

RECHERCHE DE DÉFICIT EN DIHYDROPYRIMIDINE DÉSHYDROGÉNASE EN VUE DE PRÉVENIR CERTAINES TOXICITÉS SÉVÈRES SURVENANT SOUS TRAITEMENT COMPORTANT DES FLUOROPYRIMIDINES

L'Institut national du cancer (INCa) est l'agence d'expertise sanitaire et scientifique en cancérologie chargée de coordonner la lutte contre les cancers en France.

La Haute Autorité de santé (HAS) est une autorité publique indépendante à caractère scientifique dont l'une des missions est de formuler des avis relatifs à la prise en charge financière par l'Assurance maladie des actes professionnels, incluant les examens de biologie médicale.

Ce document doit être cité comme suit : © Recherche de déficit en dihydropyrimidine déshydrogenase en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines (5-fluorouracile), Recommandations et référentiels, INCa, HAS, décembre 2018.

Ce document est publié par l'Institut national du cancer et la Haute Autorité de santé qui en détiennent les droits. Les informations figurant dans ce document peuvent être réutilisées dès lors que : (1) leur réutilisation entre dans le champ d'application de la loi N°78-753 du 17 juillet 1978 ; (2) ces informations ne sont pas altérées et leur sens dénaturé ; (3) leur source et la date de leur dernière mise à jour sont mentionnées.

Ce document est téléchargeable sur e-cancer.fr et has-sante.fr

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS.....	5
RÉSUMÉ.....	7
CONTEXTE	8
ARGUMENTAIRE.....	9
GÉNOTYPAGE	10
PHÉNOTYPAGE	11
APPROCHE COMBINANT PHÉNOTYPAGE ET GÉNOTYPAGE	11
RECOMMANDATIONS	12
ARGUMENTAIRE	13
CONTEXTE DE LA DEMANDE ET PRINCIPAUX OBJECTIFS	14
1. SAISINE DE L'INSTITUT NATIONAL DU CANCER	14
2. AUTOSAISINE DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ	15
3. PRINCIPAUX OBJECTIFS DE L'EXPERTISE	15
GÉNÉRALITÉS SUR LES TOXICITÉS SÉVÈRES DES FLUOROPYRIMIDINES ET LES DÉFICITS EN DPD	16
1. LES FLUOROPYRIMIDINES.....	16
1.1. Indications en cancérologie	16
1.2. Nombre de patients	17
1.3. Toxicités	17
1.4. Vistogard® : antidote aux intoxications par le 5-FU	19
2. LA DPD.....	20
2.1. Implication des déficits en DPD dans certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines	20
2.2. Principales méthodes disponibles pour rechercher un déficit en DPD	22
2.2.1. Génotypage.....	22
2.2.2. Phénotypage	23
2.2.3. Méthodes combinées	25
2.3. Adaptation du traitement en fonction du niveau de déficit en DPD.....	26
2.4. État des lieux de la recherche des déficits en DPD en France	26
3. ASPECTS RÉGLEMENTAIRES.....	27
4. RECOMMANDATIONS PROFESSIONNELLES DISPONIBLES.....	28
4.1. RBP de sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie	28
4.2. RBP de sociétés savantes en oncologie.....	30
MÉTHODE D'ÉLABORATION DES RECOMMANDATIONS	31
1. RECHERCHE ET SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUES	31
2. CONSTITUTION DU GROUPE DE TRAVAIL	32
3. AUDITION	33
4. CONSTRUCTION DE L'ARGUMENTAIRE	33
5. RELECTURE NATIONALE.....	34
6. VALIDATION DE LA VERSION FINALE DES RECOMMANDATIONS	34

