% ont reçu une chimiothérapie en 1<sup>ère</sup> ligne, 15,1% une chimiothérapie avec AntiVEGF et 21,1% seulement une TKI anti EGFR. Chez les patients avec EGFR non muté 72,2% reçu une chimiothérapie en 1<sup>ère</sup> ligne et 27,8% une chimiothérapie avec AntiVEGF. Le patient avec statut EGFR non déterminé(ND) a reçu une chimiothérapie en 1<sup>ère</sup> ligne.

Tableau 58: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 1<sup>ère</sup> ligne

Classe thérapeutique	EGFR muté		EGFR non muté		EGFR ND	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Chimiothérapie	12	63,2	13	72,2	1	100,0
Chimiothérapie + antiVEGF	3	15,8	5	27,8	0,0	0,0
TKI AntiEGFR	4	21,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	19	100,0	18	100,0	1	100,0

### 3.3.10 Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 1<sup>ère</sup> ligne de traitement.

19 patients (50%) non naïfs de traitement ont progressé au bout de la 1<sup>ère</sup> ligne. Pour 3 patients (7,9%) ont arrêté la chimiothérapie suite à l'identification d'un statut EGFR muté, pour les mettre ainsi sous TKI anti-EGFR en 2<sup>ème</sup> ligne et 11 patients (29%) sont toujours en cours de traitement de 1<sup>ère</sup> ligne.

**Tableau 59: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 1<sup>ère</sup> ligne de traitement**

Situation thérapeutique	Effectif(n)	Pourcentage (%)
En cours	11	28,9
Identification de statut EGFR muté	3	7,9
Limite de cure possible	1	2,6
Malade disparu	1	2,6
Progression	19	50,0
Toxicité	3	7,9
Total	38	100,0

### 3.3.11 Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 2<sup>ème</sup> ligne.

Chez les patients avec EGFR muté 57,1% ont reçu une chimiothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne, 7,1% une chimiothérapie avec AntiVEGF et 35,7% une TKI anti EGFR.

Chez les patients avec EGFR non muté tous les patients ont reçu une chimiothérapie en 2<sup>ème</sup> ligne.

**Tableau 60: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 2<sup>ème</sup> ligne reçue**

Classe thérapeutique	EGFR muté		EGFR non muté	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Chimiothérapie	8	57,1	3	100,0
Chimiothérapie + antiVEGF	1	7,1	0,0	0,0
TKI AntiEGFR	5	35,7	0,0	0,0
Total	14	100,0	3	100,0

### 3.3.12 Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement avec au bout de la 2<sup>ème</sup> ligne de traitement.

9 patients (50% ) non naïfs de traitement ont progressé au bout de la 2<sup>ème</sup> ligne. 3 patients (16,7)% ont arrêté leur traitement suite à l'apparition de toxicité et 5 patients (27,8%) sont toujours en cours de traitement de 2<sup>ème</sup> ligne. Signalons l'arrêt du traitement chez un patient suite à une pénurie d chimiothérapie (Docetaxel).

**Tableau 61: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 2<sup>ème</sup> ligne de traitement**

Situation thérapeutique	Effectif(n)	Pourcentage (%)
En cours	5	27,8
Progression	9	50,0
Rupture du produit	1	5,6
Toxicité	3	16,7
Total	18	100,0

### 3.3.13 Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 3<sup>ème</sup> ligne reçu.

Tous les patients (9 patients) non naïfs de traitement ont reçu une chimiothérapie en 3<sup>ème</sup> ligne quelque soit leur statut EGFR.

**Tableau 62: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 3<sup>ème</sup> ligne**

Classe thérapeutique	EGFR muté		EGFR non muté	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Chimiothérapie	6	100,0	3	100,0

### 3.3.14 Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 3<sup>ème</sup> ligne de traitement

44,4% des patients ont progressé au bout de la 3<sup>ème</sup> ligne, 33,33% ont arrêté leur traitement suite à des toxicités, et 22,2% sont toujours en cours de traitement.

**Tableau 63: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 3<sup>ème</sup> ligne de traitement.**

Situation thérapeutique	Effectif(n)	Pourcentage (%)
En cours	2	22,2
Progression	4	44,4
Toxicité	3	33,3
Total	9	100,0

### 3.3.15 Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 4<sup>ème</sup> ligne

Un patient sur quatre avec EGFR muté a reçu une TKI AntiEGFR qu'à la 4<sup>ème</sup> ligne de traitement.

**Tableau 64: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 4<sup>ème</sup> ligne**

Classe thérapeutique	EGFR muté		EGFR non muté	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Chimiothérapie	2	66,7	2	100,0
TKI AntiEGFR	1	33,3	0,0	0,0
Total	3	100,0	2	100,0

### 3.3.16 Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 4<sup>ème</sup> ligne de traitement

3 patients (60%) patients ont progressé au bout de la 4<sup>ème</sup> ligne de traitement, un seul a arrêté son traitement suite à des toxicités, et un autre est toujours en cours de traitement.

**Tableau 65: Répartition selon la situation thérapeutique des patients non naïfs de traitement au bout de la 4<sup>ème</sup> ligne de traitement**

Situation thérapeutique	Effectif(n)	Pourcentage (%)
En cours	1	20,0
Progression	3	60,0
Toxicité	1	20,0
Total	5	100,0

### 3.3.17 Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 5<sup>ème</sup> ligne

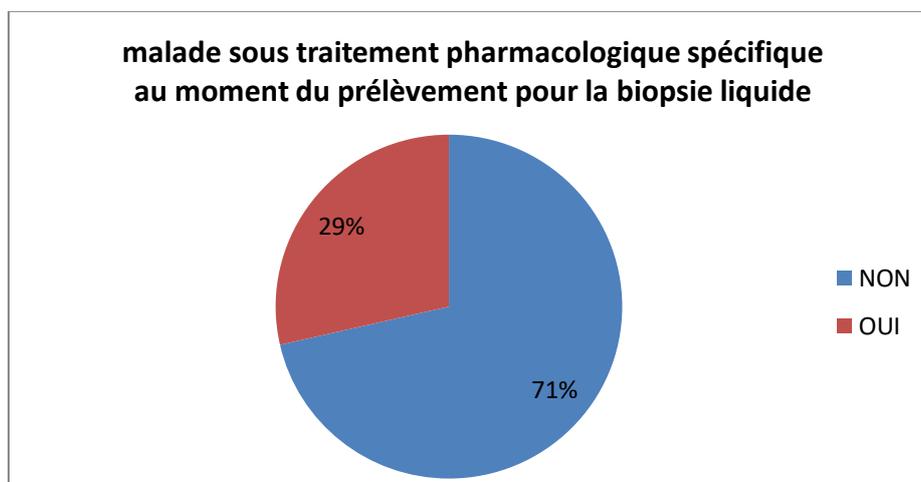
Un seul patient avec un EGFR muté a reçu une 5<sup>ème</sup> ligne de traitement (chimiothérapie) au bout de laquelle il a progressé.

**Tableau 66: Répartition des patients non naïfs de traitement selon le traitement de 5<sup>ème</sup> ligne**

Classe thérapeutique	EGFR muté		EGFR non muté	
	Effectif(n)	Pourcentage (%)	Effectif(n)	Pourcentage (%)
Chimiothérapie	1	100,0	0	0,0

### 3.3.18 Répartition selon les patients sous traitement pharmacologique spécifique au moment du prélèvement pour biopsie liquide

29% des patients étaient sous traitement au moment du prélèvement pour recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.



**Figure 85: Patients sous traitement au moment du prélèvement pour biopsie liquide**

### 3.3.19 Concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous traitement pharmacologique au moment du prélèvement.

Test Homogénéité des variances non significatif ( $P=0,136$ ), on a conclu à l'homogénéité des données. Test ANOVA est non significatif ( $P=0,333$ ).

Il n'y a pas de lien significatif entre le fait que le malade soit sous traitement pharmacologique spécifique et les concentrations d'ADNc plasmatique.

**Tableau 67: Répartition des concentrations plasmatiques d'ADNc chez les patients sous traitement pharmacologique spécifique au moment du prélèvement**

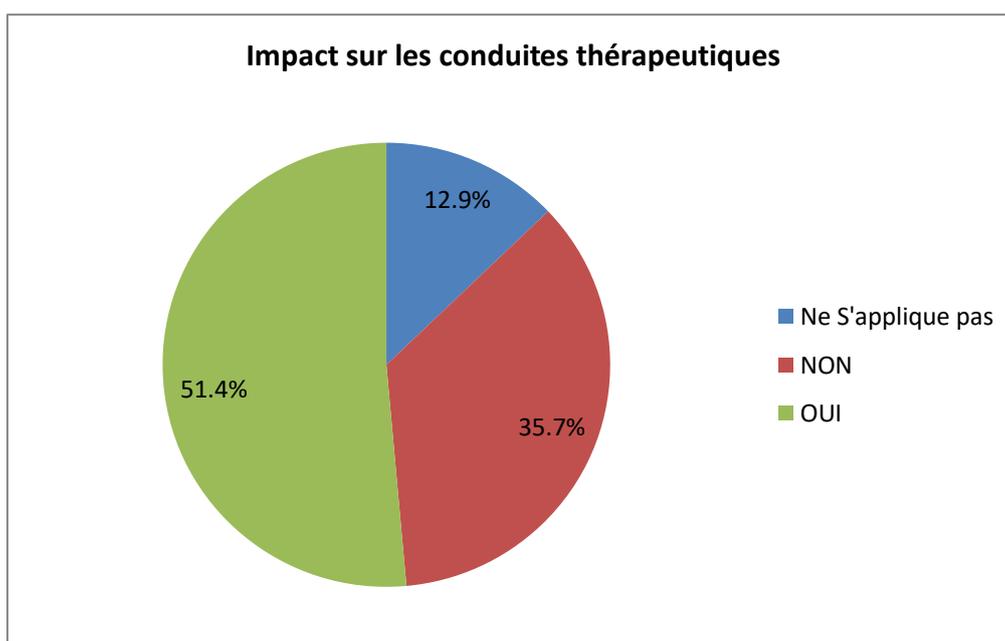
<b>[C] plasmatiques ADNc ng/ml</b>					
Malades sous traitement pharmacologique spécifique au moment du prélèvement	N	Moyenne	Ecart type	Minimum	Maximum
Oui	20	30,9690	34,23929	9,60	129,75
Non	50	47,2628	71,35023	5,16	398,00
Total	70	42,6074	63,19040	5,16	398,00

### 3.3.20 Impact des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide sur les conduites thérapeutiques.

51 % conduites thérapeutiques sont impactées par les résultats de recherche de l'EGFR sur biopsie liquide et 36% ne le sont pas. Pour les 13% restants une évaluation n'est pas possible.

**Tableau 68: Conduites thérapeutiques impactées par les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

Impact sur les conduites thérapeutiques	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Ne s'applique pas	9	12,9
NON	25	35,7
OUI	36	51,4
Total	70	100,0



**Figure 86: Conduites thérapeutiques impactées par les résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

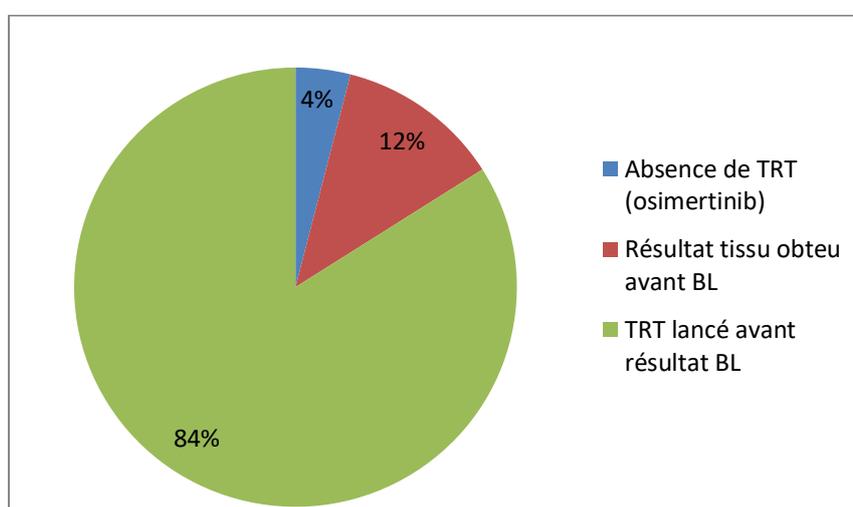
### 3.3.21 Motifs expliquant l'absence d'impact de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.

84% des motifs expliquant l'absence d'impact de recherche de mutation de l'EGFR sur biopsie liquide sont liés au lancement de la thérapeutique sans attendre le résultat de recherche sur biopsie liquide.

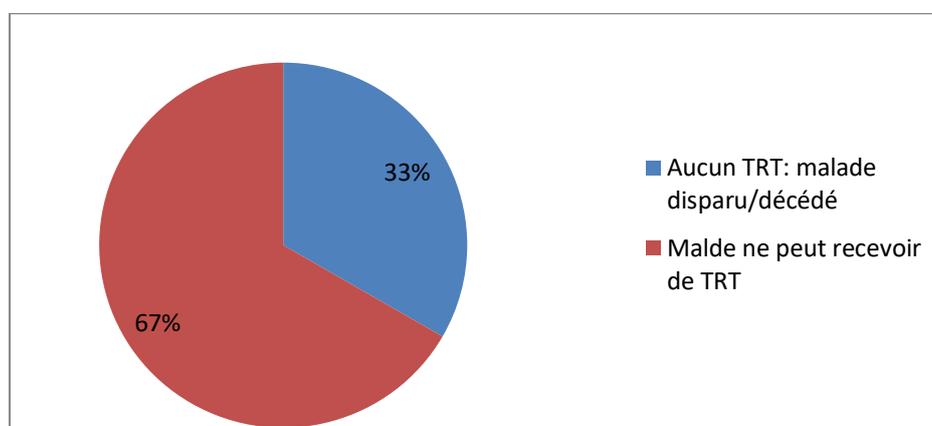
12% des cas sont liés au fait que le résultat tissulaire précède le résultat de recherche sur biopsie liquide.

Dans 4% des cas ce qui correspond au patient présentant la mutation de résistance T790M, le motif est lié à l'absence de traitement en l'occurrence l'Osimertinib.

Pour les cas où l'évaluation ne s'applique pas, ça concerne les malades pour lesquels un traitement n'est pas mis en place suite au décès / disparition des patients (33% des cas), ou bien les malades ne sont plus en état de recevoir un traitement pharmacologique spécifique, se contentant d'un soin de support seulement (67% des cas).



**Figure 87: Motifs expliquant l'absence d'impact de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide sur les conduites thérapeutiques**



**Figure 88: Motifs expliquant l'absence d'impact de recherche de mutation de l'EGFR sur biopsie liquide pour les cas où l'évaluation ne s'applique pas**

### 3.3.22 Conduites thérapeutiques appliquées après l'obtention des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.

18 patients présentant un EGFR muté ont bénéficié d'une TKI AntiEGFR après obtention des résultats de l'EGFR sur biopsie liquide, les 18 patients restants présentant un EGFR non muté, ont bénéficiés soit d'une chimiothérapie (16 patients) ou d'une immunothérapie (un seul patient).un patient ALK+ a bénéficié d'un traitement par Crizotinib.

**Tableau 69: Conduites thérapeutiques appliquées après obtention des résultats de recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide**

classe thérapeutique	Effectif (n)	Pourcentage (%)	médicament	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Chimiothérapie	16	44,4	Carboplatine	1	2,8
			Carboplatine + pemetrexed	11	30,6
			Gemcitabine	1	2,8
			Chimiothérapie	3	8,3
TKI AntiEGFR	18	50	Afatinib	1	2,8
			Géfitinib	17	47,2
TKI AntiALK	1	2,8	Crizotinib	1	2,8
Immunothérapie	1	2,8	Pembrolizumab	1	2,8
Total	36	100	Total	36	100,0

**Tableau 70: répartition des patients avec EGFR 18-21muté et mis sous TKI après les résultats de recherche sur biopsie liquide en fonction des lignes thérapeutiques**

	Nombre de lignes thérapeutiques						Total
	1ème	2ème	3ème	4ème	5ème	6ème	
Malade non naïf de TRT	0	3	2	1	1	1	8
Malade naïf de TRT	10	0	0	0	0	0	10
total	10	3	2	1	1	1	18

### 3.3.23 Répartition selon les molécules TKI AntiEGFR utilisées.

Sur les 18 patients mis sous TKI Anti-EGFR suite aux résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide, un seul (5,6%) a reçu de l'Afatinib, et 17 autres patients (94,4%) ont reçu le Gécitinib. Aucun patient n'a reçu de l'Erlotinib.

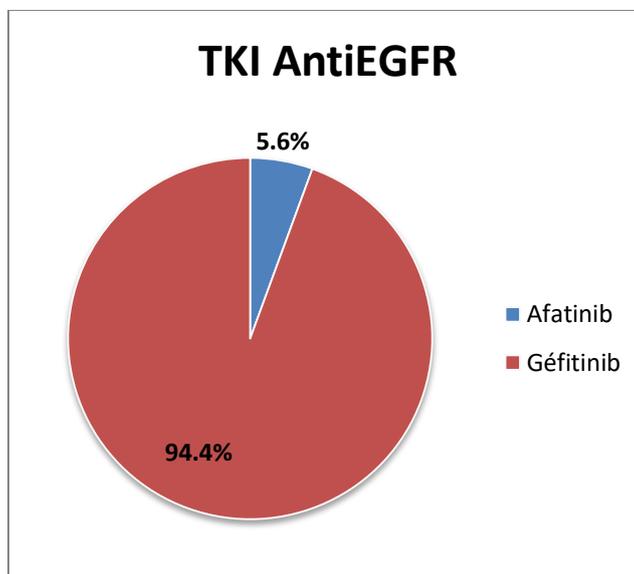


Figure 89: Répartitions selon les molécules TKI AntiEGFR utilisées

### 3.3.24 Coût de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide

Le coût de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide s'élève à pratiquement **32 300,00 DA/ test**

Tableau 71: cCoût de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide DA/test

Étapes	Cout (DA/test)
Extraction	4 950,00
Détection	27 345,21
Total	32 295,21

## 4 Discussion

## 4.1 Nombre de patients inclus dans l'étude

La taille de notre échantillon d'étude est liée aux ressources disponibles, notamment le nombre de tests de détection de l'EGFR sur biopsie liquide. 04kits de 24 tests chacun ont été mis à notre disposition, soit un total de 96 tests.

12 manipulations ont été réalisées, consommant à chaque fois 8 tests, correspondant à 6 échantillons de patients et 2 contrôles (un positif et un négatif).

Au total, 72 échantillons ont été analysés, représentant **70 patients**, car deux patients ont été testés à deux reprises afin de confirmer un premier résultat douteux concernant une suspicion de mutation **G719X** et une suspicion de mutation de résistance **T790M**. Ces tests ont été refaits avec un volume plasmatique plus important afin d'améliorer le rendement en ADNc. Les résultats définitifs ont conclu à **l'absence de ces mutations chez ces deux patients**.

### Service/établissement de prise en charge des patients

La majorité des patients inclus dans notre étude sont suivis au niveau du **service d'oncologie médicale du CLCC de Sétif** (71,4 %), le reste au niveau **service de pneumologie du CHU de Sétif** (28,6 %). Une coopération étroite avec ces deux services s'est rapidement instaurée dès le début de l'étude. Le recrutement des patients a commencé auprès du **service d'oncologie médicale (juin 2024)**, puis s'est étendu au **service de pneumologie du CHU de Sétif (septembre 2024)**.

Afin de respecter les **conditions pré-analytiques**, les patients se sont déplacés au **laboratoire central du CLCC de Sétif** pour le prélèvement sur tube EDTA, afin que le traitement des échantillons (séparation plasmatique) soit effectué **dans un délai maximal de 2H à 4H après le prélèvement**.

Une exception était faite pour les patients du **CHU de Sétif**, où nous nous sommes déplacés à chaque fois pour récupérer l'échantillon et le transporter dans un délai n'excédant pas les **deux heures**.

## 4.2 Caractéristiques sociodémographiques et cliniques

### 4.2.1 Le Sexe

Dans notre étude, la répartition des sexes montre une prédominance masculine, avec **54,3 % d'hommes contre 45,7 % de femmes**, soit un **sex-ratio (homme/femme) de 1,19**. Ce ratio est relativement faible comparé à d'autres études, y compris celles menées en Algérie.

Ainsi, **Ammour (2022)** rapporte un sex-ratio de **3,4**, avec **77,2 % d'hommes contre 22,8 % de femmes** (21). De son côté, **Benmostefa (2018)** indique un sex-ratio encore plus élevé de **7,54 (88,3 % d'hommes vs 11,7 % de femmes)** (226).

Quant à **Gammaz (2007)**, il mentionne un **sex-ratio de 9**, avec **90 % d'hommes** contre seulement **10 % de femmes** (227).

Dans une **étude rétrospective de Slimani et al. (2023)** portant sur le profil mutationnel de l'EGFR chez les patients algériens, le sex-ratio était de **2,94**, avec une proportion de **75 % d'hommes contre 25 % de femmes** (228).

On observe ainsi une **tendance à la baisse du sex-ratio**, en partie liée à l'augmentation de la fréquence de l'**adénocarcinome**, un sous-type histologique en **progression plus marquée** par rapport aux autres formes de **CBNPC** (16).

L'écart du sex-ratio tend à se réduire dans les pays développés, notamment au détriment des femmes, avec un sex-ratio de **1,2 en Amérique du Nord** et de **1,3 au Japon** (229).

Cette évolution est principalement attribuée à l'**augmentation de la consommation tabagique chez les femmes**. Dans les **pays occidentaux**, la hausse de l'incidence du **CBNPC** chez les femmes est fortement liée au **tabagisme**.

En revanche, dans **notre pays**, ce facteur semble avoir un **impact moindre**. Le taux élevé de **CBNPC** chez les femmes pourrait plutôt s'expliquer par **d'autres facteurs environnementaux**, tels que **la pollution de l'air** et **l'exposition à des agents inhalables**, notamment **la combustion domestique**. Ce phénomène est également observé dans plusieurs **pays asiatiques** (16) (17) .

#### 4.2.2 L'âge

La **moyenne d'âge** des patients dans notre étude est de **62,66 ± 11,45 ans**. Les hommes présentent une moyenne d'âge légèrement plus élevée (**63,47 ± 11,30 ans**) par rapport aux femmes (**61,69 ± 11,73 ans**), mais cette différence **n'est pas statistiquement significative (P= 0,391)**.

Un pourcentage plus élevé de femmes (**6,3 %**) est âgé de **moins de 40 ans**, alors qu'**aucun homme** n'appartient à cette tranche d'âge.

Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Ammour (2022)**, qui retrouve un âge moyen de **63,9 ans chez les hommes** et **63,4 ans chez les femmes** (21).

Nos observations concordent avec celles des études internationales, qui montrent que le **CBNPC** touche majoritairement les patients **âgés de plus de 60 ans**. Ainsi, **Travis et al. (2015)** ont estimé que l'âge médian au diagnostic du **CBNPC** se situe entre **65 et 70 ans**. En France, l'âge moyen au diagnostic est de **67 ans chez les hommes** et **65 ans chez les femmes** (230).

Cependant, la présence de **2,9 % de patients âgés de moins de 40 ans** constitue une **donnée notable**. Certaines études mettent en évidence une **augmentation des cas de cancers pulmonaires chez les jeunes adultes**, bien que cela demeure **peu fréquent**.

Une **revue systématique de la littérature** indique que les **CBNPC chez les moins de 40 ans** représentent environ **1,7 % des cas** (231).

#### 4.2.3 Lieu de résidence

La majorité de notre population d'étude (**73%**) **réside au niveau de la wilaya de sétif** puisque la majorité des recrutements s'est faite au niveau du CLLCC et CHU de sétif, et que les autres wilayas limitrophes disposent toutes de structure de santé de prise en charge des malades cancéreux. Toutefois notons que certains patients (huit au total) et qui n'avait pas de résultat de recherche sur biopsie tissulaire identifié, ont été orientés spécialement d'autres wilaya pour pouvoir bénéficier de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide. Aussi certains patients ont été orientés au service d'oncologie médicale du CLCC pour pouvoir bénéficier d'un traitement par immunothérapie.

Concernant la répartition par commune, il existe des fréquences élevées pour certaines communes comparées à leurs populations respectives, c'est le cas de la commune de **Bougaa , de Hammem Sokhna et de Babor** avec 8 ,4 et 3 patients pour une population de 47550 habitants , 20776 habitants et 20038 habitants respectivement.

Toutefois, ces données **ne peuvent donner lieu à une interprétation quelconque** puisque rien n'indique que tous les cas de la wilaya de Sétif sont traités au niveau du CHU Sétif et du CLCC Sétif, c'est le cas par exemple de la commune d'El Eulma qui dispose d'une unité d'oncologie médicale qui prend aussi en charge les malades de la commune d'El Eulma et des communes limitrophes.

#### 4.2.4 Profession et risque professionnel

La classification des professions à risque s'est faite selon **l'arrêté ministériel du 5 mai 1996**, qui fixe la liste des maladies présumées d'origine professionnelle réparties dans 85 tableaux, dont 7 concernent les maladies professionnelles responsables du cancer des voies respiratoires. (232) (233)

Dans notre étude, **37,1 % des patients sont des femmes au foyer**. Cependant, cette inactivité professionnelle n'exclut pas l'exposition à certains facteurs de risque, notamment les émanations d'huiles de cuisson, dont l'évaluation du risque demeure complexe. (24)

Trois professions sont identifiées comme présentant un risque d'exposition accru : **chauffeur routier, maçon et mécanicien**.

D'autres catégories, telles que les retraités, les cuisiniers et les militaires, sont également susceptibles d'être exposées à divers agents nocifs. Cependant, les données disponibles ne permettent pas d'estimer précisément leur niveau de risque, car il est nécessaire de tenir compte de la nature des activités exercées avant la retraite, de l'exposition à la fumée de bois et de charbon, aux émanations d'huiles de cuisson, ainsi qu'aux produits chimiques et autres substances potentiellement nocives.

#### 4.2.5 Antécédents médicaux

Les antécédents médicaux des patients atteints de CBNPC dans notre étude révèlent une prévalence notable de certaines comorbidités. Environ un tiers des patients (32,9 %) sont hypertendus et sous traitement, tandis que 21,4 % sont diabétiques et 8,6 % présentent une hypothyroïdie nécessitant une substitution hormonale par lévothyroxine.

Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature, où l'hypertension et le diabète sont fréquemment observés chez les patients atteints de CBP, en raison de facteurs de risque communs tels que l'âge avancé et les modes de vie sédentaires.

Une étude britannique menée par le **Van Hemelrijck** et ses collègues a révélé qu'une pression artérielle élevée était associée à un risque accru (**10 à 20 %**) de développer un cancer chez les hommes et à une mortalité plus élevée par cancer chez les deux sexes.

Par ailleurs, une vaste étude de cohorte a examiné le lien entre les inhibiteurs de **l'enzyme de conversion (IEC)** et le CBP :

- Les IEC augmenteraient de 14 % le risque de cancer du poumon par rapport aux sartans.
- Ce risque s'élèverait à 22 % après 5 ans de traitement et à 31 % après 10 ans.

Cependant, les auteurs restent prudents et soulignent la nécessité d'études complémentaires pour confirmer ces résultats (234).

Sur le plan physiopathologique, il est suggéré que la production de VEGF, stimulée par l'angiotensine II et présente en plus grande quantité chez les personnes hypertendues, pourrait jouer un rôle (235).

Une étude de **Deng et al. (2019)** a mis en évidence une association entre le **diabète et un pronostic plus défavorable dans le CBNPC**, possiblement en raison d'une inflammation chronique et d'altérations métaboliques favorisant la progression tumorale (236).

À ce jour, **aucune étude n'établit de lien direct entre l'hypothyroïdie et le cancer bronchique**. La prévalence plus élevée de l'hypothyroïdie observée dans notre étude pourrait s'expliquer par la forte proportion de femmes dans notre population, en particulier parmi les patients avec EGFR muté. En effet, l'hypothyroïdie est beaucoup plus fréquente chez les femmes que chez les hommes.

Selon des recherches publiées dans le *Journal of Sex Medicine*, le ratio femmes/hommes des troubles thyroïdiens est de 8:5, avec une prévalence qui augmente avec l'âge. Ces données soulignent que l'hypothyroïdie affecte majoritairement les femmes, notamment après 60 ans (237).

#### 4.2.6 Tabagisme et exposition au tabac

Dans notre étude, 43,5 % des patients sont fumeurs, qu'ils soient fumeurs actifs, ex-fumeurs ou petits fumeurs, et ils sont tous de sexe masculin. En effet, **seuls 18,9 % des hommes sont non-fumeurs**, tandis que toutes les femmes (**100 %**) **sont non-fumeuses**.

En Algérie, la prévalence du tabagisme a connu une baisse au fil des années. Selon **Ammour (2022)** (21), elle s'élève à environ 66 %, contre 98,6 % dans l'étude de **Gamaz en 2007** (227).

Concernant la répartition selon le sexe, cette tendance rejoint les **observations faites en Asie**, où on retrouve une proportion élevée de femmes atteintes de CBNPC n'ayant jamais fumé (jusqu'à 70 %) (238).

Dans l'étude de **Younsi (2019)** portant exclusivement sur des sujets non-fumeurs, 88 % de la population étudiée est constituée de femmes (239).

À l'inverse, dans les **pays occidentaux**, une **proportion plus importante de femmes fumeuses** est rapportée (environ 40 % en France). Cette disparité suggère l'implication d'autres facteurs de risque dans notre population, notamment l'exposition aux polluants domestiques et la présence de mutations génétiques (240).

Par ailleurs, **23,7 % des patients non-fumeurs sont exposés au tabagisme passif**, avec une prédominance féminine de 88,9 %. Cette observation est cohérente avec les données de la littérature, qui indiquent que le tabagisme passif est un facteur de risque significatif de cancer du poumon. Aux États-Unis, il serait responsable de plus de 3 000 cas (soit environ 20 %) de CBP par an chez les non-fumeurs. (31)

#### 4.2.7 Sous-type histologique

La grande **majorité des patients (94,3 %)** de notre étude présente un **adénocarcinome**. Ces données semblent davantage correspondre aux études portant sur les non-fumeurs, où le sous-type histologique adénocarcinome prédomine, avec une fréquence pouvant atteindre 80 % (241).

Des résultats similaires, avec une forte proportion d'adénocarcinomes, sont retrouvés dans des séries algériennes. Dans l'étude de **Younsi (2019)**, 75 % de la population étudiée présente un adénocarcinome (239). De même, dans la série de **Ammour (2022)**, la proportion d'adénocarcinomes atteint 86,6 % (21).

Cette forte prévalence des adénocarcinomes dans notre étude peut également s'expliquer par **l'exclusion des carcinomes épidermoïdes du sujet fumeur**. En effet, ces derniers présentent rarement des mutations de l'EGFR, et les recommandations concernant leur recherche varient selon les sociétés savantes (89) (147).

Par ailleurs, 3 % des patients présentent un carcinome pulmonaire de type non spécifié (NOS). Or, il est recommandé de limiter l'usage de ce terme, car le CBNPC doit être classé dans un sous-type plus spécifique, comme l'adénocarcinome ou le

carcinome épidermoïde, dans la mesure du possible. Toutefois, les carcinomes NOS restent éligibles à une recherche des mutations de l'EGFR. (56) (57)

#### 4.2.8 Localisations et techniques de prélèvement tissulaire

La biopsie transpariétale est la méthode de **biopsie tissulaire la plus couramment utilisée** dans notre étude (55,7 %). Cette tendance est cohérente avec les résultats rapportés par **Ammour (2022)** et **Younsi (2019)**, où cette technique représente respectivement 58,6 % et 50 % des cas (21) (239).

**La biopsie des sites métastatiques** arrive en deuxième position avec une fréquence de 21,4 %, un taux supérieur à celui observé dans les séries algériennes précédentes : 12,6 % chez **Ammour (2022)** et 18 % chez **Younsi (2019)** (21) (239).

Enfin, le **prélèvement bronchique par fibroscopie** représente 18,6 % des cas dans notre étude, contre 28,8 % dans la série d'**Ammour (2022)** et 32 % dans celle de **Younsi (2019)**, indiquant une fréquence plus faible dans notre étude (21) (239).

Par rapport aux données internationales, les tendances diffèrent. Dans l'étude menée par **Florent Martin à La Réunion-France**, la biopsie bronchique occupe la première place avec 41,1 % des cas, suivie de la biopsie transpariétale à 21,7 % (242).

Une étude espagnole menée par **Clara Salas et al. (2020)** rapporte une fréquence encore plus élevée des biopsies bronchiques (57,6 %), suivies des biopsies transpariétales (17,1 %) (243).

Concernant les biopsies des métastases, une grande partie des **prélèvements tissulaires (60 %) est au niveau pleural**, qui reste plus accessible que d'autres localisations, notamment osseuses et hépatiques.

Des données similaires sont retrouvées dans la série d'**Ammour (2022)**, où les biopsies pleurales représentent 61,5 %, suivies des biopsies osseuses (27,7 %) (21).

Cette prédominance marquée de la biopsie transpariétale par rapport à la biopsie bronchique, ainsi que la fréquence élevée des biopsies des métastases, peut s'expliquer par la localisation périphérique des tumeurs et par un diagnostic souvent posé à des stades avancés de la maladie. À ce stade, l'analyse anatomopathologique des biopsies des métastases permet de confirmer la présence d'un CBP.

#### 4.2.9 Stade de la maladie et localisations métastatiques

Dans notre étude, 15,7 % des patients sont diagnostiqués à un stade localement avancé, tandis que **82,9 % à un stade métastatique**. Un seul patient est diagnostiqué à un stade précoce (II).

Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par **Ammour (2022)**, où 11,6 % des patients sont diagnostiqués à un stade localement avancé et 88,4 % à un stade métastatique (21). De même, l'étude de **Younsi (2019)** a montré que 88,4 % des cas sont métastatiques d'emblé, 21 % à un stade localement avancés et seulement 5 % sont diagnostiqués à un stade précoce (239).

À l'échelle internationale, l'étude **BIOCAST** a révélé une proportion légèrement inférieure de patients métastatiques (73 %), avec 12 % diagnostiqués à un stade localement avancé et 15 % à un stade précoce (244).

La fréquence élevée de patients diagnostiqués à un stade métastatique dans notre série reflète ce retard et peut s'expliquer en partie par l'absence de programmes de dépistage systématique. Contrairement à d'autres pathologies comme le cancer du sein ou du col de l'utérus, le CBNPC ne bénéficie pas de campagnes de dépistage généralisées, notamment en raison de l'absence d'un accès systématique au scanner thoracique à faible dose pour les populations à risque. (56)

Au moment de notre étude, la proportion de patients à un **stade métastatique atteint 94,3 %**, tandis que celle des stades localement avancés diminue à 5,7 %. Cette évolution met en évidence la progression de la maladie chez huit patients, malgré une prise en charge initiale par traitement local. Parmi eux, six ont bénéficié d'une approche curative, incluant une chirurgie carcinologique pour trois patients et une radio-chimiothérapie concomitante pour trois autres. Les quatre patients restants n'étaient pas éligibles à un traitement localisé.

Parmi les 66 patients atteints de métastases, 42,9 % présentent une seule localisation métastatique, tandis que 57,1 % ont plusieurs localisations (deux, trois ou quatre sites).

La distribution des sites métastatiques montre une prédominance des métastases osseuses (42,9 %), suivies des atteintes pulmonaires controlatérales (40,0 %), cérébrales (28,6 %), pleurales (24,3 %), hépatiques et surrenaliennes (15,7 % chacune), et enfin péritonéales (4,3 %).

Dans l'étude de **Younsi (2019)**, la localisation métastatique la plus fréquente est aussi l'atteinte osseuse (40 %), suivie des métastases pleurales (31 %), hépatiques (23 %), pulmonaires controlatérales (22 %) et cérébrales (13 %) (239).

Nos résultats rejoignent, dans une certaine mesure, les données de la littérature internationale. Dans l'étude de **Riihimäki et al. (2014)**, portant sur plus de 40 000 patients atteints de cancer bronchopulmonaire, les sites métastatiques les plus fréquents sont l'os (**34 %**), suivi du foie (32 %), du poumon controlatéral (30 %) et du cerveau (23 %) (245).

En comparaison avec ces études, notre série montre une fréquence plus élevée des atteintes pulmonaires controlatérales et des métastases cérébrales. Cette particularité pourrait s'expliquer par la forte proportion de patients **EGFR mutés** dans notre population, chez lesquels les métastases cérébrales sont plus fréquentes comme rapporté par (**Shaw et al., 2011**) (246) (247).

#### **4.2.10 Statut performance**

Le score de performance chez 61,4% des patients est de  $PS) \leq 1$  et ce, malgré la forte prévalence des stades métastatiques.

Des résultats comparables sont rapportés par **Ammour (2022)**, où 68,8 % des patients présentent également un  $PS \leq 1$  (21).

Des données similaires sont retrouvées dans une série internationale de **Weber et al(2014)** où les patients avec un  $PS \leq 1$  représentent 62% (248).

Ces données suggèrent que, bien que la maladie soit souvent diagnostiquée à un stade avancé, une proportion significative des patients conserve un bon état général, ce qui peut influencer favorablement les options thérapeutiques disponibles, notamment l'accès aux traitements systémiques comme la chimiothérapie, l'immunothérapie ou les thérapies ciblées.

### 4.3 Profil moléculaire

Une distinction doit être faite entre le statut mutationnel des mutations de l'EGFR (exons 18-21) et celui de la mutation de résistance T790M, dont la recherche ne concerne les patients porteurs de mutations EGFR 18-21 positives et ayant progressé sous TKI.

L'intérêt de prendre en compte le statut mutationnel initial (exons 18-21) chez les patients pour lesquels seule la recherche de la mutation de résistance T790M est demandée par le clinicien, réside dans la possibilité d'exploiter ces résultats pour une étude d'évaluation de la concordance entre les résultats tissulaires et ceux de la biopsie liquide.

#### 4.3.1 Au niveau tissulaire

Dans notre série, la **recherche** de la mutation de résistance **T790M n'a jamais été effectuée sur prélèvement tissulaire** chez les huit patients candidats. Cela est probablement dû à la volonté d'épargner aux patients les contraintes liées à la biopsie tissulaire, d'autant plus que le traitement indiqué dans cette situation, à savoir l'Osimertinib, bien qu'enregistré, n'est toujours pas disponible dans nos hôpitaux.

Dans notre étude, le statut mutationnel des mutations de l'EGFR (exons 18-21) n'est pas identifié sur prélèvement tissulaire chez la moitié des patients (50 %), une **proportion particulièrement élevée** par rapport aux séries nationales et internationales.

Les raisons avancées pour expliquer cette proportion élevée sont les suivantes :

- Recherche non contributive dans 48,6 % des cas,
- Absence de bloc tissulaire disponible dans 20 % des cas,
- Absence de demande de test par le médecin dans 8 % des cas,
- Absence de communication du résultat au médecin dans 8 % des cas,
- Indisponibilité du test dans 6 % des cas,
- Résultats toujours en attente dans 6 % des cas.

Le terme « **recherche non contributive** » est un **terme générique ne précisant pas le motif exact**. Il peut englober plusieurs raisons, notamment un prélèvement pauvre

en cellules tumorales, l'épuisement du bloc tissulaire, une qualité et/ou quantité d'ADN extraite insuffisante, ou encore un test PCR non valide.

À titre de comparaison, la série de **Ammour (2022)** rapporte un taux de résultats invalides de 4,5 % (21), tandis que celle de **Younsi (2019)** présente une proportion plus élevée, atteignant 16 % (239).

De son côté, l'étude de **Slimani et al.** Signale que 5 % des résultats étaient invalides en raison de l'épuisement des blocs tissulaires (228).

Toutefois, ces études ne prennent pas en compte d'autres facteurs pouvant expliquer l'absence de résultats, tels que l'indisponibilité du bloc tissulaire ou l'absence de demande de test par le prescripteur.

À l'échelle internationale, dans l'étude espagnole de **Arriola et al. (2018)**, cette proportion de résultats non identifiés s'élève à 7,14 % (249).

De plus, **Weber et al. (2014)** rapportent une proportion encore plus faible, avec seulement 2 % de résultats tissulaires invalides (248).

La proportion élevée de statuts EGFR non identifiés sur tissu dans notre série s'explique par le nombre important de demandes émanant des cliniciens. Ces derniers ont saisi l'opportunité offerte par la recherche sur biopsie liquide pour obtenir des informations sur le statut EGFR de patients pris en charge depuis plusieurs années, sans que leur statut mutationnel réel ait été déterminé auparavant. Ce phénomène résulte d'une accumulation progressive de cas pour lesquels les cliniciens recherchent désormais une confirmation moléculaire afin d'adapter au mieux la prise en charge thérapeutique.

La proportion élevée de mutations EGFR (51,4 %) s'explique par le grand nombre de statuts non identifiés, et surtout par les huit patients ayant un EGFR muté déjà connu, qui ont présenté une progression sous TKI. Ainsi, **la fréquence rapportée uniquement aux patients faisant l'objet d'une recherche de mutation EGFR (18 - 21) n'est que de 37 %.**

Parmi les 18 patients dont le statut EGFR (exons 18-21) est muté, 67 % présentent une délétion de l'exon 19, tandis que 28 % sont porteurs de la mutation ponctuelle L858R. Pour un patient, le type exact de mutation n'est pas précisé.

Des résultats similaires concernant la fréquence des **délétions de l'exon 19** sont rapportés dans la série d'**Ammour (2022)**, où elles représentent 74,4 % des mutations détectées, suivies de la mutation ponctuelle L858R, identifiée chez 9,8 % des patients (21).

Dans l'étude de **Younsi(2019)**, les délétions de l'exon 19 sont retrouvées dans 50 % des cas, tandis que la mutation L858R est observée dans 37,5 % des cas (239).

À l'échelle internationale, la littérature rapporte une prévalence de 44 % pour les délétions de l'exon 19 et de 41 % pour la mutation ponctuelle L858R de l'exon 21 (106) (82) (107).

Cependant, en raison de la taille de notre échantillon et de la proportion élevée de statuts EGFR 18-21 non identifiés au niveau tissulaire, ces résultats ne peuvent pas être généralisés ni permettre d'en tirer une conclusion.

Le **délai moyen de rendu** des résultats tissulaires dans notre étude est de 25,73 jours, avec certains résultats dépassant les deux mois. Dans la série d'**Ammour (2022)**, l'intervalle moyen entre le diagnostic anatomopathologique et les résultats de la biologie moléculaire est encore plus long, atteignant **80,5 ± 56,9** jours, soit environ deux mois et demi (21).

Or, les recommandations préconisent un délai maximal bien inférieur : l'analyse moléculaire devrait idéalement être réalisée en une **moyenne de 7 jours**, avec un **maximum de 14 jours**, et jusqu'à **3 semaines** calendaires lorsque la méthode utilisée est le séquençage de nouvelle génération (NGS) (148).

#### 4.3.2 Sur Biopsie liquide

Sur les 70 demandes de recherche de mutations de l'EGFR sur biopsie liquide, 62 (88,6 %) concernent l'identification des mutations de l'EGFR (exons 18-21), tandis que les 8 restantes visent la détection de la mutation de résistance T790M. Cette dernière est spécifiquement recherchée chez les patients déjà porteurs d'une mutation EGFR 18-21 et présentant une progression sous inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) de 1<sup>re</sup> ou 2<sup>e</sup> génération.