ÉVALUATION DES MÉTHODES DISPONIBLES POUR RECHERCHER UN DÉFICIT EN DPD ET ÉVITER CERTAINES TOXICITÉS SÉVÈRES SOUS FLUOROPYRIMIDINES	35
1. PRÉAMBULE	35
1.1. Éléments de consensus préalables à l'élaboration de ces recommandations	35
1.2. Éléments généraux relatifs aux données de la littérature actuellement disponibles	36
2. GÉNOTYPAGE <i>DPYD</i>	37
2.1. Capacité du génotypage <i>DPYD</i> à prédire la survenue de certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines	38
2.2. Utilité clinique du génotypage <i>DPYD</i>	42
2.3. Synthèse concernant le génotypage <i>DPYD</i>	44
3. PHÉNOTYPAGE DPD.....	45
3.1. Capacité à prédire la survenue de certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines et utilité clinique du phénotypage DPD	45
3.1.1. Ratio UH2/U	45
3.1.2. Uracilémie	48
3.2. Synthèse concernant le phénotypage DPD	50
4. APPROCHES COMBINÉES GÉNOTYPAGE-PHÉNOTYPAGE	52
4.1. Capacité des approches combinées génotypage-phénotypage à prédire certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines	52
4.2. Utilité clinique	53
4.3. Approche multiparamétrique de la société ODPM.....	53
4.4. Avis des experts du groupe de travail	54
4.5. Synthèse concernant l'approche combinée.....	55
5. CONCLUSION	56
PROPOSITIONS DE MODALITÉS DE MISE EN ŒUVRE DE LA MESURE DE L'URACILÉMIE POUR IDENTIFIER LES PATIENTS DÉFICITAIRES EN DPD AVANT TRAITEMENT PAR FLUOROPYRIMIDINES.....	57
1. PRÉAMBULE.....	57
2. PROPOSITIONS DE MODALITÉS D'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS D'URACILÉMIE ET D'AJUSTEMENT THÉRAPEUTIQUE SUR LA BASE DE CES RÉSULTATS.....	58
2.1. Propositions de seuils d'interprétation de l'uracilémie	58
2.1.1. Diagnostic de déficit complet	58
2.1.2. Diagnostic de déficit partiel	59
2.2. Propositions de modalités d'ajustement thérapeutique sur la base des résultats d'uracilémie	60
2.2.1. Chez le patient diagnostiqué déficitaire complet en DPD	60
2.2.2. Chez le patient diagnostiqué déficitaire partiel en DPD	60
2.3. Synthèse.....	61
3. CONTRAINTES ORGANISATIONNELLES.....	62
3.1. Conditions pré-analytiques	62
3.2. Respect d'un délai de rendu de résultats inférieur à sept-dix jours.....	63
CONCLUSIONS GÉNÉRALES - PERSPECTIVES	64
ANNEXES	67
ANNEXE 1. LISTE DES PERSONNES AYANT PARTICIPÉ À L'ÉLABORATION DES PRÉSENTES RECOMMANDATIONS.....	68
ANNEXE 2. MÉTHODOLOGIE UTILISÉE POUR L'ÉLABORATION DU CORPUS BIBLIOGRAPHIQUE.....	70
ANNEXE 3. LISTE DES SITES INTERNET CONSULTÉS POUR LA RECHERCHE DES RBP ET HTA	73
ANNEXE 4. TABLEAUX D'ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	77
ANNEXE 5. LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES.....	95
ANNEXE 6. LISTE DES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	96

ABRÉVIATIONS

- **5-FU** : 5-fluorouracile
- **ABM** : Agence de la biomédecine
- **AMM** : autorisation de mise sur le marché
- **ANSM** : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
- **ATIH** : Agence technique de l'information sur l'hospitalisation
- **ATU** : autorisation temporaire d'utilisation
- **CHMP** : *Committee for medicinal products for human use*
- **CQE** : contrôle de qualité externe
- **CTCAE** : *Common Terminology Criteria for Adverse Events*
- **DGOS** : Direction générale de l'offre de soins
- **DGS** : Direction générale de la santé
- **DPD** : dihydropyrimidine déshydrogénase
- **EIG** : effet indésirable grave
- **EMA** : *European medicines agency*
- **ESMO** : *European society for medical oncology*
- **FDA** : *Food and drug administration*
- **FP** : fluoropyrimidines
- **GPCO-Unicancer** : Groupe de pharmacologie clinique oncologique d'Unicancer
- **Hz** : hétérozygote
- **HZ** : homozygote
- **INCa** : Institut national du cancer
- **NABM** : nomenclature des actes de biologie médicale
- **NCCN** : *National comprehensive cancer network*
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **OR** : *odd Ratio*
- **PBMC** : *peripheral mononuclear blood cells*
- **PHRC** : programme hospitalier de recherche clinique
- **PMSI** : programme de médicalisation des systèmes d'information
- **PRAC** : Pharmacovigilance risk assessment committee
- **RBP** : recommandation de bonne pratique
- **RCP** : résumés des caractéristiques du produit
- **RIHN** : référentiel des actes innovants hors nomenclature
- **RNPG** : Réseau national de pharmacogénétique
- **RR** : *risk ratio*
- **Se** : sensibilité
- **SNIIRAM** : système national d'information inter-régimes de l'Assurance maladie
- **Sp** : spécificité
- **TNCD** : thésaurus national de cancérologie digestive
- **VPN** : valeur prédictive négative
- **VPP** : valeur prédictive positive

RÉSUMÉ

CONTEXTE

Chaque année, en France, environ 80 000 patients reçoivent une chimiothérapie à base de fluoropyrimidines, anticancéreux cytotoxiques utilisés, seuls ou en combinaison, dans le traitement de différents types de cancer (côlon, voies aérodigestives, sein...). Représentés par le 5-fluorouracile (5-FU) et la capécitabine, prodrogue du 5-FU administrée par voie orale, ces médicaments peuvent induire des toxicités sévères, dont l'incidence est estimée aux alentours de 20-25 %, voire létales, avec une incidence mal connue, comprise entre 0,1 et 1 %. Certaines de ces toxicités sont liées à un déficit d'activité, qui peut être partiel ou complet, de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), enzyme ubiquitaire responsable de l'élimination de plus de 80 % des fluoropyrimidines.

L'objectif de la recherche d'un déficit en DPD est de réduire le risque de toxicités sévères chez les patients concernés en leur proposant un ajustement de la posologie initiale des fluoropyrimidines, sans pour autant impacter l'efficacité du traitement, voire un traitement alternatif en cas de déficit complet.

Néanmoins, indépendamment de l'approche utilisée, toutes les toxicités sévères, parfois létales, ne peuvent être évitées¹ *via* un examen systématique de l'activité fonctionnelle de l'enzyme DPD compte tenu du fait que :

- les déficits en DPD n'expliquent qu'une partie des effets indésirables liés aux fluoropyrimidines ;
- les toxicités apparaissant dans le cadre d'une combinaison de traitements cytotoxiques intégrant une fluoropyrimidine ne peuvent toutes être attribuées spécifiquement à cette molécule.

À l'heure actuelle, un déficit en DPD peut être mis en évidence par la mesure directe ou indirecte de l'activité de l'enzyme (phénotypage DPD) ou par la recherche de variants du gène *DPYD* codant pour l'enzyme DPD (génotypage *DPYD*). Cependant, les publications s'intéressant aux niveaux de performances, sur le plan de la sensibilité et de la valeur prédictive, et à l'utilité clinique de ces deux approches conduisent à des résultats contradictoires, ne permettant pas d'obtenir d'emblée un consensus.

Dans ce contexte général, plusieurs éléments conjoncturels ont conduit à l'élaboration des présentes recommandations :

- les RCP (résumé des caractéristiques du produit) de la capécitabine et des spécialités de 5-FU intègrent, depuis 2017-2018, une contre-indication au traitement chez les patients totalement déficitaires en DPD ainsi que la préconisation d'un ajustement de posologie et d'une surveillance accrue chez les patients partiellement déficitaires ;
- l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) s'est prononcée, le 28 février 2018, en faveur d'une recherche de déficits en DPD avant mise en route d'un traitement comportant des fluoropyrimidines ;
- l'INCa (Institut national du cancer) a été saisi par la DGS (Direction générale de la santé) en vue d'élaborer des recommandations définissant les modalités les plus appropriées pour mettre en œuvre cette recherche ;

¹ Le Vistogard®, antidote aux intoxications par le 5-FU, ne peut constituer une alternative pour gérer ces situations. Outre une mise à disposition difficile en Europe, il doit être prescrit dans les 96 heures suivant la fin de l'administration de la fluoropyrimidine alors que certaines toxicités graves peuvent survenir au-delà de ce délai, si bien que son utilisation se limite très essentiellement aux surdosages accidentels.

- la HAS (Haute Autorité de santé) a décidé de s'autosaisir et de travailler conjointement avec l'INCa afin d'être en mesure de rendre sans délai un avis portant sur l'inscription à la NABM (Nomenclature des actes de biologie médicale) de la méthode retenue.

L'expertise consacrée à la recherche d'un déficit en DPD avant lancement d'un traitement comportant des fluoropyrimidines a été menée en tenant compte de l'analyse critique des données disponibles de la littérature et de la position argumentée d'un panel pluridisciplinaire d'experts réunis par l'INCa et la HAS².

Dans un contexte où il n'existe pas de consensus préalable fort quant à l'existence d'une méthode fiable de recherche des déficits en DPD permettant d'éviter la survenue de toxicités sévères sous traitements comportant des fluoropyrimidines, les éléments suivants ont été retenus, de manière consensuelle, pour servir de fondements conditionnant l'élaboration de ces recommandations.