Étant donné que les **kits utilisés** permettent la **détection simultanée des mutations activatrices de l'EGFR (exons 18-21) et de la mutation de résistance T790M**, le **statut mutationnel initial (18-21)** des patients concernés par la recherche de la mutation T790M a été **exploité afin d'évaluer la concordance** des résultats obtenus sur biopsie liquide avec ceux de la biopsie tissulaire.

Tous les prélèvements ont été recueillis dans des tubes EDTA, pour lesquels il est recommandé de procéder à la séparation plasmatique **dans un délai de 2 heures**, sans dépasser 4 heures (176), voire jusqu'à 6 heures selon certaines références (155).

Afin de respecter ces recommandations, les patients se rendaient directement au laboratoire central du CLCC pour le prélèvement, réduisant ainsi au maximum ce délai. Pour les patients du CHU Sétif, nous avons organisé un transport rapide en nous déplaçant systématiquement pour récupérer les échantillons, garantissant un délai de transport ne dépassant pas 2 heures.

Le délai moyen entre le prélèvement et la séparation plasmatique dans notre étude est de  $40,17 \pm 19,13$  minutes, sans jamais excéder les deux heures (120 minutes).

**Aucun lien statistiquement significatif** n'est retrouvé entre les **délais de séparation plasmatique** et les **concentrations plasmatiques obtenues d'ADNc**. Ce résultat est

en accord avec la littérature, étant donné que la séparation a toujours été réalisée dans un délai inférieur à 120 minutes (163).

Les volumes plasmatiques utilisés pour l'extraction varient, avec un objectif compris entre 4 et 6 mL. Toutefois, la centrifugation n'a pas toujours permis d'atteindre ce seuil, notamment chez certains patients où le volume obtenu s'est limité à 3 mL dans 8,6 % des cas, malgré un prélèvement sanguin initial de 12 mL.

Pour remédier à cette limitation, nous avons augmenté le volume de prélèvement à 16 mL, ce qui a permis d'obtenir des volumes plasmatiques plus élevés, situés entre 4 et 6 mL.

Dans les études internationales, différents volumes de plasma sont utilisés pour la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide.

**Xu et al. (2019)** ont utilisé 2 mL de plasma pour l'extraction de l'ADNc afin de rechercher les mutations de l'EGFR (250).

Dans l'étude **Oncotarget (2017)**, un volume de 3 mL était utilisé (251).

**Voss et al. (2021)** ont travaillé avec des volumes variant de 4 à 5 mL de plasma (252).

**Vidya H. Veldore et al.** ont utilisé 10 mL de plasma, obtenus à partir d'un prélèvement sanguin de 20 mL (253).

Dans notre étude, nous avons préféré respecter les recommandations des fabricants des deux kits d'extraction, à savoir le **QIAamp® MinElute® ccfDNA Mini Kit** et le **Midi Kit**, qui recommandent un volume de **2 à 4 mL** pour le Mini Kit et de **4 à 10 mL** pour le Midi Kit (222).

**Tableau 72: recommandation du kit d'extraction en fonction du volume plasmatique (254)**

	Processing	Manual	Manual
Instrument			
2 mL		QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit*†	QIAamp MinElute ccfDNA Mini Kit†
4 mL			
6 mL			QIAamp MinElute ccfDNA Midi Kit†
8 mL			
10 mL			

Le plasma recueilli était contrôlé visuellement avant son utilisation pour la recherche des mutations de l'EGFR. On a constaté que 89 % des plasmas récupérés avaient un aspect normal (clair), tandis que quelques tubes présentaient un aspect légèrement

trouble, hémolysé ou jaunâtre. Tout tube avec **hémolyse franche était écarté** d'emblée, conformément aux recommandations de **Sato A et al., 2018** (175).

**Aucun lien statistiquement significatif** n'est observé entre **l'aspect plasmatique** et les **concentrations d'ADNc plasmatiques** obtenues. Ce résultat est cohérent, puisque tous les tubes présentant un risque potentiel, notamment ceux contenant un plasma hémolysé, ont été systématiquement écartés. En effet, toute trace visible d'hémolyse peut correspondre à une lyse cellulaire (163). Il est recommandé d'exclure les échantillons de plasma présentant une hémolyse franche, une teinte ictérique marquée ou un aspect très trouble, sauf si un nouveau prélèvement sanguin est impossible (175).

La majorité des plasmas récupérés (75,7 %) n'ont pas été conservés et sont passés directement à l'étape d'extraction le jour même. La durée de conservation n'a pas dépassé une semaine pour l'ensemble des échantillons, à l'exception d'un seul prélèvement conservé à -20 °C pendant 11 jours.

Toutefois, la **congélation du plasma reste envisageable** pour des durées encore plus longues, tout en préservant la stabilité de l'ADNc. **El Messaoudi S et al.** rapportent une possibilité de conservation du plasma pendant au moins 9 mois à -20 °C (178).

La durée moyenne de conservation des extraits d'ADNc est de 4,91 jours, sans dépassé une semaine pour 88,6 % des extraits d'ADNc, et deux semaines pour les 10 % restant. Pour un seul patient la durée de conservation a dépassé les deux semaines (19 jours). Ces résultats restent conformes aux recommandations en matière de durée de conservation des extraits d'ADN.

selon **El Messaoudi S et al.**, la conservation des extraits d'ADNc reste possible jusqu'à 9 mois à -20 °C pour la recherche d'une séquence spécifique et jusqu'à 3 mois à -20 °C pour la quantification et la mesure de la fragmentation de l'ADNc (178).

Les concentrations d'ADNc obtenues sont très variables. La concentration moyenne de l'extrait d'ADNc est de 3,45 ng/μL, avec un minimum de 0,51 ng/μL et un maximum de 39 ng/μL.

En rapportant ces valeurs au volume plasmatique de départ, nous avons pu calculer la concentration d'ADNc par ml de plasma. La concentration moyenne d'ADNc est de 42,60 ng/mL de plasma, avec un minimum de 5,16 ng/mL et un maximum de 398 ng/mL.

La majorité des patients (81,4 %) présentent des concentrations plasmatiques d'ADNc comprises entre 10,01 et 100 ng/mL de plasma. Par ailleurs, 10 % ont des concentrations inférieures à 10 ng/mL, tandis que 8,6 % présentent des concentrations supérieures à 100 ng/mL de plasma.

Le **kit d'extraction** utilisé, QIAamp® MinElute® ccfDNA, indique un rendement similaire, avec des concentrations allant de 1 à 100 ng/mL (222).

**Sato et al.** dans leur étude rapportent une concentration moyenne de 8,8 ng/mL de plasma, avec parfois des valeurs maximales pouvant atteindre 404,8 ng/mL (176).

Des données similaires aux nôtres sont rapportées dans une étude de **González de Aledo-Castillo et al. (2021)** portant sur 173 patients atteints de CBNPC à un stade avancé ou métastatique où la concentration médiane d'ADNc est de 28,3 ng/mL, avec des valeurs s'étendant de 6,1 à 529 ng/mL. Les patients au stade IV présentent des concentrations de cfDNA significativement plus élevées que ceux au stade III, avec des médianes respectives de 31 ng/mL contre 13,9 ng/mL ( $P < 0,0001$ ) (255).

Dans notre étude, bien que la **tendance générale suggère une augmentation des niveaux d'ADNc** avec le **nombre de métastases** (passant d'une moyenne de 14,3 ng/mL chez les patients sans métastases à 66,0 ng/mL chez ceux présentant quatre métastases), **aucun lien statistiquement significatif** n'est retrouvé entre le nombre de métastases et les concentrations d'ADNc plasmatiques.

Des études antérieures rapportent des résultats contrastés quant à l'association entre les niveaux d'ADNc plasmatiques et le nombre de métastases. **Mazurek et al. (2016)** observent une corrélation positive entre la quantité d'ADNc et le nombre de sites métastatiques, suggérant que l'augmentation du nombre de métastases favorise la libération d'ADN tumoral circulant (cfDNA) dans le plasma (256).

Cependant, certaines recherches, comme celle de **Tissot et al. (2015)**, remettent en question cette corrélation en soulignant des variations interindividuelles significatives et des facteurs biologiques susceptibles d'influencer la libération d'ADNc (257).

La **forte dispersion des valeurs** (écart-type élevé) et la présence de **valeurs extrêmes** pourraient expliquer **l'absence de significativité statistique**. D'autres facteurs pourraient également justifier cette absence d'association statistiquement significative ainsi le nombre de métastases ne reflète pas forcément **la charge tumorale** qui reste un **paramètre beaucoup plus pertinent** qui prend en compte le nombre et la localisation métastatique et le volume tumoral primitif et métastatique.

Les résultats de la recherche des mutations de l'EGFR obtenus sur biopsie liquide ont permis d'identifier le statut EGFR pour 69 patients sur 70.

Parmi les 62 patients faisant l'objet d'une demande de recherche des **mutations des exons 18-21**, 19 patients (**30,6 %**) présentent une mutation de l'EGFR, 42 patients (67,7 %) ne présentent pas de mutation de l'EGFR18-21, et le statut d'un patient est resté inconnu en raison de l'invalidité de l'analyse.

Sur les 35 patients dont le **statut tissulaire de l'EGFR 18-21 n'est pas identifié**, **11 patients (31,4 %)** se sont révélés porteurs d'une mutation EGFR 18-21 sur biopsie liquide, offrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques aux cliniciens et aux patients.

Dans une méta-analyse de **Ke et al. (2020)**, le taux global de mutation EGFR détecté par biopsie liquide varie entre 21 % et 42 % (258).

Une étude menée par Sacher et al. (2016), rapporte une fréquence de mutation de 28 % chez des patients atteints de CBNPC avancé (259).

Par ailleurs, une méta-analyse a estimé la prévalence globale des mutations de l'EGFR chez les patients atteints de CBNPC à 32,3 %, avec des variations selon les régions géographiques : 38,4 % en Chine et 14,1 % en Europe (260) .

Malheureusement, **il n'existe pas d'étude ou de données algériennes** sur la recherche des **mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**.

Dans notre série, 79 % des mutations de l'EGFR 18-21 identifiées par biopsie liquide correspondent à une délétion de l'exon 19, tandis que les 21 % restants présentent la mutation ponctuelle L858R.

Seules les mutations les plus fréquentes décrites dans la littérature sont observées dans notre étude. En revanche, les mutations rares, dites *uncommon mutations*, telles que les insertions de l'exon 20 ainsi que les mutations ponctuelles G719X, L861Q et S768I, sont **totalement absentes** (85) (103).

Des la série de **Roldan Ruiz et al. (2023)**, 71 % des patients présentent des mutations de l'EGFR détectées par biopsie liquide, avec une répartition similaire à la notre : les délétions de l'exon 19 étant les plus fréquentes, suivies par 26 % de mutations L858R (261).

Sur les 08 patients faisant l'objet d'une demande de recherche de la mutation de résistance T790M sur biopsie liquide, **un seul** présent cette mutation, soit une fréquence de **12,5 %**. Chez ces patients, les mutations initiales de l'EGFR (exons 18-21) sont toutes retrouvées (100 %).

Cette fréquence est inférieure à celle documentée dans la littérature internationale, où l'on estime qu'environ 50 % des patients prétraités par des TKI de première et deuxième génération développent cette mutation de résistance (89).

**Sakai et al. (2013)** rapportent une fréquence de la mutation T790M détectée sur biopsie liquide avoisinant les 28 % (262).

**Sueoka-Aragane et al. (2016)** rapportent, quant à eux, une fréquence d'environ 40 % pour cette mutation sur biopsie liquide (263).

Malheureusement, il n'existe pas d'étude ou de données algériennes sur la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide, ni sur la mutation de résistance T790M, même au niveau tissulaire.

### 4.3.3 Délai de rendu des résultats

Le délai moyen de rendu des résultats de la recherche des mutations de l'**EGFR** sur biopsie liquide est de **5,44 ± 3,91 jours**, avec **81,4 %** des résultats rendus dans la semaine suivant la demande. Le délai maximal observé est de **19 jours**.

En comparaison, le délai moyen de rendu des résultats sur biopsie tissulaire est de **25,73 jours**, soit un délai **quatre fois plus long** que celui de la biopsie liquide.

Ces résultats sont en accord avec les recommandations, qui préconisent un rendu des analyses moléculaires dans un délai moyen de **7 jours**, avec un maximum de **14 jours** (148).

À titre d'exemple, le **CHU de Lille** recommande pour la biopsie liquide un délai de rendu des résultats de l'EGFR compris entre **7 et 10 jours ouvrables** (172).

#### 4.3.4 Évaluation de la performance de la recherche des mutations de l'EGFR dans notre étude

Le taux de concordance est de **94,28 %**, avec une **sensibilité de 88,89 %** et une **spécificité de 100 %**. La valeur prédictive positive (VPP) est de **100 %**, tandis que la valeur prédictive négative (VPN) atteint **89,5 %**.

Nous avons observé **seulement deux résultats faussement négatifs** (5,71%) par rapport à la recherche sur tissu. Ces performances sont particulièrement probantes en comparaison avec les résultats rapportés dans la littérature.

- **Douillard et al. (2014)** retrouvent un taux de concordance de **94,3 %**, mais avec une sensibilité plus faible (**65,7 %**), une spécificité de **99,8 %**, une VPP de **98,6 %** et une VPN de **93,8 %** (264).
- **Selon la base de données espagnole ASSESS**, le taux de concordance est de **88,8 %**, avec une sensibilité de **45,5 %**, une spécificité de **96,7 %**, une VPP de **71,4 %** et une VPN de **90,7 %**. Des résultats faux positifs sont observés chez **2,8 %** des patients, et des faux négatifs chez **8,4 %** des patients (249).
- **González de Aledo-Castillo et al. (2021)** rapportent une concordance de **95,2 %**, une sensibilité de **78,3 %** et une spécificité de **100 %**. La VPP est de **100 %**, et la VPN de **94,2 %**, avec **8,2 % de faux négatifs** (255).

Concernant les **deux patientes avec des résultats faussement négatifs** sur biopsie liquide, leur profil clinique est particulier :

- L'une est à un **stade localement avancé (IIIa)**.
- La seconde, bien que classée **stade IVa**, avait subi la résection de son unique métastase cérébrale depuis plus d'un an.

Rappelons que selon les recommandations du **NCCN 2024**, la recherche des mutations de l'EGFR **pour les stades I à III** reste **préférable** sur **biopsie tissulaire**, comparée à la biopsie liquide. (57)

#### 4.3.5 Statut mutationnel définitif de l'EGFR

En combinant les résultats de recherche obtenus par les deux méthodes (tissulaire et liquide)

La fréquence des patients présentant une mutation de l'EGFR (Exons 18-21) pour l'ensemble des patients (70) est de **41,4 %**. Cependant, cette valeur surestime la prévalence réelle des mutations, car **huit patients** inclus dans l'étude ont déjà un

statut **EGFR muté** confirmé **avant leur inclusion** (puisque la recherche de la mutation T790M nécessite une mutation EGFR 18-21 préalable et une progression sous TKI).

Ainsi, afin d'éviter un biais d'échantillonnage, la **fréquence réelle** des mutations de l'EGFR (Exons 18-21) est estimée à **33,9 %**.

En Algérie, en l'absence de données sur la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide, les études menées sur des biopsies tissulaires rapportent les fréquences suivantes :

- **Slimani et al.** retrouvent une proportion de **20 %** d'EGFR muté (228).
- **Younsi (2019)** rapportent un taux de **24 %** d'EGFR muté (239).
- **Amour (2022)** retrouvent **20,7 %** d'EGFR muté sur biopsie tissulaire (21).
- **Lahmadi et al. (2021)**, dans une étude portant sur des patients de l'est algérien, rapportent une fréquence de **39,6 %** d'EGFR muté (265).

Nos résultats sont comparables à ceux de l'étude de Lahmadi et al. (2021) menée dans **l'est algérien**, qui suggère une fréquence plus élevée. Toutefois, aucune conclusion définitive ne peut être tirée à ce stade.

Ces résultats sont similaires aux fréquences rapportées dans d'autres pays du Maghreb. En **Tunisie**, une étude menée par **Mraïhi et al. (2018)** retrouve un EGFR muté chez **34 %** des patients atteints de CBNPC (266).

De même, une **étude marocaine** menée par **Kaanane et al. (2018)** rapporte une fréquence des mutations de l'EGFR de **33 %** (267).

Ces taux se situent entre les valeurs rapportées en Europe et en Asie. La proportion d'EGFR muté retrouvée dans notre série est supérieure à celle observée chez les populations caucasiennes (10 à 20 %) mais inférieure à celle des patients asiatiques, où elle atteint environ 40 %. (101)

Nos résultats mettent en évidence une **différence statistiquement significative** dans la répartition des mutations de l'EGFR en fonction du **sexe et du statut tabagique** ( $P < 0,001$ ), avec une nette prédominance des mutations chez les femmes et les non-fumeurs.

Ainsi, parmi les sujets de sexe **féminin**, **65,25 %** présentent une mutation de l'EGFR contre **21 % des hommes**. Ces résultats sont cohérents avec de nombreuses études ayant observé une forte association entre le sexe féminin et la présence de mutations EGFR dans le **CBNPC**.

**Mok et al. (2009)** indiquent que les mutations EGFR sont retrouvées chez environ **50 %** des femmes contre seulement **15 %** des hommes (205).

**Lam et al. (2015)** rapportent un statut EGFR muté chez **72 %** des femmes et **44 %** des hommes (268).

Cette tendance est également rapportée dans plusieurs études asiatiques, où le cancer du poumon chez les femmes non-fumeuses semble plus fréquent et souvent associé à des mutations génétiques spécifiques. Ainsi **Shigematsu et al. (2005)** mettent en évidence une forte prévalence des mutations de l'EGFR chez les jeunes femmes atteintes de CBP, suggérant l'existence de facteurs de risque et de mécanismes physiopathologiques distincts entre les sexes (269).

Nos résultats mettent en évidence une **association statistiquement significative** entre le **statut EGFR et le statut tabagique**, avec une nette prédominance des mutations EGFR chez les non-fumeurs (**P < 0,002**). **61,5%** des non fumeurs ont un EGFR muté, cette fréquence est de **16,6%** chez les fumeurs. Ce résultat est en accord avec les données de la littérature, qui montrent que les mutations EGFR sont plus fréquentes chez les patients atteints de **CBNPC** n'ayant jamais fumé.

Selon **Mok et al. (2009)**, les mutations EGFR sont retrouvées chez environ **50 %** des non-fumeurs atteints d'adénocarcinome du poumon, contre seulement **10 %** des fumeurs (205).

**Arriola et al. (2018)** rapportent une fréquence de mutations EGFR d'environ **55 %** chez les non-fumeurs, contre seulement **5 %** chez les fumeurs (249).

Dans notre étude, nous ne retrouvons pas de lien significatif entre le statut EGFR et l'âge, le tabagisme passif, les antécédents médicaux (**HTA, diabète, hypothyroïdie**) ou le stade de la maladie, ce qui concorde avec les données de la littérature (249) (261).

Dans la littérature il est décrit une nette prévalence des mutations de l'EGFR dans les adénocarcinomes, toute fois dans notre étude ce lien n'est pas retrouvé puisque notre échantillon est composé à 94,28% d'adénocacinome. (101) (113)

## 4.4 Conduites thérapeutiques

### 4.4.1 Délais de prise en charge

Le délai moyen de prise en charge thérapeutique observé est de **33,95 ± 23,22 jours**, avec des extrêmes allant de **2 à 116 jours**.

Des résultats similaires sont rapportés dans la série d'**Ammour (2022)**, avec un délai moyen de **36,66 ± 24,3 jours**, et des valeurs extrêmes comprises entre **2 et 185 jours**. Dans la série de **Younsi (2019)** le délai médian entre le diagnostic histologique et l'initiation du premier traitement est de **3,2 semaines**, variant de **1 à 12 semaines**.

Les recommandations internationales, notamment celles du **NHS (National Health Service)** et de la **BTS (British Thoracic Society)**, préconisent un délai maximal de **30 jours** entre le diagnostic et la mise en route du traitement (*Pujol et al., 2010*) (270). Cependant, ces délais ne sont pas toujours respectés, même dans les pays développés.

En effet, une **analyse systématique menée par Olsson et al. (2009)** révèle que le délai moyen de prise en charge varie entre **32 et 84 jours** (271).

Dans une autre étude menée par **Florent Martin (2016)**, la moyenne rapportée est de **52,8 ± 48,3 jours** (242).

Par ailleurs, **Leveque et al. (2014)** rapportent un délai médian de **5 semaines** (variant de **0,1 à 53,1 semaines**) entre la confirmation anatomopathologique et le début du traitement (272).

#### **4.4.2 Utilisation des thérapies ciblées et lignes d'initiation du traitement**

**54,3 %** de nos patients (**38 patients**) ne sont pas naïfs de traitement pharmacologique (on déjà reçu un traitement) au moment du prélèvement pour la recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide.

Dans notre série, la majorité des patients **EGFR mutés (63,2 %)** ont reçu une **chimiothérapie en première ligne**, tandis que **4 patients seulement (21,1 %)** ont bénéficié d'une **thérapie ciblée par TKI anti-EGFR**.

Ammour (2022) rapporte des données similaires, où **seulement 20 %** des cas **EGFR mutés** ont bénéficié d'un traitement à base de **thérapie ciblée en première ligne (TKI anti-EGFR)**, tandis que **64,7 % (66 cas)** ont reçu une **chimiothérapie**, et **15,7 % un traitement symptomatique (soins de support)** (21).