- La recherche d'un déficit en DPD doit permettre avant tout d'identifier les patients déficitaires complets afin de prévenir, *a minima* et autant que possible, les toxicités les plus graves, en particulier celles pouvant entraîner un décès (toxicités de grades 4 et 5). Il existe en effet une pertinence clinique *a priori* indiscutable à contre-indiquer la prescription d'une fluoropyrimidine chez ces patients, conformément à ce qui est énoncé aujourd'hui au sein des RCP de ces spécialités. La nécessité de disposer d'un test permettant d'identifier ces déficits complets apparaît d'autant plus impérieuse lorsque le traitement est utilisé en adjuvant.
- L'existence de diagnostics faussement positifs de déficit complet n'apparaît pas acceptable. Ce diagnostic étant associé à une contre-indication des fluoropyrimidines, il entraînerait, par conséquent, une perte de chance pour les patients concernés lorsqu'il n'existe pas de traitement alternatif de même efficacité que celui comportant des fluoropyrimidines, en particulier lorsque celui-ci est administré à visée curative.

La recherche des déficits complets en DPD conduira nécessairement à identifier également des patients présentant un déficit partiel en DPD, avec des niveaux de performances ou de validation potentiellement inférieurs. Étant donné le besoin clinique, la recommandation de mise en œuvre d'une méthode de recherche des déficits profonds ne doit pas être retardée par des incertitudes autour des performances de cette même méthode à l'égard de l'identification des déficits partiels.

ARGUMENTAIRE

La constitution du corpus bibliographique a mis en évidence que les études s'intéressant à la recherche d'un déficit en DPD en lien avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines étaient peu nombreuses et généralement de faible niveau de preuve. Par ailleurs, ces études présentent pour la plupart un biais méthodologique car elles incluent généralement des patients recevant des combinaisons de traitements et prennent en compte toutes les toxicités sévères, quel que soit leur moment de survenue, alors que les fluoropyrimidines sont plutôt associées à des toxicités précoces, apparaissant essentiellement lors du premier cycle de traitement. L'analyse méthodologique des données scientifiques se heurte par ailleurs au fait que celles-ci ne distinguent généralement pas les grades de toxicités observées (grades 3, 4 voire 5 confondus), ni les déficits complets des déficits partiels.

² Les experts ont tous renseigné une déclaration d'intérêts dont l'analyse par l'INCa n'a pas mis en évidence de risque de conflit d'intérêt majeur en lien avec l'objet de l'expertise.

GÉNOTYPAGE

Le génotypage *DPYD* repose actuellement sur la recherche de seulement quatre variants, *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T et HapB3, présentant une très faible fréquence en population (de 0,1% à 2,4%) et globalement absents dans les populations d'origine africaine ou asiatique. Les données d'impact fonctionnel montrent qu'ils conduisent à une diminution de l'activité de l'enzyme DPD, complète (*DPYD**2A), quasi complète (*DPYD**13) ou partielle (c.2846A>T, HapB3), lorsque le variant est présent à l'état homozygote.

Dans ce contexte, si l'association entre la présence des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3) semble significative, le niveau de preuve concernant le variant HapB3 est considéré comme insuffisant.

En outre, les seuls patients déficitaires complets pouvant potentiellement être identifiés par ce génotypage sont les porteurs homozygotes des variants *DPYD**2A, voire *DPYD**13. Or, la fréquence de ces variants étant extrêmement faible dans les populations d'origine caucasienne et quasiment nulle dans les autres populations, elle ne peut expliquer qu'un nombre très limité de cas de déficits complets. De plus, en cas d'identification de deux variants différents chez un même patient, le recours au génotypage seul ne permet pas de savoir si ces variants sont portés sur le même allèle ou non et une approche complémentaire par phénotypage de la DPD apparaît donc nécessaire. Ainsi, le génotypage *DPYD*, basé à l'heure actuelle sur la recherche de trois variants (*2A, *13 et c.2846A>T) dont l'association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines apparaît certes prouvée, ne peut pas répondre à l'identification de tous les patients déficitaires complets en DPD, condition considérée comme indispensable pour recommander une méthode de recherche des déficits en DPD.

La recherche d'un déficit partiel en DPD par génotypage, basée sur une recherche combinée des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T, présente une faible sensibilité et, sur la base des données disponibles, une valeur prédictive positive médiocre. En d'autres termes, cette approche ne permet d'identifier qu'une très faible partie des patients présentant un déficit en DPD et peut, en outre, conduire à des diagnostics faussement positifs et à l'administration d'un traitement moins efficace.