Cette tendance contraste avec les recommandations internationales, qui privilégient l'utilisation d'un **TKI en première ligne** pour les patients avec EGFR muté, comme démontré dans les études **IPASS (Mok et al., 2009)** et **FLAURA (Soria et al., 2018)** :

**Mok et al. (2009)** ont montré que les **TKI** sont plus efficaces que la **chimiothérapie** en première ligne chez les patients **EGFR mutés (205)** alors que **Soria et al. (2018)** ont démontré la supériorité de **l'osimertinib** en première ligne (273).

L'utilisation fréquente de la **chimiothérapie en première ligne** dans notre étude s'explique par le **délai prolongé** d'obtention des **résultats moléculaires sur échantillons tissulaires**, avec une moyenne de **25,73 jours** dans notre étude, pouvant dépasser **deux mois** dans certains cas. Face à cette attente, les cliniciens initient souvent une **chimiothérapie** en attendant la confirmation du statut mutationnel.

Dans notre série :

- **Trois patients** ont **interrompu** la chimiothérapie dès l'identification d'une mutation **EGFR** pour basculer vers un **TKI en 2<sup>e</sup> ligne**.
- **Deux patients** ont **poursuivi leur chimiothérapie** jusqu'à progression avant d'être mis sous **TKI anti-EGFR**, selon la décision du clinicien.

Il n'existe **pas de consensus clair** concernant l'introduction des TKI de 1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> génération en cas de **découverte tardive d'une mutation EGFR** en cours de chimiothérapie ou de traitement de maintenance. Le choix thérapeutique repose sur une évaluation individualisée, prenant en compte la tolérance du patient, le nombre de cycles de chimiothérapie reçus et la durée de stabilité sous traitement initial. (9)

Toutefois, si un **TKI de 3<sup>e</sup> génération**, comme l'**osimertinib**, est disponible, **Couraud et al. (2024)** recommandent un **basculement prioritaire** vers l'**osimertinib**, qui a démontré une efficacité supérieure en termes de survie globale et de contrôle tumoral. (*Couraud et al., 2024*). (56)

En **2<sup>e</sup> ligne**, chez les patients **EGFR mutés**, **5 patients** ont bénéficié d'un **TKI anti-EGFR**. Parmi eux :

- **3 patients**: progressant après la **2<sup>e</sup> ligne** de traitement,
- **2 patients** : toujours stables et poursuivent leur traitement.

Un autre patient, **non naïf de traitement**, porteur d'une mutation **EGFR**, n'a bénéficié d'un **TKI anti-EGFR** qu'en **4<sup>e</sup> ligne thérapeutique**, après avoir reçu trois différentes lignes de chimiothérapie.

Pour les **patients** ayant reçu un **TKI anti-EGFR**, l'arrêt du traitement à chaque ligne est **exclusivement dû à une progression tumorale**. Aucun arrêt n'est motivé par une **toxicité**, contrairement à la chimiothérapie, avec ou sans **anti-VEGF**.

Les **TKI anti-EGFR** sont en effet **nettement mieux tolérés** que la **chimiothérapie**, ce qui justifie en partie leur **place prépondérante** dans la prise en charge du **CBNPC avec mutation de l'EGFR** (212).

Avant la réalisation de la biopsie liquide, l'**immunothérapie** n'a été administrée à aucun patient, qu'ils soient **EGFR mutés ou non mutés**. Cette situation s'explique principalement par :

1. La disponibilité récente et limitée du traitement, restreint à un nombre réduit de services hospitaliers.
2. Les recommandations actuelles **déconseillent l'immunothérapie** seule ou associée à une chimiothérapie chez les **patients avec EGFR muté** ou chez ceux dont le statut mutationnel **n'est pas identifié**. L'immunothérapie est uniquement indiquée chez les patients avec un statut mutationnel EGFR identifié comme non muté et ce, qu'il s'agisse d'une utilisation en 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> ligne de traitement (56) (57) (89) (145).

Enfin, un cas particulier est à noter : **une patiente EGFR mutée** ayant reçu **cinq lignes successives de chimiothérapie**. Initialement inscrite sur une **liste d'attente pour l'immunothérapie**, n'a finalement **pas reçu ce traitement** en raison de l'identification de sa **mutation EGFR sur biopsie liquide à temps**.

#### **4.4.3 Impact des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**

L'impact des résultats de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide sur les conduites thérapeutiques est significatif dans plus de la moitié des cas (51 %), soulignant l'importance croissante de cette approche dans la prise en charge du CBNPC. Cependant, il est à noter que dans 36 % des cas, les résultats obtenus par cette technique n'ont pas modifié la stratégie thérapeutique, tandis que pour 13 % des patients, une évaluation de l'impact n'est pas possible.

Ces résultats mettent en évidence l'impact clinique direct de la recherche des mutations de l'EGFR par biopsie liquide sur les décisions thérapeutiques. En effet, parmi les 36 patients dont la prise en charge est modifiée par ces résultats, 50 % (18 patients) ont pu bénéficier d'une thérapie ciblée par TKI anti-EGFR après confirmation d'un statut EGFR muté sur biopsie liquide.

Parmi ces 18 patients, 10 sont naïfs de traitement et ont pu recevoir un TKI anti-EGFR en 1<sup>re</sup> ligne, juste après la communication des résultats de recherche sur biopsie liquide aux cliniciens. Les 8 autres ont reçu un TKI anti-EGFR en 2<sup>e</sup> ligne pour 3 patients, en 3<sup>e</sup> ligne pour 2 patients, en 4<sup>e</sup> ligne pour 1 patient, en 5<sup>e</sup> ligne pour 1 patient et en 6<sup>e</sup> ligne pour 1 patient.

**Xu J et al. (2016)** comparent l'utilisation des TKI anti-EGFR en 1<sup>re</sup> ligne versus en 2<sup>e</sup> ligne après chimiothérapie, et les résultats sont clairement en faveur d'une utilisation en 1<sup>re</sup> ligne. La survie sans progression (**PFS**) est plus longue en 1<sup>re</sup> ligne avec **12,9 mois** contre **9,0 mois** en 2<sup>e</sup> ligne avec un HR de 0,78 (P = 0,034). Le taux de réponse objective (ORR) est également plus élevé en 1<sup>re</sup> ligne qu'en 2<sup>e</sup> ligne avec respectivement **67,8 %** et **55,6 %** (P = 0,001). De plus, la survie globale (**OS**) des patients ayant reçu un TKI en 1<sup>re</sup> ligne est plus longue que celle des patients ayant reçu un TKI en 2<sup>e</sup> ligne avec respectivement **30,7 mois** et **27,2 mois** (HR : 0,69, P = 0,02) (274).

**Vanita Noronha et al. (2024)** comparent l'utilisation des TKI anti-EGFR en 3<sup>e</sup> ligne versus chimiothérapie chez des patients avec EGFR muté naïfs de TKI. Les résultats ne montrent pas de différence significative en termes de survie sans progression ni de survie globale. Une PFS de **3,13 mois** pour le bras chimiothérapie contre **2,26 mois** pour le bras TKI anti-EGFR avec un HR = 1,074 (P = 0,581). Une survie globale (**OS**) de **7,63 mois** pour le bras chimiothérapie contre **7,5 mois** pour le bras TKI anti-EGFR avec un HR = 1,033 (P = 0,805) (275).

Le **Géfitinib** est le TKI anti-EGFR le plus prescrit, administré chez 17 patients (94,4 %), tandis qu'**un seul patient** a reçu de l'**Afatinib**, et **aucun** n'a reçu de l'**Erlotinib**. Cette préférence pour le Géfitinib peut s'expliquer par sa plus **longue présence** sur le **marché algérien**, offrant aux cliniciens une expérience et une familiarité accrues avec ce médicament, alors que pour L'Afatinib, l'introduction est plus récente sur le marché algérien (**fin de 2023 début de 2024**), ce qui pourrait expliquer son utilisation moins fréquente.

**La tolérance** de ces inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) varie selon les molécules. Des études démontrent que **l'afatinib et l'erlotinib** sont associés à une **incidence plus élevée d'effets indésirables** tels que des éruptions cutanées et des diarrhées, comparativement au géfitinib. Cette différence de profil de tolérance peut influencer les choix thérapeutiques des cliniciens, qui privilégient le géfitinib en raison de sa meilleure tolérance (276).

**L'absence d'impact** observée dans certains cas s'explique principalement par **l'initiation précoce du traitement par chimiothérapie** chez les patients qui se sont révélés être EGFR non mutés par la suite, et ce, **avant même la disponibilité des résultats** de la biopsie liquide, représentant ainsi 84 % des situations. Cette **pratique, adoptée** par certains cliniciens, repose sur **l'habitude** de débiter rapidement une

chimiothérapie en attendant les résultats de l'EGFR tissulaire, qui prennent du temps à être obtenus. Pourtant, il est important de souligner que dans la majorité des cas, les délais d'obtention des résultats par biopsie liquide restent inférieurs à une semaine, mettant ainsi en question le recours à cette approche.

Par ailleurs, pour les 12 % des cas où les **résultats tissulaires** sont **obtenus avant** ceux de la **biopsie liquide**, les médecins ont privilégié ces derniers pour le orienter leurs choix thérapeutiques. Enfin, dans 4 % des cas, l'absence de traitement spécifique disponible, notamment l'osimertinib en cas de mutation de résistance, a limité l'impact du test sur la prise en charge.

Concernant les patients pour lesquels une évaluation de l'impact n'est pas possible, deux situations sont identifiées : dans 33 % des cas, les **patients sont décédés ou ont disparu** avant la mise en place d'un traitement, tandis que 67 % des patients sont en **mauvais état général** et ne sont plus éligibles à un traitement spécifique, se limitant aux **soins de support**.

Ces résultats mettent en évidence les défis liés à l'intégration des tests moléculaires dans le parcours de soins du CBNPC. L'optimisation des délais de rendu des résultats et l'amélioration de l'accessibilité aux traitements ciblés, comme l'osimertinib, pourraient renforcer l'impact de la biopsie liquide sur les stratégies thérapeutiques et ainsi améliorer la prise en charge des patients.

#### 4.5 Coût de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide

Le coût de la recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide est estimé à **33 000 DA par test**. Étant donné que le **même kit de détection** est utilisé pour l'analyse des **biopsies tissulaires** et **liquides**, et que la principale différence entre ces deux méthodes réside dans le processus d'extraction de l'ADN, **il n'existe pas de variation significative du coût** de réalisation entre les deux approches.

**Sewell et al. (2014)** ont estimé le coût d'un test de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide à l'aide du kit *therascreen® EGFR Plasma RGQ PCR* à 176,84 £, soit environ 31 000,00 DA (277).

Cependant, il convient de noter que ce kit correspond à une version antérieure des *therascreen®*, capable de détecter uniquement 24 mutations grâce aux technologies ARMS et Scorpion. En revanche, le réactif utilisé dans notre étude (*therascreen® EGFR Plus RGQ PCR*) permet d'identifier 42 mutations en s'appuyant sur une technologie plus avancée (ARMS et Clamp PCR) (223) (278).

## **5 Conclusion**

Le CBP représente la première cause de cancer en termes d'incidence et de mortalité chez l'homme, tant à l'échelle mondiale qu'en Algérie. Cette pathologie est le plus souvent diagnostiquée à un stade avancé, ce qui explique un taux de survie globalement faible.

Le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) constitue la forme histologique la plus fréquente, représentant environ 85 % de tous les cancers bronchiques. Outre le stade d'évolution, le type et sous-type histologique, l'identification du profil moléculaire est aujourd'hui un élément fondamental dans la stratégie thérapeutique.

En effet, la prise en charge du CBNPC à un stade avancé repose en grande partie sur la présence ou l'absence d'addictions oncogéniques, telles que les mutations de l'EGFR, ou les réarrangements de ALK ou ROS1. Les mutations de l'EGFR sont les altérations moléculaires les mieux documentées. Leur détection permet de proposer aux patients porteurs un traitement ciblé par inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) anti-EGFR. En parallèle, l'absence de mutation EGFR permet d'orienter certains patients vers l'immunothérapie, cette dernière étant contre-indiquée chez les patients EGFR mutés, du moins en première et deuxième ligne thérapeutique.

En Algérie, la recherche des mutations de l'EGFR reposait exclusivement sur l'analyse tissulaire. Bien qu'elle constitue la méthode de référence, cette approche présente plusieurs limites : elle nécessite un prélèvement invasif, souvent difficile à répéter pour surveiller l'émergence de mutations de résistance ; elle est aussi confrontée à la problématique de l'hétérogénéité tumorale et à la possibilité de disposer d'un échantillon de mauvaise qualité rendant l'analyse impossible.

Ainsi, dans notre étude, la recherche des mutations de l'EGFR sur tissu n'a pas permis d'identifier le statut mutationnel de l'EGFR (exons 18 à 21) chez 50 % des patients (35 cas), dont 11 se sont révélés par la suite être porteurs d'une mutation EGFR grâce à la recherche réalisée sur biopsie liquide.

La biopsie liquide constitue une avancée majeure grâce à sa facilité d'utilisation et les résultats obtenus. Elle a permis d'identifier le statut EGFR chez 98,5 % des patients de notre étude, avec un rendu de résultats beaucoup plus rapide que l'analyse tissulaire, dans 81,4 % des cas en moins d'une semaine. De plus, elle a montré un taux de concordance élevé avec l'analyse tissulaire (94,29 %), fournissant ainsi une information fiable dans un délai cliniquement utile.

Cependant, deux cas de discordance sont notés entre les résultats tissulaires et ceux de la biopsie liquide, correspondant à des faux négatifs : un patient au stade III et un autre ayant subi une résection de métastase. La spécificité de la biopsie liquide a été excellente (100 %), avec une sensibilité estimée à 88,89 %, ce qui suggère qu'elle est plus fiable pour confirmer une mutation que pour en exclure une, notamment pour les stades localement avancés.

La fréquence réelle des mutations de l'EGFR dans notre série est de **33,6 %**, un taux proche de celui rapporté dans l'est algérien. Ces résultats s'inscrivent dans la tendance observée aux pays du Maghreb où des valeurs similaires sont également rapportées en Tunisie et au Maroc, avec des fréquences de **33 à 34 %**. Par ailleurs, la proportion

d'EGFR muté que nous avons identifiée reste supérieure à celle rapportée chez les populations caucasiennes et inférieure à celle observée chez les patients asiatiques.

Les résultats obtenus ont permis d'adapter la prise en charge thérapeutique en fonction du statut moléculaire. Ainsi, 18 patients porteurs d'une mutation EGFR ont pu bénéficier d'un traitement par TKI, dont 11 pour lesquels le statut EGFR n'est pas identifié sur échantillon tissulaire, et 10 ont même reçu un TKI dès la première ligne, une tendance rarement observée au par avant. La biopsie liquide a également permis d'envisager avec certitude l'immunothérapie chez les patients avec un EGFR non mutés.

Il convient toutefois de rester prudent dans la généralisation de ces résultats, en raison du nombre limité de patients inclus, notamment ceux ayant fait l'objet d'une recherche de mutation de résistance (T790M) après progression sous TKI. Dans notre série, un seul patient sur huit présente cette mutation, mais n'a pas pu bénéficier du traitement adapté (Osimertinib), en raison de son indisponibilité en Algérie malgré son enregistrement officiel.

Au vu des résultats obtenus dans notre étude, il est évident que la biopsie liquide représente un véritable complément, voire même une alternative, à l'analyse tissulaire pour la détection des mutations de l'EGFR dans le CBNPC ce qui justifie sa généralisation pour optimiser la prise en charge thérapeutique des patients atteints de CBNPC.

## 6 Limites de l'étude

- **Taille de l'échantillon** : Le nombre restreint de patients inclus, en particulier ceux évalués pour la mutation de résistance T790M, limite la puissance statistique de notre étude.
- **Portée technologique** : Bien que le kit de détection utilisé soit validé par la FDA et reconnu pour sa sensibilité élevée, la technique de qPCR reste limitée à la détection d'un nombre restreint de mutations ciblées de l'EGFR.
- **Données cliniques incomplètes** : L'absence de certaines informations concernant les profils de recherche sur tissu chez quelques patients (technique utilisée, délais de rendu des résultats, raisons précises d'absence de résultats exploitables) constitue également une contrainte.
- **Limitations économiques** : Contrairement à la recherche sur tissu, le coût de la recherche de mutations sur biopsie liquide n'est actuellement pas pris en charge ou compensé par les laboratoires pharmaceutiques.

## 7 Perspectives

- **Optimisation des procédés d'extraction** : Améliorer les méthodes d'extraction et de contrôle de l'ADNc par l'utilisation de kits et d'équipements plus performants.
- **Amélioration de la logistique de prélèvement** : Recourir à des tubes de prélèvement contenant des agents stabilisateurs pour faciliter le transport des échantillons depuis d'autres structures vers le CLCC, sans nécessiter le déplacement du patient.
- **Extension des capacités de détection** : Intégrer la technologie de séquençage de nouvelle génération (NGS) afin d'élargir la recherche à l'ensemble des mutations de l'EGFR.
- **Diversification des cibles moléculaires** : Étendre l'analyse sur biopsie liquide à d'autres altérations moléculaires pertinentes dans le CBNPC (telles que BRAF, KRAS.... ainsi qu'à d'autres types de cancers.

## **D. Bibliographie**

1. Mazières. J. **Épidémiologie du cancer bronchique : des considérations générales à l'aspect moléculaire. Revue des Maladies Respiratoires Actualités .Volume 6, Issue 4, (2014), 305-310.**
2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Peros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F . **Global Cancer Observatory: Cancer Today Globocan 2022. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.who.int.today> (accédé le 08/09/2024).**
3. L Langer CJ, Besse B, Gualberto A, Brambilla E, Soria JC. **The evolving role of histology in the management of advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2010 Dec 20;28(36):5311-20.**
4. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A. **Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024 May-Jun;74(3):229-263.**
5. Couraud S, Zalcmán G, Milleron B, Morin F, Souquet PJ. **Lung cancer in never smokers--a review. Eur J Cancer. 2012 Jun;48(9):1299-311.**
6. Trédaniel J. **Épidémiologie du cancer du poumon en France et dans le monde. Revue des Maladies Respiratoires Actualités (2018) 10, 182-185.**
7. KERBOUA . E . **« Thérapie ciblée dans le cancer bronchique non à petites cellules avec addiction oncogénique » EL HAKIM Revue Médicale Algérienne, Mai - juin 2021 N° 37 Vol. VI .**
8. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, Mok TS, Reck M, Van Schil PE, Hellmann MD, Peters S; ESMO Guidelines Committee. **Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2018 Oct 1;29(Suppl 4):iv192-iv237.**
9. Sébastien Couraud et comité de rédaction 2020 **« Cancer bronchique non à petites cellules » Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique » 16ème édition , 2020 .**
10. **Référentiel régional Oncomip « Biologie Moléculaire » Actualisation Mai. 2014,**
11. Eberlé, F **« Biomarqueurs prédictifs de réponse aux thérapies ciblées en oncologie pulmonaire » Académie nationale de Pharmacie , mars 2013 .**

12. Hamdi Cherif .M, Kara .L, Atoui .S, Boudefar .F "Données épidémiologiques du cancer dans l'Est et le Sud-Est Algérien 2014-2017", ALGERIAN JOURNAL OF HEALTH SCIENCES (2020).VOL. 2 SUPPLEMENT 2 S14-S31.
13. MAZOUZI. C, KERBOUA. E "Le cancer du poumon. Épidémiologie et facteurs de risque" ELHAKIM Mai - juin 2021 N° 37 Vol. VI .
14. Locatelli-Sanchez. M, Couraud. S, Souquet .P.-J "Épidémiologie du cancer bronchique : données actuelles" Revue des Maladies Respiratoires Actualités (2015) 7, 286-288.
15. Lantuejoul .S, Rouquette .I, Brambilla.E, Travis W.D, « Nouvelle classification OMS 2015 des adénocarcinomes pulmonaires et préneoplasies » Annales de Pathologie January 2016, Volume 36, Issue 1 , Pages 5-14.
16. Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Synthèse. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019. 20 p.
17. Turner MC, Andersen ZJ, Baccarelli A, Diver WR, Gapstur SM, Pope CA 3rd, Prada D, Samet J, Thurston G, Cohen A. Outdoor air pollution and cancer: An overview of the current evidence and public health recommendations. CA Cancer J Clin. 2020 Aug 25;10.3322/caac.21632.
18. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018 Nov et Epu, 68(6):394-424.
19. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021 May et 10.3322/caa, 71(3):209-249.
20. Brambilla E. Réponses aux thérapies ciblées: le cancer du poumon [Responses to targeted therapies: lung cancer]. Ann Pathol. 2009, 29 Spec No 1:S77-80.
21. AMMOUR H "Profil Biologique Des Cancers Bronchiques Non À Petites Cellules Localement Avancés Ou Métastatiques Dans La Région Centre D'algerie" thèse en Doctorat En Sciences Médicales, Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou, 2022.
22. HILL, C. "Épidémiologie du tabagisme" Revue du Praticien - Monographie Mars 2012 (Tome 62, n°3).