Plus de 100 variants au sein du gène *DPYD* ont été décrits jusqu'à présent. Au vu de certaines données *in vitro* et/ou *ex vivo*, il est très probable que d'autres variants fonctionnels existent, entraînant un déficit ou au contraire une activation de l'activité de la DPD. À l'avenir, les performances du génotypage pourront être améliorées par l'identification et la validation d'un plus grand nombre de variants *DPYD* cliniquement pertinents, *via* :

- la réalisation d'un criblage complet du gène *DPYD*, potentiellement restreint aux patients présentant un résultat de phénotypage anormal, avec exploration fonctionnelle (*in silico*, *in vitro* et/ou *ex vivo*) des variants identifiés ;
- la mise en place d'une base de données clinico-biologique nationale répertoriant, en parallèle des résultats de phénotypage, les nouveaux variants *DPYD* identifiés ainsi que le suivi clinique des patients diagnostiqués comme déficitaires en DPD (traitement prescrit, posologie des fluoropyrimidines, toxicités).

PHÉNOTYPAGE

À l'heure actuelle, deux techniques chromatographiques sont principalement utilisées en France pour évaluer l'activité fonctionnelle de l'enzyme DPD par phénotypage : la mesure de l'uracilémie (U) et le calcul du ratio dihydrouracile/uracile (UH2/U).

Si l'association entre ratio UH2/U et toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3) est mal démontrée, avec des données de performances mal établies, elle semble en revanche mieux vérifiée en ce qui concerne l'uracilémie. Les performances prédictives de cette méthode de phénotypage n'apparaissent cependant pas non plus bien connues et sont vraisemblablement faibles. Néanmoins, les experts pharmacologues pratiquant le phénotypage se sont accordés sur le fait que, dans leurs pratiques, les patients déficitaires complets en DPD présentent des valeurs extrêmes de rapport UH2/U et d'uracilémie, sans qu'il existe une valeur seuil établie de façon consensuelle.

D'un point de vue analytique, la mesure du rapport UH2/U semble peu fiable avec la technique actuellement la plus répandue et les valeurs seuils utilisées sont fortement hétérogènes d'un laboratoire à un autre. Pour ces raisons, cette méthode apparaît à ce jour inadaptée à la mise en œuvre d'une recherche systématique des déficits en DPD sur le plan national. Quelle que soit la technique de détection utilisée, la mesure de l'uracilémie semble plus fiable et sa standardisation apparaît réalisable rapidement du fait de l'existence d'un seuil commun de 16 ng/ml permettant d'identifier les déficitaires partiels en DPD et de la mise en place d'un contrôle d'évaluation externe de la qualité.

Un seuil de déficit complet en DPD apparaît intrinsèquement difficile à définir compte tenu de la rareté des patients concernés, ce qui explique probablement, à ce jour, l'absence d'un tel seuil établi à l'issue d'une étude clinique et identifiable dans la littérature. Ce type de seuil apparaît ne pouvoir être proposé que sur la base d'un échantillon considéré comme suffisant de données. Dans ce contexte, les seuils d'uracilémie permettant de distinguer les patients non déficitaires, déficitaires partiels et déficitaires complets ont été objectivés par l'analyse des données d'uracilémie de près de 40 000 patients recueillies auprès de sept laboratoires français pratiquant cette recherche depuis plusieurs années. Ils ont permis d'établir qu'une valeur d'uracilémie supérieure à 150 ng/ml était évocatrice d'un déficit complet en DPD.

APPROCHE COMBINANT PHÉNOTYPAGE ET GÉNOTYPAGE

Les données de la littérature ne permettent pas d'évaluer les performances d'une approche combinée pour identifier les déficits complets en DPD. Néanmoins, les experts pharmacologues, pratiquant conjointement le génotypage et le phénotypage, se sont accordés sur le fait que, dans leurs pratiques, ils n'ont pas rencontré de patients avec un résultat de phénotypage normal alors qu'ils seraient porteurs homozygotes du variant *2A, *13 ou c.2846A>T du gène *DPYD*.

Concernant l'identification des déficits partiels, il n'existe pas à ce jour d'approche combinée pour laquelle les performances, en matière de sensibilité et de valeur prédictive, seraient bien établies et montrées supérieures à celles d'une des méthodes utilisée seule.

Il est à noter, par ailleurs, que la société ODPM commercialise une méthode, dite multiparamétrique, de détection des déficits en DPD et d'aide à l'adaptation posologique des fluoropyrimidines. Il s'agit d'une approche associant phénotypage et génotypage et ayant recours à un algorithme (5-FU^{ODPMTox}) combinant les résultats obtenus avec certaines caractéristiques cliniques du patient et le type de traitement envisagé, en vue de proposer une dose adaptée à chaque patient pour la première cure de

traitement. Les performances de cette méthode revendiquées par la société ODPM ne peuvent être confirmées à ce jour par l'analyse des données publiées et de nouveaux éléments apparaissent nécessaires à cet effet.