23. Alberg AJ, Ford JG, Samet JM; American College of Chest Physicians. Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). Chest. 2007 Sep;132(3 Suppl):29S-55S.
24. Couraud. S, Wislez. M " Cancers broncho-pulmonaires des non-fumeurs" Revue des Maladies Respiratoires Actualités September 2013, Volume 5, Issue 5, Pages 482-489.
25. Peiffer. G, Underner. M, Perriot. J, Paillot .N, Renolleau. F " Le sevrage tabagique" Revue des Maladies Respiratoires Actualités , September 2013, Volume 5, Issue 5, Pages e5-e15.
26. Thun MJ, Henley SJ, Calle EE. Tobacco use and cancer: an epidemiologic perspective for geneticists. Oncogene. 2002 Oct 21;21(48):7307-25.
27. Le Houezec .J "Pharmacologie de la nicotine et dépendance au tabac" Médecine&Hygiène , octobre 2003 61 : 1 8 4 5 - 8.
28. WISSLER .M.P « Bilan De L'analyse Du Statut Mutationnel Egfr De 1000 Patients Atteints D'adenocarcinomes Pulmonaires Pris En Charge Par La Plateforme D'oncologie Moléculaire Du Chu-Cav De Nancy », Thèse Docteur En Médecine Université De Lorraine. 2012.
29. Hirayama T. Non-smoking wives of heavy smokers have a higher risk of lung cancer: a study from Japan. Br Med J (Clin Res Ed). 1981 Jan 17;282(6259):183-5.
30. Frusch. N, Bosquée. L , Louis. R. "Le cancer du poumon. Epidémiologie et facteurs étiologiques" Rev Med Liege 2007. 62(9),548-553.
31. Taylor R, Najafi F, Dobson A. Meta-analysis of studies of passive smoking and lung cancer: effects of study type and continent. Int J Epidemiol. 2007 Oct;36(5):1048-59.
32. WIRTH.N, BOHADANA; A, SPINOSA ;A, Martinet.Y . "Les pathologies respiratoires liées au tabagisme passif". Rev Mal Respir (2009) Vol 26 - N° 6 P. 667-678.
33. Deutsch.A "FICHE REPÈRES: RISQUE DE CANCERS ET CANNABIS" Document INCA , 26 JANVIER 2009.
34. Paireon JC, Andujar P, Matrat M, Ameille J. "Cancers respiratoires professionnels [Etiology, epidemiology, biology. Occupational respiratory cancers]." Rev Mal Respir. 2008 Oct et 18971823., 25(8 Pt 2):3S18-31.
35. Amabile JC, Leuraud K, Vacquier B, Caër-Lorho S, Acker A, Laurier D. Multifactorial study of the risk of lung cancer among French uranium miners: radon, smoking and silicosis. Health Phys. 2009 Dec;97(6):613-21.

36. Olsson AC, Favotte J, Fletcher T, et al. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and lung cancer risk : multicenter study in Europe *Occup Environ Med* 2009 et 98-103., 67 .
37. Beveridge R, Pintos J, Parent ME, Asselin J, Siemiatycki J. Lung cancer risk associated with occupational exposure to nickel, chromium VI, and cadmium in two population-based case-control studies in Montreal. *Am J Ind Med.* 2010 May;53(5):476-85.
38. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, Deo H, Falk R, Forastiere F, Hakama M, Heid I, Kreienbrock L, Kreuzer M, Lagarde F, Mäkeläinen I, Muirhead C, Oberaigner W, Pershagen G, Ruano-Ravina A, Ruosteenoja E, Rosario AS, Tirmarche M, Tomásek L, Whitley E, Wichmann HE, Doll R. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ.* 2005 Jan 29;330(7485):223.
39. Institut national du cancer ,Coordination de la fiche repère « Radon et cancer » : Direction de la santé publique, département prévention, COLLECTION fiches repères INCA, 10 OCTOBRE 2011.
40. Boffetta P. Human cancer from environmental pollutants: the epidemiological evidence. *Mutat Res.* 2006 Sep 28;608(2):157-62.
41. Omran AR. The epidemiologic transition. A theory of the epidemiology of population change. *Milbank Mem Fund Q.* 1971 Oct;49(4):509-38.
42. Gamble J. Lung cancer and diesel exhaust: a critical review of the occupational epidemiology literature. *Crit Rev Toxicol.* 2010 Mar;40(3):189-244.
43. Zou K, Sun P, Huang H, Zhuo H, Qie R, Xie Y, Luo J, Li N, Li J, He J, Aschebrook-Kilfoy B, Zhang Y. Etiology of lung cancer: Evidence from epidemiologic studies. *J Natl Cancer Cent.* 2022 Oct 4;2(4):216-225.
44. Amos CI, Wu X, Broderick P, Gorlov IP, Gu J, Eisen T, Dong Q, Zhang Q, Gu X, Vijayakrishnan J, Sullivan K, Matakidou A, Wang Y, Mills G, Doheny K, Tsai YY, Chen WV, Shete S, Spitz MR, Houlston RS. Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1. *Nat Genet.* 2008 May;40(5):616-22.
45. McKay JD, Hung RJ, Gaborieau V, Boffetta P, Chabrier A, Byrnes G, Zaridze D, Mukeria A, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Bencko V, Foretova L, J. Lung cancer susceptibility locus at 5p15.33. *Nat Genet.* 2008 Dec;40(12):1404-6.
46. Cotran S .R , Kumar. V, Collins. T"Robbins anatomie pathologique : bases morphologiques et physiopathologiques des maladies, éditeur: Piccin, 2000.

47. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57-70.
48. Couraud.S Et le comité de rédaction de l'édition 2019. Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique. 15ème édition , 2019
49. GROUSSARD. O, DASTE, G, « Anatomie pathologique des cancers broncho-pulmonaires », éditions scientifiques et médicales Elsevier, (2001),vol.17, n°6p.7.
50. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*. 2008 Sep 25;359(13):1367-80.
51. Jouda Cherif .Ag et comité de rédaction 2016 "Référentiel sur le cancer broncho- pulmonaire" SOCIETE TUNISIENNE DES MALADIES RESPIRATOIRES ET D'ALLERGOLOGIE, 2016.
52. Groussard O, Daste G. Anatomie pathologique des cancers Bronchopulmonaires. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), pneumologie 2004 et 6-002-G-20.
53. MacRedmond R, McVey G, Lee M, Costello RW, Kenny D, Foley C, Logan PM. Screening for lung cancer using low dose CT scanning: results of 2 year follow up. *Thorax*. 2006 Jan;61(1):54-6.
54. Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers--a different disease. *Nat Rev Cancer*. 2007 Oct;7(10):778-90.
55. Aberle DR, DeMello S, Berg CD, Black WC, Brewer B, Church TR, Clingan KL, Duan F, Fagerstrom RM, Gareen IF, Gatsonis CA, Gierada DS, Jain A, Jones GC, Mahon I, Marcus PM, Rathmell JM, Sicks J; National Lung Screening Trial Research Team. Results of the two incidence screenings in the National Lung Screening Trial. *N Engl J Med*. 2013 Sep 5;369(10):920-31.
56. Couraud .S et le comité de rédaction de l'édition 2024 " Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique « Cancer bronchique non à petites cellules » 20ème édition, 2024.
57. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) " Clinical Practice Guidelines in Oncology « Non-Small Cell Lung Cancer » Version 5.2024 — April 23, 2024.
58. Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, Pelosi G, Travis WD, Rekhtman N. p40 ( $\Delta$ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol*. 2012 Mar;25(3):405-15.
59. Lababede O, Meziane MA, Rice TW. TNM staging of lung cancer: a quick reference chart. *Chest*. 1999 Jan;115(1):233-5.

60. Antoine. M., Moroch. J., Kebir. F., Georges. M., Ruppert. A J.. Classification histomoléculaire des cancers pulmonaires . Revue des maladies respiratoires actualités, (2018) 10(3): 236 247.
61. Lantuéjoul S, Salameire D, Brambilla E. Classification histologique des cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules. Rev Mal Respir Actual. sept 2011 et 3(4):295-301.
62. Spiro SG, Porter JC. Lung cancer--where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. Am J Respir Crit Care Med. 2002 Nov 1;166(9):1166-96.
63. Travis, W. D. Brambilla.E ,Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart , World Health Organization Classification of Tumours (2004)- Page 305. p. 344.
64. SShimosato Y, Kodama T, Kameya T. 1982. Morphogenesis of peripheral type adenocarcinoma of the lung. In Morphogenesis of Lung Cancer, Y Shimosato, MR Melamed, and P Nettesheim (eds.). CRC Press: Boca Raton, FL, pp. 65–89.
65. Thun MJ, Lally CA, Flannery JT, Calle EE, Flanders WD, Heath CW Jr. Cigarette smoking and changes in the histopathology of lung cancer. J Natl Cancer Inst. 1997 Nov 5;89(21):1580-6.
66. Lantuejoul .S « Classification anatomopathologique des cancers pulmonaires et de leurs préneoplasies, Histomolecular classification of lung cancers and their preneoplasia” Revue des Maladies Respiratoires Actualités September 2014,Volume 6, Issue 4, Pages 34.
67. Joobeur S, Ben Saad A, Migaou A, Fahem N, Mhamed SC, Rouatbi N. Survie et facteurs pronostiques du cancer bronchique non à petites cellules chez le sujet jeune au centre tunisien [Survival and prognostic factors of non-small-cell lung cancer among young. people in central Tunisia]. Pan Afr Med J. 2020 Jan 23;35:19.
- 68., Rousseau E. "Dépistage des maladies liées au tabagisme en Médecine Générale : élaboration d'un dépistage type par consensus selon la méthode Delphi." Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-03621731
69. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. Mayo Clin Proc. 2019 Aug;94(8):1623-1640.
70. La Combe. B, Gaillard .S, Bennis.S , Chouaid.C, Prise en charge des métastases rachidiennes de cancer bronchopulmonaire, Revue des Maladies Respiratoires, 2013,Volume 30, Issue 6, Pages 480-489.

71. Giraud . P, Trédaniel. J , "CANCÉROLOGIE - 2E ÉDITION ACTUALISÉE" ISBN : 978-2-84678-241-8 © ÉDITIONS MED-LINE, 2019.
72. Nair A, Godoy MC, Holden EL, Madden BP, Chua F, Ost DE, Roos JE, Naidich DP, Vlahos I. Multidetector CT and postprocessing in planning and assisting in minimally invasive bronchoscopic airway interventions. *Radiographics*. 2012 Sep-Oct;32(5):E201-32.
73. Chassagnon G, Bennani. S, Revel. M.P , " Imagerie par tomodensitométrie du cancer bronchique non à petites cellules." *Cancer Radiother* (2016) Vol 20 - N° 6-7 P. 694-698.
74. Stahel R.A, Peters.S, Garassino.M. THARACIC TUMOURS essentials for clinicians. Second edition, ESMO 2019. Prevention and screening of lung cancer. 14.
75. Bouzid.K, Gamaz ,M. "recommandation pour la pratique clinique dans la prise en charge des cancers bronchiques non à petites cellules". Société Algérienne d'Oncologie Médicale. Global Edit Service 2017.
76. Liorca .F. P « Stratégie de testing moléculaire des carcinomes pulmonaires » *Annales de pathologie* (2016) 36, 73—79.
77. Beau-Faller. M, Boyer. A, Guérin .E, Fournier .C, Reita .D, Barlesi. F. Actualités sur les biomarqueurs en France. *Lettre du cancérologue*. Janvier 2018, Vol. XXVII-n°1.
78. Brambilla, E. and A. Gazdar. Pathogenesis of lung cancer signalling pathways: roadmap for therapies. *European Respiratory Journal*, 2009. 33(6): p. 1485-1497.
79. Lacave. R, Larsen C.J, Robert .J, *Cancérologie fondamentale*. Collection Société Française du Cancer, Juin 2005. 207-212.
80. Yokota J, Kohno T. Molecular footprints of human lung cancer progression. *Cancer Sci*. 2004 Mar;95(3):197-204.
81. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74.
82. Rolfo C, Passiglia F, Ostrowski M, Farracho L, Ondøichová T, Dolcan A, Castiglia M, Remmen R, Papadimitriou K, Pauwels P. Improvement in lung cancer outcomes with targeted therapies: an update for family physicians. *J Am Board Fam Med*. 2015 Jan-Feb;28(1):124-33.
83. Grodzka A, Knopik-Skrocka A, Kowalska K, Kurzawa P, Krzyzaniak M, Stencel K, Bryl M. Molecular alterations of driver genes in non-small cell lung cancer: from diagnostics to targeted therapy. *EXCLI J*. 2023 May 11;22:415-432.

84. Olivier.C. **reseau d'oncologie libérale ONCOMEL : « Biopsie liquide en oncologie thoracique » la louvière? Mars2018.**
85. Friedlaender A, Perol M, Banna GL, Parikh K, Addeo A. **Oncogenic alterations in advanced NSCLC: a molecular super-highway. Biomark Res. 2024 Feb 12, 38347643, 12(1):24.**
86. Barlesi .F , Blons .H, Beau-Faller .M, Rouquette .I, Ouafik .L. **Biomarkers (BM) France: Results of routine EGFR, HER2, KRAS, BRAF, PI3KCA mutations detection and EML4-ALK gene fusion assessment on the first 10,000 non-small lung cancer (NSCLC) patients (pts). Journal of Clinical Oncology 2013 Volume 31, Number 15\_suppl.**
87. Haute Autorité De Santé (HAS), **RAPPORT D'EVALUATION • Définition des conditions de réalisation des tests de détection des mutations activatrices de l'EGFR et des mutations BRAF, NRAS, et KRAS • septembre 2021.**
88. Escande. F, Reita .D, Farchi. , Pencreach .E , Descarpentries. C, Beau-Faller. M **« Cancer du poumon : quel bilan de biologie moléculaire ? » Revue des Maladies Respiratoires Actualités (2021) 13, 2S34-2S40.**
89. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, Peters S, Planchard D, Smit EF, Solomon BJ, Veronesi G, Reck M et Committee., **ESMO Guidelines. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2023 Apr;34(4):339-357.**
90. HUBERT.P **« Les facteurs de croissance de la famille de l'EGF et leurs récepteurs » Bull Cancer2006, hors série :17-24,.**
91. Tin, Pui-chi **« Detection of EGFR mutation in lung adenocarcinoma and paired plasma » Thesis). University of Hong. Kong, Pokfulam, Hong Kong SAR 2008.**
92. Carlson JJ, Garrison LP, Ramsey SD, Veenstra DL. **Epidermal growth factor receptor genomic variation in NSCLC patients receiving tyrosine kinase inhibitor therapy: a systematic review and meta-analysis. J Cancer Res Clin Oncol. 2009 Nov;135(11):1483-93.**
93. Peters S, Betticher DC, **The role of EGFR in non-small cell lung carcinoma. Rev Médicale Suisse. 20 mai 2009 et 5(204):1096-8, 1100-1.**
94. Pao W, Miller VA. **Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. J Clin Oncol. 2005 Apr 10;23(11):2556-68.**

95. Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med*. 2008 Mar 13;358(11):1160-74. doi: 10.1056/NEJMra0707704. Erratum in: *N Engl J Med*. 2009 Apr 9;360(15):1579.
96. Carlson JJ, Garrison LP, Ramsey SD, Veenstra DL. Epidermal growth factor receptor genomic variation in NSCLC patients receiving tyrosine kinase inhibitor therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2009 Nov et 135(11):1483-93.
97. Liang Z, Zhang J, Zeng X, Gao J, Wu S, Liu T. Relationship between EGFR expression, copy number and mutation in lung adenocarcinomas. *BMC Cancer*. 2010 Jul 19;10:376.
98. Nakamura H, Kawasaki N, Taguchi M, Kabasawa K. Survival impact of epidermal growth factor receptor overexpression in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Thorax*. 2006 Feb;61(2):140-5.
99. Li AR, Chitale D, Riely GJ, Pao W, Miller VA, Zakowski MF, Rusch V, Kris MG, Ladanyi M. EGFR mutations in lung adenocarcinomas: clinical testing experience and relationship to EGFR gene copy number and immunohistochemical expression. *J Mol Diagn*. 2008 May;10(3):242-8.
100. Larsen JE, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Clin Chest Med*. 2011 Dec, 22054881, 32(4):703-40.
101. P. Tomasini « Thérapies moléculaires ciblées en cancérologie pulmonaire » *EMC Pneumologie 1 ,avril2018, Volume 15 > n°2 >*.
102. Fukihara J, Watanabe N, Taniguchi H, Kondoh Y, Kimura T, Kataoka K, Matsuda T, Yokoyama T, Hasegawa Y. Clinical predictors of response to EGFR tyrosine kinase inhibitors in patients with EGFR-mutant non-small cell lung cancer. *Oncology*. 2014 et 86(2):86-93.
103. John T, Taylor A, Wang H, Eichinger C, Freeman C, Ahn MJ. Uncommon EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: A systematic literature review of prevalence and clinical outcomes. *Cancer Epidemiol*. 2022 Feb et Ep, 76:102080.
104. Garrido P, Conde E, de Castro J, Gómez-Román JJ, Felip E, Pijuan L, Isla D, Sanz J, Paz-Ares L, López-Ríos F. Updated guidelines for predictive biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer: a. National Consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol*. 2020 Jul;22(7):989-1003.
105. Gazdar, A.F., Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene*, 2009. 28 Suppl 1: p. S24-31.

106. Bronte G, Rizzo S, La Paglia L, Adamo V, Siragusa S, Ficorella C, Santini D, Bazan V, Colucci G, Gebbia N, Russo A. Driver mutations and differential sensitivity to targeted therapies: a new approach to the treatment of lung adenocarcinoma. *Cancer Treat Rev.* 2010 Nov;36 Suppl 3:S21-9.
107. Mitsudomi, T. and Y. Yatabe, Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *FEBS J*, 2009. 277(2): p. 301-8.
108. Sueoka-Aragane N, Katakami N, Satouchi M, Yokota S, Aoe K, Iwanaga K, Otsuka K, Morita S, Kimura S, Negoro S; Hanshin-Saga Collaborative Cancer Study Group. Monitoring EGFR T790M with plasma DNA from lung cancer patients in a prospective observational study. *Cancer Sci.* 2016 Feb;107(2):162-7.
109. Guo H, Zhang J, Qin C, Yan H, Liu T, Hu H, Tang S, Tang S, Zhou H. Biomarker-Targeted Therapies in Non-Small Cell Lung Cancer: Current Status and Perspectives. *Cells.* 2022 Oct 12 et 10.3390/cells11203200., 11(20):3200.
110. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer.* 2007 Mar et 10.1038/nrc2088., 7(3):169-81.
111. Simonetti S, Molina MA, Queralt C, de Aguirre I, Mayo C, Bertran-Alamillo J, Sanchez JJ, Gonzalez-Larriba JL, Jimenez U, Isla D, Moran T, Viteri S, Camps C, Garcia-Campelo R, Massuti B, Benlloch S, Ramon y Cajal S, Taron M, Rosell R. Detection of EGFR mutations with mutation-specific antibodies in stage IV non-small-cell lung cancer. *J Transl Med.* 2010 Dec 18;8:135.
112. Suda. K, Tomizawa .K, Mitsudomi.T, “Biological and Clinical Significance of KRAS Mutations in Lung Cancer: An Oncogenic Driver that Contrasts with EGFR Mutation,” *Cancer and Metastasis Reviews*, 2010,Vol. 29, No. 1, pp. 49-60.
113. Cheung AH, Tong JH, Chung LY, Chau SL, Ng CS, Wan IYP, To KF. EGFR mutation exists in squamous cell lung carcinoma. *Pathology.* 2020 Apr et 27., 52(3):323-328.
114. Yun CH, Mengwasser KE, Toms AV, Woo MS, Greulich H, Wong KK, Meyerson M, Eck MJ. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Feb 12 et 10.1073/pnas.0709662105, 105(6):2070-5.
115. Sueoka-Aragane N, Katakami N, Satouchi M, Yokota S, Aoe K, Iwanaga K, Otsuka K, Morita S, Kimura S, Negoro S; Hanshin-Saga Collaborative Cancer Study Group. Monitoring EGFR T790M with plasma DNA from lung cancer patients in a prospective observational study. *Cancer Sci.* 2016 Feb;107(2):162-7.

116. Lam DC, Tam TC, Lau KM, Wong WM, Hui CK, Lam JC, Wang JK, Lui MM, Ho JC, Ip MS. Plasma EGFR Mutation Detection Associated With Survival Outcomes in Advanced-Stage Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2015 Nov et 10.1016/j.clcc.2015.06.003., 16(6):507-13.
117. Engelman JA, Jänne PA. Mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2008 May 15 et 10.1158/1078-0432.CCR-07-2248., 14(10):2895-9.
118. Chhour, H., Alexandre, D. et Grumolato, L. Mechanisms of Acquired Resistance and Tolerance to EGFR Targeted Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers* 2023, 15, 504.
119. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, Bergethon K, Shaw AT, Gettinger S, Cosper AK, Akhavanfard S, Heist RS, Temel J, Christensen JG, Wain JC, Lynch TJ, Vernovsky K, Mark EJ, Lanuti M, Iafrate AJ, Mino-Kenudson M, Eng. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med*. 2011 Mar 23;3(75):75ra26.
120. Mansuet-Lupo.A, « Les réarrangements moléculaires : cibles thérapeutiques en cancérologie thoracique » *Bulletin du Cancer* September 2020, Volume 107, Issue 9, , Pages 896-903.
121. Tsao MS, Hirsh FR, Yatabe Y, IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in lung cancer. North For Myers, FL : Editorial Rx Press , 2017.
122. Tharin Z., Kaderbhai C., & Ghiringhelli F . Biologie moléculaire des carcinomes bronchiques : standards actuels et perspectives. *Revue Francophone Des Laboratoires* (2018), 506 : 46–51.
123. ZALCMAN.G,« Les biomarqueurs du cancer bronchopulmonaire: actuels et émergents, » *Université Paris-Diderot Inserm* 2020.
124. Testa.U , Castelli.G, Pelosi. E « ROS1-Rearranged Lung Adenocarcinoma: From Molecular Genetics to Target Therapy » *Onco* 2023, 3, 189–204.
125. Yan N, Guo S, Zhang H, Zhang Z, Shen S, Li X. BRAF-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer: Current Treatment Status and Future Perspective. *Front Oncol*. 2022 Mar 31 et 10.3389/fonc.2022.863043., 12:863043.
126. Tissot C, Couraud S, Tanguy R, Bringuier PP, Girard N, Souquet PJ. Clinical characteristics and outcome of patients with lung cancer harboring BRAF mutations. *Lung Cancer*. 2016 Jan;91:23-8.

127. Peng P, Lv G, Hu J, Wang K, Lv J, Guo G. Co-mutations of epidermal growth factor receptor and BRAF in Chinese non-small cell lung cancer patients. *Ann Transl Med.* 2021 Aug;9(16):1321.
128. Planchard D, Besse B, Groen HJM, Hashemi SMS, Mazieres J, Kim TM, Quoix E, Souquet PJ, Barlesi F, Baik C, Villaruz LC, Kelly RJ, Zhang S, Tan M, Gasal E, Santarpia L, Johnson BE. Phase 2 Study of Dabrafenib Plus Trametinib in Patients With BRAF V600E-Mutant Metastatic NSCLC: Updated 5-Year Survival Rates and Genomic Analysis. *J Thorac Oncol.* 2022 Jan;17(1):103-115.
129. Servetto A, Esposito D, Ferrara R, Signorelli D, Belli S, Napolitano F, Santaniello A, Ciciola P, Formisano L, Bianco R. RET rearrangements in non-small cell lung cancer: Evolving treatment landscape and future challenges. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2022 Nov;1877(6):188810.
130. Tan AC, Seet AOL, Lai GGY, Lim TH, Lim AST, Tan GS, Takano A, Tai DWM, Tan TJY, Lam JYC, Ng MCH, Tan WL, Ang MK, Kanavarar R, Ng QS, Jain A, Rajasekaran T, Lim WT, Tan EH, Lim TKH, Tan DSW. Molecular Characterization and Clinical Outcomes in RET-Rearranged NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2020 Dec;15(12):1928-1934.
131. Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018 Dec;15(12):731-747.
132. Chetty R. Neurotrophic tropomyosin or tyrosine receptor kinase (NTRK) genes. *J Clin Pathol.* 2019 Mar;72(3):187-190.
133. Eder JP, Vande Woude GF, Boerner SA, LoRusso PM. Novel therapeutic inhibitors of the c-Met signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res.* 2009 Apr 1 et 10.1158/1078-0432.CCR-08-1306. 15(7):2207-14.
134. Scagliotti G, Novello S, von Pawel J, Reck M, Pereira JR, Thomas M, Abrão Miziara JE, Balint B, De Marinis F, Keller A, Arén O, Csollak M, Albert I, Barrios CH, Grossi F, Krzakowski M, Cupit L, Cihon F, Dimatteo S, Hanna N. Phase III study of carboplatin and paclitaxel alone or with sorafenib in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 10;28(11):1835-42.
135. Riedel R, Fassunke J, Tumbrink HL, Scheel AH, Heydt C, Hieggelke L, Scheffler M, Heimsoeth A, Nogova L, Michels S, Weber JP, Fischer RN, Eisert A, Westphal T, Schaufler D, Siemanowski J, Ihle MA, Wagener-Ryczek S, Castiglione R, Pappesch R, Rehker J, Jürgens J, Stoelben E, Bunck A, Kobe C, Merkelbach-Bruse S, Sos ML, Büttner R, Wolf J. Resistance to MET inhibition in MET-dependent NSCLC and therapeutic activity after switching from type I to type II MET inhibitors. *Eur J Cancer.* 2023 Jan;179:124-135.

136. Corso S, Migliore C, Ghiso E, De Rosa G, Comoglio PM, Giordano S. Silencing the MET oncogene leads to regression of experimental tumors and metastases. *Oncogene*. 2008 Jan 24;27(5):684-93.
137. Jamme .P, Cortot.A, Descarpentries.C, Mutations MET exon 14 :  
-identification et ciblage thérapeutique, *Correspondances en Onco-Thoracique*. N° 4 , déc. 2021
138. Riely GJ, Marks J, Pao W. KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proc Am Thorac Soc*. 2009 Apr 15;6(2):201-5.
139. Cascetta P, Marinello A, Lazzari C, Gregorc V, Planchard D, Bianco R, Normanno N, Morabito A. KRAS in NSCLC: State of the Art and Future Perspectives. *Cancers (Basel)*. 2022 Nov 4;14(21):5430.
140. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res*. 2004 Dec 15;64(24):8919-23.
141. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, Price TJ, Falchook GS, Wolf J, Italiano A, Schuler M, Borghaei H, Barlesi F, Kato T, Curioni-Fontecedro A, Sacher A, Spira A, Ramalingam SS, Takahashi T, Besse B, Anderson A, Ang A, Tran Q, Mather O, Henary H, Ngarmchamnanrith G, Friberg G, Velcheti V, Govindan R. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *N Engl J Med*. 2021 Jun 24;384(25):2371-2381.
142. Ren S, Wang J, Ying J, Mitsudomi T, Lee DH, Wang Z, Chu Q, Mack PC, Cheng Y, Duan J, Fan Y, Han B, Hui Z, Liu A, Liu J, Lu Y, Ma Z, Shi M, Shu Y, Song Q, Song X, Song Y, Wang C, Wang X, Wang Z, Xu Y, Yao Y, Zhang L, Zhao M, Zhu B, Zhang J, Zhou C, Hirsch FR. Consensus for HER2 alterations testing in non-small-cell lung cancer. *ESMO Open*. 2022 Feb;7(1):100395.
143. Mazières. J, Milia. J, Les mutations de HER2 dans les cancers bronchiques : caractéristiques et perspectives thérapeutiques. *Revue des Maladies Respiratoires*. octobre 2012, Vol 4 - N° 6. P. 657-661 .
144. Bob. T. L , Egbert. F .S , Yasushi .G,Trastuzumab Deruxtecan dans le cancer du poumon non à petites cellules mutant HER2. *N anglais J méd* 20 janvier 2022 et 386(3):241-251.
145. Bounedjar.A et comité de rédaction 2024 « Guide thérapeutique en oncologie médicale », CBNPC Ministère de la Santé,Algérie –septembre 2024 P-151-187.
146. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, Jenkins RB, Kwiatkowski DJ, Saldivar JS, Squire J, Thunnissen E, Ladanyi M. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and

**ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. J Thorac Oncol. 2013 Jul;8(7):823-59.**

**147. Référentiel de biologie moléculaire ,Référentiel Régional Onco-Occitanie, réseau régional de cancérologie, France, 2022.**

**148. INCa, Patients atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules : indications des tests moléculaires en vue de la prescription de traitements de précision, RECOMMANDATIONS ET RÉFÉRENTIELS, Janvier 2023. Disponible sur : . <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Patients-atteints-d-un-cancer-bronchique-non-a-petites-cellules-indications-des-tests-moleculaires-en-vue-de-la-prescription-de-traitements-de-precision> (accédé le 10/11/2023).**

**149. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP Tagrisso\* Osimertinib. mise à jour : 24/01/2025.**

**150. Sarnecka AK, Nawrat D, Piwowar M, Ligęza J, Swadźba J, Wójcik P. DNA extraction from FFPE tissue samples - a comparison of three procedures. Contemp Oncol (Pozn). 2019;23(1):52-58.**

**151. Dupont, M.E., Christiansen, S.N., Jacobsen, S.B. et al. DNA quality evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded heart tissue for DNA methylation array analysis. Sci Rep 13, 2004 (2023).**

**152. Hanna W, Barnes P, Berendt R, Chang M, Magliocco A, Mulligan AM, Rees H, Miller N, Elavathil L, Gilks B, Pettigrew N, Pilavdzic D, Sengupta S. Testing for her2 in breast cancer: current pathology challenges faced in Canada. Curr Oncol. 2012 Dec;19(6):315-23.**

**153. Li J, Greytak SR, Guan P, Engel KB, Goerlitz DS, Islam M, Varghese RS, Moore HM, Ransom HW. Formalin Fixation, Delay to Fixation, and Time in Fixative Adversely Impact Copy Number Variation Analysis by aCGH. Biopreserv Biobank. 2023 Aug;21(4):407-416.**

**154. Marck, V. Anatomie et cytologie pathologiques. Manuel de Techniques D'anatomo-Cytopathologie, (2010). 35–132.**

**155. Pascual J, Attard G, Bidard FC, Curigliano G, De Mattos-Arruda L, Diehn M, Italiano A, Lindberg J, Merker JD, Montagut C, Normanno N, Pantel K, Pentheroudakis G, Popat S, Reis-Filho JS, Tie J, Seoane J, Tarazona N, Yoshino T, Turner NC. Turner NC. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. Ann Oncol. 2022 Aug;33(8):750-768.**

156. Tomasik B, Skrzypski M, Bienkowski M, Dziadziuszko R, Jassem J. Current and future applications of liquid biopsy in non-small-cell lung cancer-a narrative review. *Transl Lung Cancer Res.* 2023 Mar 31;12(3):594-614.
157. Debré P., R. Ardaillou, F. Galibert. La biopsie liquide : alternative ou complément à la biopsie tissulaire ?. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 2020, 204, pp.416 - 420.
158. Rougerie .T, Intérêt et contribution de l'ADN tumoral circulant : une révolution dans la prise en charge du cancer du pancréas ou un outil supplémentaire dans l'arsenal actuel ?. *Sciences pharmaceutiques 2023.dumas-04113552* .
159. Heitzer E, Auinger L, Speicher MR. Cell-Free DNA and Apoptosis: How Dead Cells Inform About the Living. *Trends Mol Med.* 2020 May;26(5):519-528. doi:.
160. Stewart CM, Tsui DWY. Circulating cell-free DNA for non-invasive cancer management. *Cancer Genet.* 2018 Dec et 10.1016/j.cancergen.2018.02.005., 228-229:169-179.
161. Yoon KA, Park S, Lee SH, Kim JH, Lee JS. Comparison of circulating plasma DNA levels between lung cancer patients and healthy controls. *J Mol Diagn.* 2009 May;11(3):182-5..
162. Diaz LA Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol.* 2014 Feb 20;32(6):579-86.
163. Meddeb R, Pisareva E, Thierry AR. Guidelines for the Preanalytical Conditions for Analyzing Circulating Cell-Free DNA. *Clin Chem.* 2019 May;65(5):623-633.
164. Catarino R, Coelho A, Araújo A, Gomes M, Nogueira A, Lopes C, Medeiros R. Circulating DNA: diagnostic tool and predictive marker for overall survival of NSCLC patients. *PLoS One.* 2012;7(6):e38559.
165. Neumann MHD, Bender S, Krahn T, Schlange T. ctDNA and CTCs in Liquid Biopsy - Current Status and Where We Need to Progress. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018 Jun 1, 29977481, 16:190-195.
166. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayer FO, Hesch RD, Knippers R. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res.* 2001 Feb 15 et 61(4):1659-65.
167. Ma, L., Guo, H., Zhao, Y. et al. Liquid biopsy in cancer: current status, challenges and future prospects. *Sig Transduct Target Ther* 9, 336 (2024).

168. Assi T, Khoury R, Ibrahim R, Baz M, Ibrahim T, LE Cesne A. Overview of the role of liquid biopsy in cancer management. *Transl Oncol.* 2023 Aug;34:101702.
169. Kumar. S. R. Guleria V. Singh « Plasma DNA level in predicting therapeutic efficacy in advanced nonsmall cell lung cancer » *European Respiratory Journal* 2010 36(4): 885-892
170. Kemper M, Krekeler C, Menck K, Lenz G, Evers G, Schulze AB, Bleckmann A. Liquid Biopsies in Lung Cancer. *Cancers (Basel).* 2023 Feb 23;15(5):1430.
171. Vallée A, Denis MG. Apports potentiels de l'ADN circulant pour la prise en charge des cancers bronchiques non à petites cellules. *Corresp En Onco-Théranostic.* 2013 décembre et (4).
172. Escande. F, « RECHERCHE DE MUTATIONS EGFR SUR ADN CIRCULANT CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE CANCER BRONCHIQUE NON À PETITES CELLULES (CBNPC) » UF Biologie moléculaire des tumeurs solides , Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU Lille. 2017.
173. erlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, "Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing." *N Engl J Med.* 2012 Mar 8;366(10):883-892.
174. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature.* 2012 Jan 18 et 10.1038/nature10762., 481(7381):306-13.
175. Sato A, Nakashima C, Abe T, Kato J, Hirai M, Nakamura T, Komiya K, Kimura S, Sueoka E, Sueoka-Aragane N. Investigation of appropriate pre-analytical procedure for circulating free DNA from liquid biopsy. *Oncotarget.* 2018 Aug 7 et 9(61):31904-31914.
176. Kerachian, M.A., Azghandi, M., Mozaffari-Jovin, S. et al. Guidelines for pre-analytical conditions for assessing the methylation of circulating cell-free DNA. *Clin Epigenet* 13, 193 (2021).
177. Laure Sorber, Karen Zwaenepoel, Julie Jacobset al « Specialized Blood Collection Tubes for Liquid Biopsy: Improving the Pre-analytical Conditions ». *Molecular Diagnosis & Therapy Springer Nature Switzerland AG* 2019
178. El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: Preanalytical considerations. *Clin Chim Acta.* 2013 Sep 23;424:222-30.

179. Voss T, Ullius A, Schönborn M, Oelmüller U. Sensitivity assessment of workflows detecting rare circulating cell-free DNA targets: A study design proposal. *PLoS One*. 2021 Jul 6;16(7):e0253401.
180. Ponti G, Maccaferri M, Depenni R, Mandrioli M. Quantification of circulating cell-free DNA by fluorimetry (Qubit) and spectrophotometry (NanoDrop) in patients with malignant melanoma and prostate cancer, *Annals of Oncology* (2016), 27 (Supplement 4): iv89–iv91,
181. Nitsche R, Berger A, Graf E. Monitoring the Impact of Pre-analytical Parameters on cfDNA Quality. *J Biomol Tech*. 2020 Aug et PMC7425020., 31(Suppl):S8.
182. Grace MR, Hardisty E, Dotters-Katz SK, Vora NL, Kuller JA. Cell-Free DNA Screening: Complexities and Challenges of Clinical Implementation. *Obstet Gynecol Surv*. 2016 Aug;71(8):477-87.
183. Fairchild L, Whalen J, D'Aco K, Wu J, Gustafson CB, Solovieff N, Su F, Leary RJ, Campbell CD, Balbin OA. Clonal hematopoiesis detection in patients with cancer using cell-free DNA sequencing. *Sci Transl Med*. 2023 Mar 29;15(689):eabm8729.
184. Abbosh C, Swanton C, Birkbak NJ. Clonal haematopoiesis: a source of biological noise in cell-free DNA analyses. *Ann Oncol*. 2019 Mar 1 et 10.1093/annonc/mdy552., 30(3):358-359.
185. Feb, Kwapisz D. The first liquid biopsy test approved. Is it a new era of mutation testing for non-small cell lung cancer? *Ann Transl Med*. 2017 et 10.21037/atm.2017.01.32., 5(3):46.
186. Yi-Chen Zhang, Qing Zhou and Yi-Long Wu « The emerging roles of NGS-based liquid biopsy in non-small cell lung cancer » *Journal of Hematology & Oncology* (2017) 10:167.
187. Arriola E, Paredes-Lario A, García-Gomez R, Diz-Tain P, Constenla M, García-Girón C, Márquez G, Reck M, López-Vivanco G. Comparison of plasma ctDNA and tissue/cytology-based techniques for the detection of EGFR mutation status in advanced NSCLC: Spanish data subset from ASSESS. *Clin Transl Oncol*. 2018 Oct;20(10):1261-1267.
188. Keppens C, Palma JF, Das PM, Scudder S, Wen W, Normanno N, van Krieken JH, Sacco A, Fenizia F, Gonzalez de Castro D, Hönigschnabl S, Kern I, Lopez-Rios F, Lozano MD, Marchetti A, Halfon P, Schuurung E, Setinek U, Sorensen B, Taniere P, Tiemann M, Vosmikov. Detection of EGFR Variants in Plasma: A Multilaboratory Comparison of a Real-Time PCR EGFR Mutation Test in Europe. *J Mol Diagn*. 2018 Jul;20(4):483-494.

189. Toralla K.P, Pekin D, Bartolo . JF et al « PCR digitale en microcompartiments I. Détection sensible de séquences d'acides nucléiques rares » médecine/sciences n° 1, vol. 31 : 84-92 2015 .
190. Veldore VH, Choughule A, Routhu T, Mandloi N, Noronha V, Joshi A, Dutt A, Gupta R, Vedam R, Prabhash K. Validation of liquid biopsy: plasma cell-free DNA testing in clinical management of advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer (Auckl)*. 2018. 2018 Jan 3;9:1-11.
191. Pasquier. C, . Khalifa . J « Radiothérapie des CBNPC de stade III localement avancés » *La Lettre du Pneumologue* N° 6 - novembre 2022.
192. Bunel. V, Berghmans.T CBNPC Non mutés pour EGFR: Traitement de 1re ligne, *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, Volume 6, Issue 2, May 2014, Pages 121-125.
193. Dussart C, Decaux-Tramoni B, Quesada S, Thomas QD, Benzerouale O, Nicolas E, Fiteni F. Combinaisons d'inhibiteurs de points de contrôle immunitaires en oncologie : état de l'art et perspectives [Combination strategies for checkpoint inhibition: Current practices and perspectives]. *Bull Cancer*. 2023 Jul-Aug;110(7-8):790-801.
194. Calabrese L, Velcheti V. Checkpoint immunotherapy: good for cancer therapy, bad for rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2017 Jan et 10.1136/annrheumdis-2016-209782., 76(1):1-3.
195. Badoual .C, Combe. P, Gey. A et al « Signification et intérêt clinique de l'expression de PD-1 et PDL-1 dans les tumeurs » *Med Sci (Paris)* Volume 29 Juin–Juillet 2013, Number 6-7, 570-572 .
196. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP OPDIVO\* Nivolumab, 16/07/2015.
197. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP Keytruda\* Pembrolizumab. 30/07/2015
198. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, Park K, Smith D, Artal-Cortes A, Lewanski C, Braiteh F, Waterkamp D, He P, Zou W, Chen DS, Yi J, Sandler A, Rittmeyer A et Group., POPLAR Study. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Apr 30;387(10030):1837-46.
199. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP TECENTRIQ\*.Atezolizumab 29/09/2017
200. Reck M, Popat S, Grohé C, Corral J, Novello S, Gottfried M, Brueckl W, Radonjic D, Kaiser R, Heymach J. Anti-angiogenic agents for NSCLC following

**first-line immunotherapy: Rationale, recent updates, and future perspectives. Lung Cancer. 2023 May;179:107173.**

**201. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP bévacizumab , Avastin\* , 24/02/2025**

**202. Larkins E, Scepura B, Blumenthal GM, Bloomquist E, Tang S, Biabie M, Kluetz P, Keegan P, Pazdur R. U.S. Food and Drug Administration Approval Summary: Ramucirumab for the Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Following Disease Progression On. or After Platinum-Based Chemotherapy. Oncologist. 2015 Nov;20(11):1320-5.**

**203. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib. therapy. Science. 2004 Jun 4;304(5676):1497-500.**

**204. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness. of non-small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med. 2004 May 20;350(21):2129-39.**

**205. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, Sunpaweravong P, Han B, Margono B, Ichinose Y, Nishiwaki Y, Ohe Y, Yang JJ, Chewaskulyong B, Jiang H, Duffield EL, Watkins CL, Armour AA, Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary. adenocarcinoma. N Engl J Med. 2009 Sep 3;361(10):947-57.**

**206. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP AFATNIB, GIOTRIF\* , 16/10/2013.**

**207. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP Dacomitinib,VIZIMPRO\* 17/12/2024**

**208. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP géfitinib, IRESSA\* , 17/07/2023.**

**209. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP Erlotinib,TARCEVA\* 05/03/2025.**

**210. Ministère de l'industrie pharmaceutique –Algérie, Nomenclature nationale des produits pharmaceutiques a usage de la medecine humaine, 30 octobre 2024.**

**211. European Medicines Agency (EMA), Résumé Des Caractéristiques Du Produit RCP Tagrisso\* Osimertinib. mise à jour : 24/01/2025.**

212. Yin X, Zhao Z, Yin Y, Shen C, Chen X, Cai Z, Wang J, Chen Z, Yin Y, Zhang B. Adverse event profiles of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Sci.* 2021 May;14(3):919-933.
213. Lokieca.F. Douillardb J.-Y. "Inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) de l'EGFR : similitudes et différences » Elsevier Masson SAS.2011, Vol 67 - N° S1 P. S15-S19
214. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, Sunpaweravong P, Han B, Margono B, Ichinose Y, Nishiwaki Y, Ohe Y, Yang JJ, Chewaskulyong B, Jiang H, Duffield EL, Watkins CL, Armour AA, Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009 Sep 3;361(10):947-57.
215. Ding PN, Lord SJ, GebSKI V, Links M, Bray V, Gralla RJ, Yang JC, Lee CK. Risk of Treatment-Related Toxicities from EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors: A Meta-analysis of Clinical Trials of Gefitinib, Erlotinib, and Afatinib in Advanced EGFR-Mutated Non-Small. *Cell Lung Cancer. J Thorac Oncol.* 2017 Apr;12(4):633-643.
216. Lababede O, Meziane M, Rice T. Seventh edition of the cancer staging manual and stage grouping of lung cancer: quick reference chart and diagrams. *Chest.* 2011 Jan et 10.1378/chest.10-1099., 139(1):183-9.
217. Charloux. A, Enache.I, Pisteac.C Bilan fonctionnel préopératoire du cancer bronchique et réhabilitation préopératoire, *Revue des Maladies Respiratoires*, Volume 37, Issue 10, December 2020, Pages 800-810.
218. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) " Clinical Practice Guidelines in Oncology « Non-Small Cell Lung Cancer » version. 2.2013. 2013
219. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) "Clinical Practice Guidelines in Oncology « Non-Small Cell Lung Cancer » Version 3.2020. 11/02/2020
220. Haute autorité de santé (HAS),France, Direction de l'Evaluation et de l'Accès à l'Innovation "Avis de la COMMISSION DE LA TRANSPARENCE de la HAS - Atezolizumab, Avis définitif" 17 NOVEMBRE 2021.
221. Garassino MC, Cho BC, Kim JH, Mazières J, Vansteenkiste J, Lena H, Jaime JC, Gray JE, Powderly J, Chouaid C, Bidoli P, Wheatley-Price P, Park K, Soo RA, Poole L, Wadsworth C, Dennis PA, Rizvi NA. Final overall survival and safety update for durvalumab in third- or later-line advanced NSCLC: The phase II ATLANTIC study. *Lung Cancer.* 2020 Sep;147:137-142.