RECOMMANDATIONS

Sur la base de l'ensemble des éléments présentés ci-dessus, les recommandations suivantes sont émises :

- Une valeur d'uracilémie ≥ 150 ng/ml est considérée comme évocatrice d'un déficit complet en DPD associé à un risque de toxicité très sévère aux fluoropyrimidines. Le traitement par fluoropyrimidines est alors contre-indiqué. En cas d'absence d'alternative thérapeutique, le recours aux fluoropyrimidines ne peut être envisagé qu'à dose extrêmement réduite et sous surveillance très étroite. Dans ce cas, un suivi thérapeutique pharmacologique (dosage sanguin du médicament) est fortement recommandé.
- Une valeur d'uracilémie ≥ 16 ng/ml et < 150 ng/ml est considérée comme évocatrice d'un déficit partiel en DPD associé à un risque accru de toxicité aux fluoropyrimidines. Sur la base d'un dialogue clinicobiologique, la posologie initiale des fluoropyrimidines doit être adaptée en fonction du niveau d'uracilémie mesuré, du protocole de chimiothérapie envisagé et des critères physiopathologiques du patient. Un réajustement thérapeutique doit être envisagé dès le deuxième cycle de chimiothérapie en fonction de la tolérance au traitement et/ou d'un suivi thérapeutique pharmacologique s'il est disponible.
- La mesure d'uracilémie étant une variable continue, le seuil établi à 150 ng/ml constitue un point de repère. Il est ainsi impératif d'être particulièrement vigilant vis-à-vis des patients dont la mesure d'uracilémie est supérieure à la normale, ce d'autant plus lorsque cette mesure est particulièrement élevée bien qu'inférieure à 150 ng/ml.

Si la mesure de l'uracilémie apparaît techniquement fiable et pouvant être standardisée à court terme, certaines conditions pré-analytiques doivent néanmoins impérativement être respectées pour garantir la fiabilité des résultats :

- utilisation de tubes sans gel séparateur et avec anticoagulant pour réaliser le prélèvement (restriction des horaires de prélèvement non impérative) ;
- délai entre prélèvement et centrifugation de 1h30 si le prélèvement est conservé à température ambiante et de 4h s'il est placé à $+ 4^{\circ}\text{C}$;
- centrifugation de préférence à $+ 4^{\circ}\text{C}$ puis congélation immédiate du plasma obtenu ;
- transport devant respecter la chaîne du froid.

Le non-respect de ces conditions doit conduire à un rendu de non-conformité porté à la connaissance du clinicien dans les meilleurs délais afin qu'un nouveau prélèvement puisse être acheminé au laboratoire rapidement.

Le délai de rendu de résultats, de la prescription du test à la réception du résultat par le clinicien, doit être idéalement de sept jours, et impérativement de dix jours au maximum, pour ne pas induire un risque de retard au lancement du traitement.

Ces recommandations sont susceptibles d'évoluer en fonction de la mise à disposition de nouvelles données jugées de niveau de preuve suffisant pour justifier leur actualisation.

ARGUMENTAIRE

CONTEXTE DE LA DEMANDE ET PRINCIPAUX OBJECTIFS

1. SAISINE DE L'INSTITUT NATIONAL DU CANCER

Les **fluoropyrimidines**, représentées en France par le 5-fluorouracile (5-FU) et la capécitabine, prodrogue du 5-FU administrée par voie orale, sont des anticancéreux indiqués dans le traitement de différents types de cancer (côlon, voies aérodigestives, sein...). Leur mécanisme de cytotoxicité implique une conversion en nucléotides fluorés actifs visant à bloquer la synthèse d'ADN au sein de cellules à renouvellement rapide telles que les cellules cancéreuses (voie anabolique). Cependant, ces médicaments, dont l'activité est régie par un équilibre entre activation enzymatique et élimination, peuvent induire des **toxicités sévères** (grades 3-4 selon la classification OMS des toxicités des chimiothérapies), dont l'incidence est estimée aux alentours de 20-25 %, voire **létales** (grade 5), avec une incidence mal connue, comprise entre 0,1 et 1 %. Depuis le début des années 1990, de nombreuses publications ont contribué à établir un lien entre la survenue de certaines de ces toxicités (20 à 60 %) et un déficit enzymatique en **dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD)**, enzyme ubiquitaire responsable de la métabolisation et de l'élimination de plus de 80 % de la dose de fluoropyrimidine administrée (voie catabolique).