- 222. QIAamp® MinElute® ccfDNA Handbook For concentration and purification of circulating cell-free DNA from plasma or serum, document Qiagen® Hilden, Germany juin 2020.**
- 223. Therascreen® EGFR Plus RGQ PCR Kit Instructions for Use, Qiagen® Hilden, Germany Mars 2022.**
- 224. EGFR Plus® RGQ PCR Kit, Instructions for Use QIAGEN GmbH Hilden, Germany Mars 2023.**
- 225. Ben Hassine D, Chebil D, Melki S, Nouira S, Ben Abdelaziz A, Ben Salem K, Ben Abdelaziz A. Evaluation of the performance of a diagnostic test: Reproducibility, Internal validity and External validity. Tunis Med. 2022 Jan et 3582232, 100(1):1-8.**
- 226. Benmostefa .R "Profil histologique, clinique et moléculaire du cancer du poumon" Thèse de doctorat en sciences médicales université de Tlemcen, Algérie, 2018.**
- 227. Gammaz.M "Gemcitabine et docétaxel dans les cancers bronchiques non à petites cellules localement avancés et métastatiques. Thèse de doctorat en sciences médicales, Université d'Alger, 2007.**
- 228. Slimani A., Bendimerad T.H., Mekhlef Kh.A., Atta .M, "Profil mutationnel de l'EGFR des patients algériens atteints de carcinomes bronchiques non à petites cellules : expérience du CHU Bénimessous." Algerian Scientific Journal Platform pp. 76-82, 01-04-2023.**
- 229. Inoue M, Okumura M, Sawabata N, Miyaoka E, Asamura H, Yoshino I, Tada H, Fujii Y, Nakanishi Y, Eguchi K, Mori M, Kobayashi H, Yokoi K. Clinicopathological characteristics and surgical results of lung cancer patients aged up to 50 years: the Japanese Lung Cancer Registry Study 2004. Lung Cancer. 2014 Feb;83(2):246-51.**
- 230. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Duhig E, Flieder DB, Geisinger K, Hirsch FR, Ishikawa Y, Kerr KM, Noguchi M, Pelosi G, Powell CA, Tsao MS, Wistuba I et Panel., WHO. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. J Thorac Oncol. 2015 Sep;10(9):1243-1260.**
- 231. Lemaire M, Durieux V, Meert AP, Berghmans T. Cancers bronchiques non à petites cellules chez les adultes de moins de 40 ans : caractéristiques épidémiologiques, cliniques, histologiques et biologiques. [Non-small cell lung cancer in adults under 40 years of age]. Rev Mal Respir. 2024 Dec;41(10):727-737.**

232. République Algérienne Démocratique et Populaire. Arrêté interministériel du 5 mai 1996 fixant la liste des maladies présumées d'origine professionnelle. *Journal Officiel du. Mars. 1997.*
233. Gharnaout M, Fraga S. Cancer bronchique primitif et risques professionnels dans une population Nord-Africaine [Primary lung cancer and occupational exposure in a North African population]. *Pan Afr Med J. 2020 Oct 5 et 10.11604/pamj.2020., 37:120.*
234. Hicks BM, Filion KB, Yin H, Sakr L, Udell JA, Azoulay L. Angiotensin converting enzyme inhibitors and risk of lung cancer: population based cohort study. *BMJ. 2018 Oct 24 et 10.1136/bmj.k4209., 363:k4209.*
235. Bocchi F , Jankovic J, Wuerzner G . "Hypertension artérielle et cancer : une relation étroite à ne pas oublier." *Rev Med Suisse 2020 et 1680-3., 16.*
236. Deng HY, Zheng X, Zha P, Peng L, Huang KL, Qiu XM. Diabetes mellitus and survival of non-small cell lung cancer patients after surgery: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Thorac Cancer. 2019 Mar et 10.1111/1759-7714.12985, 10(3):571-578.*
237. Castello R , Caputo M . Thyroid diseases and gender. *Ital J Gender-Specific Med 2019 et 10.1723/3245.32148., 5(3): 136-141.*
238. LoPiccolo J, Gusev A, Christiani DC, Jänne PA. Lung cancer in patients who have never smoked - an emerging disease. *Nat Rev Clin Oncol. 2024 Feb et 10.1038/s41571-023-00844-0., 21(2):121-146.*
239. Younsi Z . "Le cancer du poumon du non-fumeur." Thèse de DESM, Université de Constantine 3, 2019.
240. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, Fong KM, Lee H, Toyooka S, Shimizu N, Fujisawa T, Feng Z, Roth JA, Herz J, Minna JD, Gazdar AF. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst. 2005 Mar 2;97(5):339-46.*
241. Lo YL, Hsiao CF, Chang GC, Tsai YH, Huang MS, Su WC, Chen YM, Hsin CW, Chang CH, Yang PC, Chen CJ, Hsiung CA. Risk factors for primary lung cancer among never smokers by gender in a matched case-control study. *Cancer Causes Control. 2013 Mar;24(3):567-76.*
242. Martin F . "Le cancer broncho-pulmonaire dans le département de La Réunion : caractéristiques cliniques et démographiques." *Médecine humaine et pathologie. 2016. ffdumas-01416758.*
243. Salas C, Martín-López J, Martínez-Pozo A, Hernández-Iglesias T, Carcedo D, Ruiz de Alda L, García JF, Rojo F. Real-world biomarker testing rate and

positivity rate in NSCLC in Spain: Prospective Central Lung Cancer Biomarker Testing Registry (LungPath) from the Spanish Society of Pathology (SEAP). *J Clin Pathol*. 2022 Mar;75(3):193-200.

244. Couraud S, Souquet PJ, Paris C, Dô P, Doubre H, Pichon E, Dixmier A, Monnet I, Etienne-Mastroianni B, Vincent M, Trédaniel J, Perrichon M, Foucher P, Coudert B, Moro-Sibilot D, Dansin E, Labonne S, Missy P, Morin F, Blanché H, Zalcman G. French Cooperative Intergroup IFCT. BioCAST/IFCT-1002: epidemiological and molecular features of lung cancer in never-smokers. *Eur Respir J*. 2015 May;45(5):1403-14.

245. Riihimäki M, Hemminki A, Fallah M, Thomsen H, Sundquist K, Sundquist J, Hemminki K. Metastatic sites and survival in lung cancer. *Lung Cancer*. 2014 Oct;86(1):78-84.

246. Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, Riely GJ, Gainor J, Engelman JA, Shapiro GI, Costa DB, Ou SH, Butaney M, Salgia R, Maki RG, Varella-Garcia M, Doebele RC, Bang YJ, Kulig K, Selaru P, Tang Y, Wilner KD, Kwak EL, Clark JW, Iafrate AJ, Camidge DR. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2011 Oct;12(11):1004-12.

247. Hendriks LE, Smit EF, Vosse BA, Mellema WW, Heideman DA, Bootsma GP, Westenend M, Pitz C, de Vries GJ, Houben R, Grünberg K, Bendek M, Speel EJ, Dingemans AM. EGFR mutated non-small cell lung cancer patients: more prone to development of bone and brain metastases? *Lung Cancer*. 2014 Apr;84(1):86-91.

248. Weber, B., Meldgaard, P., Hager, H. et al. Detection of EGFR mutations in plasma and biopsies from non-small cell lung cancer patients by allele-specific PCR assays. *BMC Cancer* 14, 294 (2014).

249. Arriola, E., Paredes-Lario, A., García-Gomez, R. et al. Comparison of plasma ctDNA and tissue/cytology-based techniques for the detection of EGFR mutation status in advanced NSCLC: Spanish data subset from ASSESS. *Clin Transl Oncol* (2018) 20, 1261–1267.

250. Xu H, Baidoo AAH, Su S, Ye J, Chen C, Xie Y, Bertolaccini L, Ismail M, Ricciuti B, Ng CSH, Flores RM, Li Y et Group., written on behalf of AME Lung Cancer Collaborative. A comparison of EGFR mutation status in tissue and plasma cell-free DNA detected by ADx-ARMS in advanced lung adenocarcinoma patients. *Transl Lung Cancer Res*. 2019 Apr;8(2):135-143.

251. Garcia J, Dusserre E, Cheynet V, Bringuier PP, Brengle-Pesce K, Wozny A-S, et al. Evaluation of pre-analytical conditions and comparison of the performance of several digital PCR assays for the detection of major EGFR

mutations in circulating DNA from. non-small cell lung cancers: the CIRCAN\_0 study. *Oncotarget* 2017;8:87980–96.

252. Voss T, Ullius A, Schönborn M, Oelmüller U. Sensitivity assessment of workflows detecting rare circulating cell-free DNA targets: A study design proposal. *PLoS ONE* 16(7): e0253401.

253. Veldore VH, Choughule A, Routhu T, Mandloi N, Noronha V, Joshi A, Dutt A, Gupta R, Vedam R, Prabhash K. Validation of liquid biopsy: plasma cell-free DNA testing in clinical management of advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer (Auckl)*. 2018; 9:1-11.

254. Prepare for successful biomarker profiling from cell-free DNA, Preanalytical considerations , QIAGEN, Hilden, Germany 09/2023.

255. González de Aledo-Castillo JM, Arcocha A, Victoria I, Martínez-Puchol AI, Sánchez C, Jares P, Rodríguez GF, Viñolas N, Reyes R, Reguart N, Puig-Butillé JA. Molecular characterization of advanced non-small cell lung cancer patients by cfDNA analysis: experience from routine laboratory practice. *J Thorac Dis*. 2021 Mar;13(3):1658-1670.

256. Mazurek AM, Rutkowski T, Fiszer-Kierzkowska A, Malusecka E, Skłodowski K. Assessment of the total cfDNA and HPV16/18 detection in plasma samples of head and neck squamous cell carcinoma patients. *Oral Oncol*. 2016 Mar et 54:36-41.

257. Tissot C, Toffart AC, Villar S, Souquet PJ, Merle P, Moro-Sibilot D, Pérol M, Zavadil J, Brambilla C, Olivier M, Couraud S. Circulating free DNA concentration is an independent prognostic biomarker in lung cancer. *Eur Respir J*. 2015 Dec;46(6):1773-80.

258. Wang N, Zhang X, Wang F, Zhang M, Sun B, Yin W, Deng S, Wan Y, Lu W. The Diagnostic Accuracy of Liquid Biopsy in EGFR-Mutated NSCLC: A Systematic Review and Meta-Analysis of 40 Studies. *SLAS Technol*. 2021 Feb;26(1):42-54.

259. Sacher AG, Paweletz C, Dahlberg SE, Alden RS, O'Connell A, Feeney N, Mach SL, Jänne PA, Oxnard GR. Prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2016 Aug 1;2(8):1014-22.

260. Zhang YL, Yuan JQ, Wang KF, Fu XH, Han XR, Threapleton D, Yang ZY, Mao C, Tang JL. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2016 Nov 29;7(48):78985-78993.

261. Roldan Ruiz J, Fuentes Gago MG, Chinchilla Tabora LM, Gonzalez Morais I, Sayagues JM, Abad Hernández M, Cordovilla Pérez MR, Ludeña de la Cruz MD, Del Barco Morillo E, Rodriguez Gonzalez M. The Impact of Liquid Biopsies Positive for EGFR Mutations on Overall Survival in Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Diagnostics (Basel)*. 2023 Jul 12;13(14):2347.
262. Sakai K, Horiike A, Irwin DL, Kudo K, Fujita Y, Tanimoto A, Sakatani T, Saito R, Kaburaki K, Yanagitani N, Ohyanagi F, Nishio M, Nishio K. Detection of epidermal growth factor receptor T790M mutation in plasma DNA from patients refractory to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *Cancer Sci*. 2013 Sep;104(9):1198-204.
263. Sueoka-Aragane N, Katakami N, Satouchi M, Yokota S, Aoe K, Iwanaga K, Otsuka K, Morita S, Kimura S, Negoro S et Group., Hanshin-Saga Collaborative Cancer Study. Monitoring EGFR T790M with plasma DNA from lung cancer patients in a prospective observational study. *Cancer Sci*. 2016 Feb;107(2):162-7.
264. Douillard JY, Ostoros G, Cobo M, Ciuleanu T, Cole R, McWalter G, Walker J, Dearden S, Webster A, Milenkova T, McCormack R. Gefitinib treatment in EGFR mutated caucasian NSCLC: circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status. *J Thorac Oncol*. 2014 Sep;9(9):1345-53.
265. Lahmadi M, Beddar L, Rouibah AL, Boumegoura A, Boufendi H, Temim A, Nini A, Sellam F, Satta D. Analysis of EGFR Mutation Status in Algerian Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2021 Apr 1 et 22(4):1063-1068.
266. Mraih Z., Ben Amar J., Bouacha H., Rammeh S., Hila L. EGFR mutation status in Tunisian non-small-cell lung cancer patients evaluated by mutation-specific immunohistochemistry. *BMC Pulm Med* (2018) 18, 132.
267. Kaanane H., El Attar H., Louahabbi A., et al. Targeted methods for molecular characterization of EGFR mutational profile in lung cancer Moroccan cohort. *Journal of Thoracic Oncology* September 2018. 13(9):S173-S174
268. David C.L. Lam, Terence C.C. Tam, Kenneth M.K. Lau, Wai-Mui Wong, Christopher K.M. Hui, Jamie C.M. Lam, Julie K.L. Wang, Macy M.S. Lui, James C.M. Ho, Mary S.M. Ip, Plasma EGFR Mutation Detection Associated With Survival Outcomes in Advanced-Stage Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2015 et 10.1016/j.clc.2015.06.003., 16(6):507-513.
269. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, Fong KM, Lee H, Toyooka S, Shimizu N, Fujisawa T, Feng Z, Roth JA, Herz J, Minna JD, Gazdar AF. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Mar 2;97(5):339-46.

**270. Pujol J.L., Quantin X. , Chakra M., Fayolle V.: Délais entre la suspicion et le traitement du cancer du poumon : facteurs techniques et psychologiques ralentissant les procédures. La Lettre du Pneumologue septembre-octobre 2010. • Vol. XIII - n°5**

**271. Olsson JK, Schultz EM, Gould MK. Timeliness of care in patients with lung cancer: a systematic review. Thorax 2009 et 64:749-56.**

**272. Leveque. N, Brouchet .L, Lepage. B, Hermant .C, Bigay-Game. L, G. Plat, M. Dahan, D. Riviere, A. Didier, J. Mazieres,. Analyse des délais de prise en charge des cancers thoraciques : étude prospective. Revue des Maladies Respiratoires, 2014. 31(3): p. 208-213.**

**273. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018 et 378(2):113-125.**

**274. Xu J, Zhang X, Yang H, Ding G, Jin B, Lou Y, Zhang Y, Wang H, Han B. Comparison of outcomes of tyrosine kinase inhibitor in first- or second-line therapy for advanced non-small-cell lung cancer patients with sensitive EGFR mutations. Oncotarget. 2016 Oct 18;7(42):68442-68448.**

**275. Noronha V, Menon NS, Patil VM, Chandrakanth MV, More S, Dhanawat A, Chowdhary OR, Singh AC, Goud S, Shah S, Karuvandan N, Jobanputra KN, Shah DK, Shah MJ, Sarma R, Patel D, Joarder R, Kumar P, John A, Kaur J, Bagra S, Purandare N, Janu A, Mahajan A, Prabh. A Comparative Study Evaluating the Quality of Life and Survival Outcomes in Patients Receiving Chemotherapy Versus Oral Tyrosine Kinase Inhibitor in the Third Line and Beyond Setting for Advanced NSCLC. JTO Clin Res Rep. 2023 Dec 18;5(1):100622.**

**276. Liang W, Wu X, Fang W, Zhao Y, Yang Y, Hu Z, Xue C, Zhang J, Zhang J, Ma Y, Zhou T, Yan Y, Hou X, Qin T, Dinglin X, Tian Y, Huang P, Huang Y, Zhao H, Zhang L. Network meta-analysis of erlotinib, gefitinib, afatinib and icotinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring EGFR mutations. PLoS One. 2014 Feb 12;9(2):e85245.**

**277. National Institute for Health and Care Excellence (NICE), Plasma EGFR mutation tests for adults with locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer, Medtech Innovation Briefing, 18 January 2018.**

**278. Therascreen® EGFR Plasma RGQ PCR Kit Instructions for Use, Qiagen®, October 2019.**

## E. Annexes

# Annexe I

## Demande de Recherche de Mutation de l'EGFR sur Biopsie Liquide

Séti le :...../...../.....

### Identification du patient

Nom : ..... Prénom : ..... N°dossier :.....

Date de naissance/Age : ..... Sexe :  Masculin  Féminin

Adresse : .....

Tel..... Profession :.....

Antécédents Médico-chirurgicaux :.....

.....

### Renseignement sur la maladie

1) Patient atteint d'un cancer bronchique non à petites cellules :  oui  non

2) Date de diagnostic (Anapath) : .....

3) Type histologique : .....

4) Stade de la maladie au moment du diagnostic : ..... T N M

5) Stade de la maladie actuellement : ..... T N M

Maladie polymétastatique  Maladie oligométastatique

Localisation de (s) métastase (s):.....

6) PS –OMS actuel (0 à 4): .....

7) Tabagisme :  Fumeur (précisez Nb paquet par an : ..... )  Non fumeur

- Si antécédent tabagique : Date début : ..... Date d'arrêt .....

Durée : .....

- Tabagisme passif :  Oui  Non

8) Recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie tissulaire :

-Si Recherche faite : Résultats :.....

.....

-Date demande du testing .....Date d'obtention du résultat.....

-Biopsie faite sur :  tumeur primitive  métastases  ganglions

-Si tumeur primitive :  par ou fibroscopie ou  Biopsie transpariétale

-Si Recherche non faite , Motif :

Absence de demande de la part du médecin  Testing non disponible

Biopsie tissulaire non effectué  Biopsie tissulaire (Bloc) non disponible

Bloque tissulaire inexploitable Autres : .....

Traitement anticancéreux déjà reçu et/ou actuel :					
Protocole produits *	et	Date 1 <sup>ère</sup> cure	Nb de cures	Date dernière cure	Motifs d'arrêt**
1 <sup>ère</sup> ligne					<input type="checkbox"/> Toxicité <input type="checkbox"/> Limite de Nb de cures possibles <input type="checkbox"/> Progression <input type="checkbox"/> Rupture de produit(s) <input type="checkbox"/> Identification d'EGFR muté -Autres : .....
2 <sup>ème</sup> ligne					<input type="checkbox"/> Toxicité <input type="checkbox"/> Limite de Nb de cures possibles <input type="checkbox"/> Progression <input type="checkbox"/> Rupture de produit(s) <input type="checkbox"/> Identification d'EGFR muté -Autres : .....
3 <sup>ème</sup> ligne					<input type="checkbox"/> Toxicité <input type="checkbox"/> Limite de Nb de cures possibles <input type="checkbox"/> Progression <input type="checkbox"/> Rupture de produit(s) <input type="checkbox"/> Identification d'EGFR muté -Autres : .....
Traitement Actuel					

\* : préciser la molécule et la durée de traitement de maintenance à part  
 \*\* : si possible préciser les dates  
**NB : mentionner, si radiothérapie et/ou chirurgie.**

Nom du médecin traitant: .....

Etablissement/ service : .....

Tél : .....E-mail .....

**Date et heure de prélèvement : le...../...../..... à .....H.....**

**Type de recherche** : -Recherche des mutations de l'EGFR (exons 18 à 21)

- Recherche de mutation de résistance T790M

- Si que mutation T790M : Malade en progression Monitoring

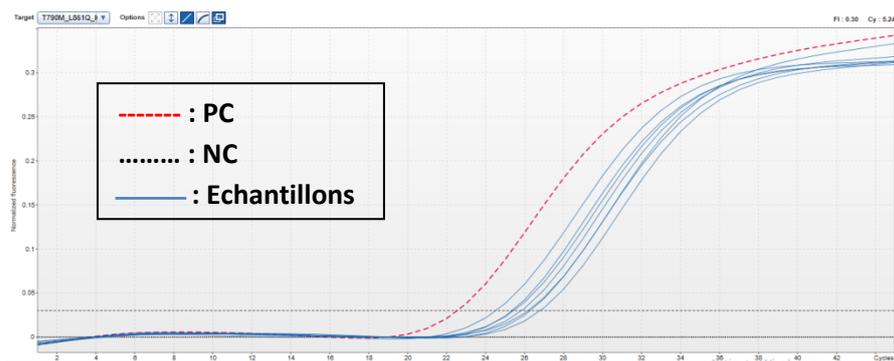
**Signature**

## Annexe II

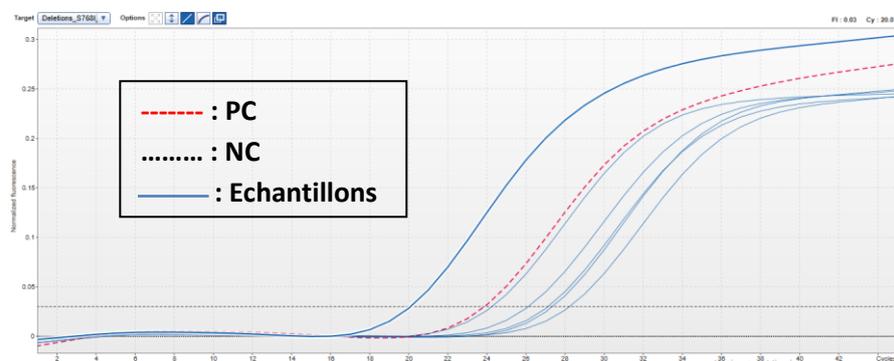
### Fiche technique d'extraction d'ADNc et de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide par qPCR

N°/Code : .....	
Nom : .....	
Prénom : .....	
Date de prélèvement : .....	Heure : .....
Nombre de tube : .....	
Heure de séparation plasmatique : ..... Délai calculé: .....	
Volume plasmatique (ml) : .....	
Aspect du plasma récupéré : .....	
Conservation du plasma : <input type="checkbox"/> OUI	<input type="checkbox"/> NON
Si oui : <input type="checkbox"/> à -20°C	<input type="checkbox"/> à -80°C
Durée de conservation du plasma en jour : .....	
Date d'extraction : .....	
Volume de l'extrait (ul) : .....	
Concentration finale de l'extrait d'ADNc (ng/ul) : .....	
Conservation de l'extrait : <input type="checkbox"/> OUI	<input type="checkbox"/> NON
Si OUI : <input type="checkbox"/> à -20°C	<input type="checkbox"/> à -80°C
Durée de conservation de l'extrait en jour : .....	
Nombre de cycle congélation-décongélation de l'extrait : .....	
Date PCR : .....	
Ct du Contrôle Interne du PC : .....	
Ct du Contrôle Interne de l'échantillon : .....	
Résultat échantillon : <input type="checkbox"/> EGFR muté	<input type="checkbox"/> Non muté
Si muté, type de mutation : .....	
Ct mutation échantillon : .....	
Ct mutation PC : .....	

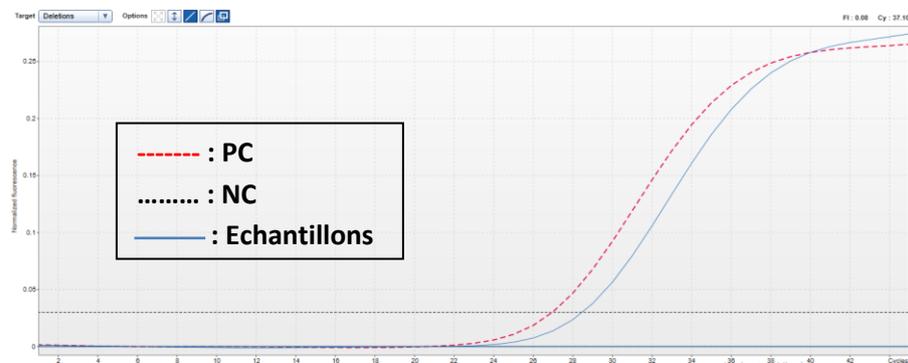
## Annexe III



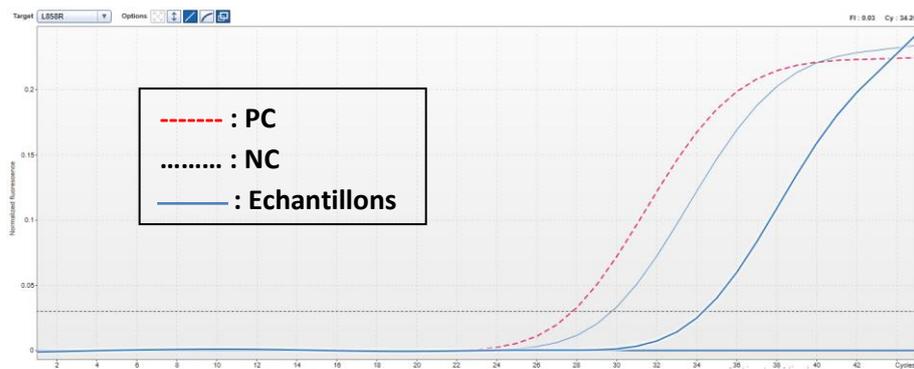
### Contrôles Internes PC et échantillons valides



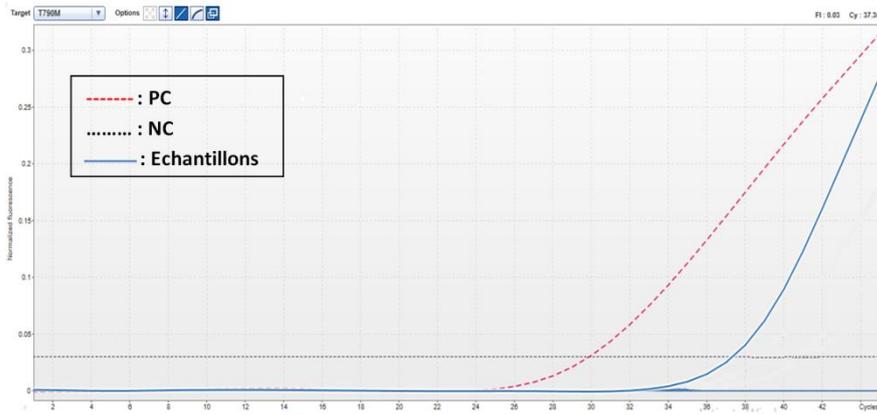
### Contrôle Interne invalide pour un seul échantillon



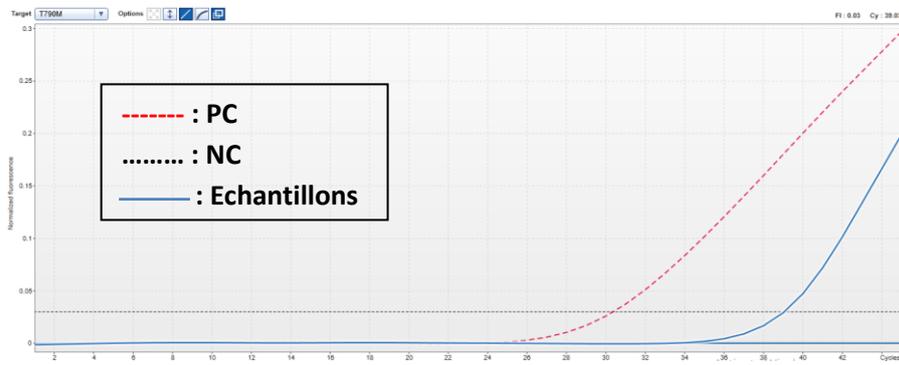
### Résultat PCR : EGFR muté, présence de Délétion 19



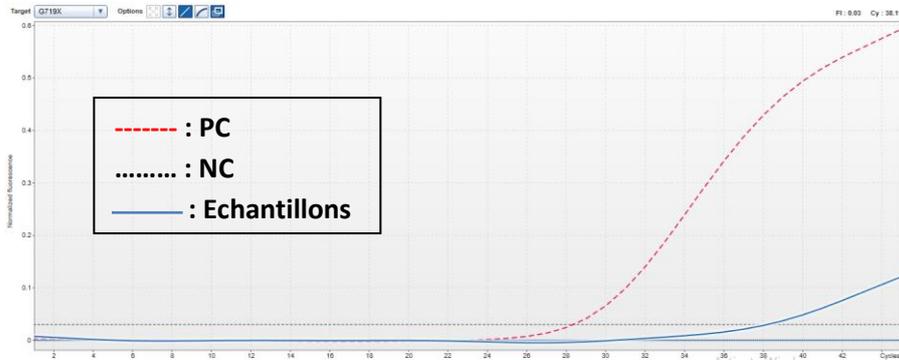
### Résultat PCR: EGFR muté, présence de la mutation L858R.



**Résultat PCR : Présence de la Mutation T790M de l'EGFR**



**Résultat PCR : suspicion de présence de la mutation T790M**



**Résultat PCR : suspicion de présence de la mutation G719X.**

## Annexe IV

### Run control validity criteria

Fluorescence channel	EGFR Reaction Mix	Positive Control (PC) C <sub>t</sub> validity range	No template control (NTC) C <sub>t</sub> validity criteria	
Green (FAM)	T790M & L861Q	25.74; 32.74	No amplification	
	Insertions & G719X	25.06; 32.06		
	L858R & C797S	23.49; 30.49		
	Deletions & S768I	26.15; 33.98		
Red (CFR <sub>610</sub> )	T790M & L861Q	21.30; 28.30		
	Insertions & G719X	24.56; 32.38		
	L858R & C797S	22.88; 29.88		
	Deletions & S768I	24.26; 31.86		
Yellow (HEX)	T790M & L861Q	19.89; 26.89		>40.00 or no amplification
	Insertions & G719X			
	L858R & C797S			
	Deletions & S768I			

Valeurs de référence des PC (contrôle positif) et NTC (contrôle négatif).

### Validity criteria for exon 2 Internal Control (IC) in plasma samples

Fluorescence channel	EGFR reaction mix	Plasma sample C <sub>t</sub> validity range
Yellow (HEX)	T790M & L861Q	22.10; 31.18
	Insertions & G719X	
	L858R & C797S	
	Deletions & S768I	

Valeurs de référence des Contrôles internes des échantillons.

### Estimated limit of detection of each EGFR target in plasma samples

Fluorescence channel	EGFR reaction mix	Target	Estimated limit of detection (C <sub>t</sub> )
Green (FAM)	T790M & L861Q	T790M	38.53
	Insertions & G719X	Insertions	36.59
	L858R & C797S	L858R	36.72
	Deletions & S768I	Deletions	40.00
Red (CFR <sub>610</sub> )	T790M & L861Q	L861Q	34.81
	Insertions & G719X	G719X	40.00
	L858R & C797S	C797S	34.96
	Deletions & S768I	S768I	40.00

Ct limite pour chaque type de mutation pour les échantillons à tester

## Annexe V

### Modèle de Compte rendu de résultat de recherche des mutations de l'EGFR



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOPULAIRE  
Ministère de la santé, de La Population et de la Réforme Hospitalière  
Direction de la Santé et de la Population de la wilaya de Sétif  
Etablissement Hospitalier Spécialisé  
Centre de lutte contre le cancer de Sétif  
Mokhtari Abdelghani  
Service du laboratoire central

#### Résultat d'examen de biologie moléculaire Recherche des mutations du gène **EGFR** Sur **prélèvement sanguin** (biopsie liquide)

Nom et prénom : HAM  
Age : 60 ans  
Sexe : Femme  
N/ dossier : 7 /20  
Service : oncologie médicale CAC Sétif  
Médecin demandeur :Dr R.

ID : 43/EGFR/LB/24  
Date du Prélèvement : 04-12-2024  
Heure du Prélèvement : 09H01  
Résultat édité le : 11-12-2024

Mutations recherchées : mutations de l'EGFR (exons 18 à 21)

Echantillon : sang total-tube EDTA : 16ml  
Volume plasma utilisé : 6ml  
Kit d' extraction : KIT QIAamp\* MinElute ccfDNA

Technique de détection : PCR en temps réel sur ROTOR-GENE Q .  
KIT de détection :Therascreen\* EGFR Plus RGQ,Recherche de mutations EGFR sur ADN circulant (cfDNA) : 42 mutations sur exons 18,19, 20 et 21.

Conclusion :  
**Absence de Mutations de l'EGFR sur biopsie liquide (cfDNA):A confirmer par recherche sur tissu.**



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOPULAIRE  
Ministère de la santé, de La Population et de la Réforme Hospitalière  
Direction de la Santé et de la Population de la wilaya de Sétif  
Etablissement Hospitalier Spécialisé  
Centre de lutte contre le cancer de Sétif  
Mokhtari Abdelghani  
Service du laboratoire central

#### Résultat d'examen de biologie moléculaire Recherche des mutations du gène **EGFR** Sur **prélèvement sanguin** (biopsie liquide)

Nom et prénom : HAR  
Age : 66 ans  
Sexe : femme  
N/ dossier : 14 /24  
Service : oncologie médicale CAC Sétif  
Médecin demandeur :Dr R.

ID : 44/EGFR/LB/24  
Date du Prélèvement : 04-12-2024  
Heure du Prélèvement : 11H00  
Résultat édité le : 11-12-2024

Mutations recherchées : mutations de l'EGFR (exons 18 à 21)

Echantillon : sang total-tube EDTA : 16ml  
Volume plasma utilisé : 6ml  
Kit d' extraction : KIT QIAamp\* MinElute ccfDNA

Technique de détection : PCR en temps réel sur ROTOR-GENE Q .  
KIT de détection :Therascreen\* EGFR Plus RGQ,Recherche de mutations EGFR sur ADN circulant (cfDNA) : 42 mutations sur exons 18,19, 20 et 21.

Conclusion :  
**EGFR Muté sur biopsie liquide (cfDNA): Présence de la Délétion 19. Patient candidat à un TKI (1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> ou bien 3<sup>ème</sup> génération) .**

## Annexe VI

### PERFORMANCE STATUS (OMS)

<b>score</b>	<b>Activité</b>
<b>0</b>	Capable d'une activité identique à celle précédant la maladie.
<b>1</b>	Activité physique diminuée mais malade ambulatoire et capable de mener un travail.
<b>2</b>	Malade ambulatoire et capable de prendre soins de lui-même mais incapable de travailler. Alité ou en chaise moins de 50 % de son temps de veille.
<b>3</b>	Capable seulement de quelques soins, alité ou en chaise de plus de 50 % de son temps de veille.
<b>4</b>	Incapable de prendre soin de lui-même, alité ou en chaise en permanence



## Résumé

### Introduction

La recherche des mutations de l'EGFR constitue un prérequis essentiel dans la prise en charge du CBNPC aux stades avancés. L'identification de mutations activatrices ou de résistance permet aux patients porteurs de ces altérations de bénéficier de thérapie ciblée à base de TKI anti-EGFR. La biopsie liquide, en tant que méthode non invasive, permet de surmonter certaines limites de la biopsie tissulaire, notamment en cas d'échantillons insuffisants ou de mauvaise qualité, ou encore pour le suivi évolutif de la maladie. C'est dans ce contexte que notre étude a été menée, avec pour objectif de rechercher les différentes mutations de l'EGFR à partir de biopsies liquides chez des patients atteints de CBNPC à un stade avancé, afin de guider le clinicien dans le choix thérapeutique.

**Matériel et Méthode :** L'analyse des mutations de l'EGFR a été réalisée par qPCR chez 70 patients atteints de CBNPC aux stades III et IV. Parmi eux, huit patients présentaient une progression sous traitement par TKI, motivant une recherche spécifique de la mutation de résistance T790M.

**Résultats :** Parmi les 70 patients, 50 % ne disposaient pas de statut EGFR sur tissu pour diverses raisons (échantillon non contributif, absence de matériel, etc.), et aucun n'avait bénéficié d'une recherche de la mutation T790M sur tissu.

Parmi les 62 patients chez qui une recherche de mutations activatrices (exons 18 à 21) a été réalisée, 19 (30,6 %) présentaient une mutation EGFR, dont 11 sans statut EGFR disponible sur tissu. Les mutations détectées étaient majoritairement des délétions de l'exon 19 (79 %) et, dans une moindre mesure, la mutation L858R (21 %).

Concernant la mutation de résistance T790M, un seul des huit patients évalués présentait cette mutation.

Deux cas de faux négatifs ont été observés, avec des mutations identifiées sur tissu mais non retrouvées sur plasma. Le taux de concordance entre les résultats tissulaires et plasmatiques était de **94,29 %**, avec une **sensibilité de 88,89 %** et une **spécificité de 100 %**.

L'analyse moléculaire sur biopsie liquide a permis à 18 patients de bénéficier d'un traitement par TKI, dont 10 en première ligne. Elle a également permis d'envisager avec certitude l'immunothérapie chez les patients non mutés pour l'EGFR.

**Conclusion :** La biopsie liquide représente un véritable complément, voire une alternative dans certains cas, à l'analyse tissulaire pour la détection des mutations de l'EGFR dans le CBNPC. Elle permet une évaluation moléculaire fiable, rapide et moins invasive, contribuant ainsi à une prise en charge personnalisée et optimisée des patients. Ces résultats soutiennent la nécessité de sa généralisation dans la pratique clinique

**Mots clés :** Biopsie liquide, Mutations de l'EGFR, CBNPC, TKI

## **Abstract**

### **Introduction**

The detection of EGFR mutations is an essential prerequisite in the management of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). Identifying activating or resistance mutations enables patients harboring these alterations to benefit from anti-EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Liquid biopsy, as a non-invasive method, helps overcome several limitations of tissue biopsy, particularly when tissue samples are insufficient, of poor quality, or when monitoring disease progression. In this context, our study aimed to identify EGFR mutations using liquid biopsy in patients with advanced NSCLC, in order to guide therapeutic decision-making.

**Materials and Methods:** EGFR mutation analysis was performed by qPCR in 70 patients with stage III or IV NSCLC. Among them, eight patients had experienced disease progression while on TKI therapy, prompting a specific search for the T790M resistance mutation.

**Results:** Among the 70 patients, 50% did not have available tissue-based EGFR status for various reasons (non-contributory samples, lack of material, etc.), and none had undergone tissue testing for the T790M mutation.

Of the 62 patients tested for activating mutations (exons 18 to 21), 19 (30.6%) were EGFR-mutated, including 11 patients without a known tissue EGFR status. The mutations detected were predominantly exon 19 deletions (79%), followed by the L858R mutation (21%).

Regarding the T790M resistance mutation, only one of the eight evaluated patients tested positive.

Two false-negative cases were observed, where EGFR mutations were detected on tissue but not on plasma. The concordance rate between tissue and plasma testing was 94.29%, with a sensitivity of 88.89% and a specificity of 100%.

Liquid biopsy-based molecular analysis enabled 18 patients to receive TKI therapy, including 10 in the first-line setting. It also allowed immunotherapy to be confidently considered in EGFR wild-type patients.

### **Conclusion:**

Liquid biopsy represents a valuable complement, and in some cases an alternative, to tissue biopsy for the detection of EGFR mutations in NSCLC. It offers a reliable, rapid, and minimally invasive molecular evaluation, contributing to a more personalized and optimized patient management. These findings support the need for broader implementation of liquid biopsy in clinical practice.

**Keywords:** Liquid biopsy, EGFR mutations, NSCLC, TKI

## الملخص

### المقدمة

تُعدّ دراسة الطفرات في جين EGFR خطوة أساسية في علاج سرطان الرئة غير صغير الخلايا (NSCLC) في مراحله المتقدمة. إذ تتيح معرفة الطفرات المنشّطة أو المقاومة إمكانية استفادة المرضى الحاملين لها من مثبطات التيروسين كيناز TKI anti-EGFR. وتُعدّ الخزعة السائلة، باعتبارها تقنية غير باضعة، وسيلة فعالة لتجاوز بعض قيود الخزعة النسيجية، خاصة في حال عدم كفاية العينات أو تدنّي جودتها، أو لمتابعة تطور المرض. وفي هذا السياق، تم إجراء دراستنا بهدف البحث عن الطفرات المختلفة في جين EGFR اعتمادًا على الخزعات السائلة لدى مرضى مصابين بـ NSCLC في مراحل متقدمة، لتوجيه الأطباء في اتخاذ القرار العلاجي المناسب.

### المواد والطريقة:

تم إجراء تحليل طفرات EGFR باستخدام تقنية qPCR لدى 70 مريضًا مصابًا بسرطان الرئة غير صغير الخلايا في المرحلتين III و IV. من بين هؤلاء، كان 8 مرضى قد أظهروا تقدمًا في المرض تحت العلاج بمثبطات TKI، مما استدعى البحث عن طفرة المقاومة T790M تحديدًا.

### النتائج:

من بين 70 مريضًا، لم يكن لدى 50% منهم حالة EGFR معروفة من خلال الخزعة النسيجية لأسباب متعددة (عينة غير كافية، غياب المادة الوراثية، وغيرها)، ولم يخضع أي منهم لتحليل طفرة T790M على النسيج. من بين 62 مريضًا خضعوا لتحليل الطفرات المنشّطة (في الإكسونات 18 إلى 21)، وُجد أن 19 مريضًا (30.6%) يحملون طفرة في EGFR، منهم 11 مريضًا لم يكن لديهم حالة EGFR معروفة من خلال النسيج. كانت معظم الطفرات المكتشفة عبارة عن حذف في الإكسون 19 بنسبة 79%، تليها طفرة L858R بنسبة 21%.

أما طفرة المقاومة T790M، فقد تم اكتشافها لدى مريض واحد فقط من أصل 8 مرضى خضعوا للتحليل. تم تسجيل حالتين من النتائج السلبية الخاطئة، حيث تم اكتشاف الطفرة على النسيج ولم تُكتشف على البلازما. بلغت نسبة التوافق بين نتائج الخزعة النسيجية والسائلة 94.29%، مع حساسية بلغت 88.89% ونوعية 100%.

وقد سمحت الخزعة السائلة بتمكين 18 مريضًا من الحصول على علاج بمثبطات TKI، منهم 10 مرضى تلقوه في الخط العلاجي الأول. كما ساعدت نتائج التحليل أيضًا في اتخاذ قرار مؤكد بخصوص العلاج المناعي لدى المرضى غير الحاملين لطفرات EGFR.

### الخلاصة:

تُعدّ الخزعة السائلة مكملاً حقيقيًا، بل وبدليًا في بعض الحالات، عن التحليل النسيجي للكشف عن طفرات EGFR في سرطان الرئة غير صغير الخلايا. وتوفر تقييمًا جزيئيًا موثوقًا وسريعًا وأقلّ بضعة، مما يسهم في تحسين تدبير المرضى بطريقة شخصية ومثلى. تدعم هذه النتائج ضرورة تعميم استخدام الخزعة السائلة في الممارسة السريرية.

**الكلمات المفتاحية:** الخزعة السائلة، طفرات EGFR، سرطان الرئة غير صغير الخلايا، مثبطات التيروسين كيناز (TKI)