Un déficit en DPD peut être recherché par mesure directe ou indirecte de l'activité de l'enzyme (**phénotypage DPD**), d'une part, ou *via* la recherche de variants fonctionnels du gène *DPYD* codant pour l'enzyme DPD (**génotypage DPYD**), d'autre part. Cependant, les performances et l'utilité clinique de ces deux approches restent actuellement à préciser. Dans ce contexte, l'élaboration de recommandations sur le dépistage d'un déficit en DPD avant mise en route d'un traitement par 5-FU ou capécitabine a fait l'objet d'une **saisine de la Direction générale de la santé (DGS)** auprès de l'Institut national du cancer (INCa) en date du 25 janvier 2018. Pour mener cette expertise, l'INCa a notamment été invité à s'appuyer sur les résultats préliminaires du projet FUSAFE (1). Retenu en 2014 dans le cadre de l'appel à projets PHRC Cancer (Programme hospitalier de recherche clinique), celui-ci a pour objectifs principaux :

- de mener trois méta-analyses internationales, sur données individuelles, afin d'évaluer le lien entre le phénotypage DPD et/ou le génotypage *DPYD* et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines et de comparer les performances de ces différentes approches (axe 1) ;
- d'évaluer les besoins en santé publique permettant, notamment, de préciser la prévalence des toxicités les plus sévères, de grades 4 et 5, sous fluoropyrimidines et d'estimer le nombre de patients traités annuellement en France par une chimiothérapie à base de fluoropyrimidines (axe 2) ;
- d'évaluer les pratiques et les attentes des oncologues médicaux (axe 3) ;
- d'établir un état des lieux des pratiques des laboratoires français (axe 4).

Alors que les premiers résultats consolidés des méta-analyses devaient servir de support afin d'identifier l'approche méthodologique la plus performante pour détecter les déficits en DPD, leur mise à disposition, initialement prévue pour juin 2018, a pris du retard, amenant l'INCa à ne tenir compte que des données préliminaires disponibles du PHRC FUSAFE³ avant la date limite du 31 octobre 2018.

³ Les résultats des axes 2, 3 et 4 du PHRC FUSAFE ont été transmis à l'INCa entre janvier et août 2018.

Parallèlement, dans l'attente de l'établissement de recommandations par les agences de santé, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) s'est prononcée, le 28 février 2018, en faveur d'une recherche de déficits en DPD avant mise en route d'un traitement comportant des fluoropyrimidines selon les modalités techniques préconisées début 2018 par le consortium GPCO-Unicancer - RNPgX (Groupe de pharmacologie clinique oncologique - Unicancer, Réseau national de pharmacogénétique) (2).

2. AUTOSAISINE DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

Les actes de génotypage et de phénotypage recherchant un déficit en DPD sont inscrits actuellement sur la liste complémentaire des actes de biologie médicale et d'anatomocytopathologie (liste complémentaire au Référentiel des actes innovants hors nomenclature [RIHN] éditée par la Direction générale de l'offre de soins [DGOS]) :

- acte M102 : génotypage de la dihydropyrimidine déshydrogénase (*DPYD*) pour ajustement de la dose d'un traitement par fluoropyrimidine (ex : 5-fluorouracile) ;
- acte M119 : dosage de l'activité de la dihydropyrimidine déshydrogénase par une méthode chromatographique pour ajustement d'un traitement par fluoropyrimidine (ex : 5-fluorouracile).

Du fait de leur inscription sur cette liste complémentaire du RIHN, ces examens sont pris en charge dans les établissements de santé éligibles au financement de ce type d'acte mais ne le sont pas lorsqu'ils sont réalisés par un laboratoire privé de biologie médicale, ce qui pose la question de l'équité d'accès aux soins. Depuis la publication de la note d'information de l'ANSM, cette problématique de remboursement positionne en outre les oncologues dans une situation complexe à laquelle est associé un caractère médico-légal nécessitant de proposer au patient une recherche de déficit en DPD malgré l'absence de remboursement si cette recherche est réalisée par un laboratoire privé.

Dans ce contexte général et compte tenu de sa mission d'évaluation des actes diagnostiques avant prise en charge par l'Assurance maladie permettant un remboursement quel que soit le lieu de réalisation, la Haute autorité de santé (HAS) a décidé de s'autosaisir. L'INCa et la HAS ont alors choisi de collaborer à toutes les étapes de l'élaboration des présentes recommandations (élaboration du corpus bibliographique, analyse des données de la littérature, participation au groupe de travail, rédaction du présent rapport) afin d'être en mesure, à l'issue de ces recommandations, de rendre dans les meilleurs délais un avis portant sur l'inscription de ces examens à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) sur la base de conclusions endossées par les deux institutions et l'ANSM⁴.

3. PRINCIPAUX OBJECTIFS DE L'EXPERTISE

Les recommandations émises doivent permettre :

- de déterminer les performances des différentes approches de recherche d'un déficit en DPD et d'en évaluer les bénéfices et les limites potentielles en pratique clinique ;
- de retenir le ou les tests contribuant à améliorer le traitement des patients et dont les performances sont suffisantes pour qu'ils soient recommandés en pratique clinique ;
- de s'assurer de la faisabilité du ou des tests retenus en identifiant les contraintes organisationnelles majeures.

⁴ Deux représentants de l'ANSM ont participé au groupe de travail réuni dans le cadre d'élaboration des présentes recommandations (Annexe 1).

GÉNÉRALITÉS SUR LES TOXICITÉS SÉVÈRES DES FLUOROPYRIMIDINES ET LES DÉFICITS EN DPD

1. LES FLUOROPYRIMIDINES

Appartenant à la classe des antimétabolites, sous-classe des analogues de la pyrimidine, le 5-FU est un dérivé fluoré de l'uracile dont le mécanisme d'action principal est d'inhiber la synthèse de l'ADN. Cette voie cytotoxique nécessite son métabolisme intracellulaire en 5-FdUMP (5-fluorodésoxyuridine monophosphate). Le 5-FdUMP bloque alors la thymidilate synthétase qui ne peut ainsi plus jouer son rôle de synthèse de la thymidine à partir du désoxyuridine monophosphate (dUMP). Un précurseur oral du 5-FU, la capécitabine, est actuellement commercialisé en France (Xeloda® et ses génériques).

1.1. Indications en cancérologie

Les fluoropyrimidines sont indiquées dans le traitement de certains cancers colorectaux, de l'œsophage, de l'estomac, du sein et des voies aérodigestives supérieures (3). Elles entreraient ainsi dans la composition d'environ 45 % des protocoles de chimiothérapie et dans le traitement de près de la moitié de ces cancers. Une enquête de pharmacovigilance, menée dans le cadre de l'axe 2 du PHRC FUSAFE, a par exemple montré que 50 % des patients traités, en 2012, par chimiothérapie pour une tumeur solide, dans l'ancienne région Poitou-Charentes, ont reçu une fluoropyrimidine au cours des six premiers mois de leur traitement. Ce taux s'élève à 99 % chez les patients atteints d'un cancer colorectal et à 88 % chez ceux présentant un cancer du sein.

Tableau 1. Autorisations de mise sur le marché (AMM) et indications thérapeutiques des fluoropyrimidines en France

Sphère d'organe	Date d'AMM	Indications thérapeutiques
Nom : Fluorouracile® 50 mg/ml DCI : fluorouracile Voie d'administration : injectable		
Appareil digestif	11/10/1993	Cancers colorectaux, après résection, en situation adjuvante
		Adénocarcinomes digestifs évolués
		Carcinomes épidermoïdes des voies œsophagiennes
Sein	11/10/1993	Adénocarcinomes mammaires, après traitement locorégional ou lors des rechutes
Gynécologie	11/10/1993	Adénocarcinomes ovariens
Tête et cou	11/10/1993	Carcinomes épidermoïdes des voies aérodigestives supérieures
Nom : Xeloda® 150 mg, 500 mg et génériques DCI : capécitabine Voie d'administration : orale		
Appareil digestif	28/03/2007	Cancer gastrique avancé, en 1 ^{re} ligne, en association à une chimiothérapie à base de sel de platine
	30/03/2005	Cancer du côlon de stade III, après résection, en situation adjuvante
	02/02/2001	Cancer colorectal métastatique
Sein	21/03/2002	Cancer du sein localement avancé ou métastatique, en association avec le docétaxel, après échec d'une chimiothérapie cytotoxique comportant une anthracycline
		Cancer du sein localement avancé ou métastatique, en monothérapie, après échec aux taxanes et à une chimiothérapie comportant une anthracycline ou lorsqu'une chimiothérapie par anthracycline n'est pas indiquée

1.2. Nombre de patients

Sur la base d'une étude menée dans le cadre de l'axe 2 du PHRC FUSAFE, en région Centre-Val-de-Loire, reposant sur des données de 2013 et 2014 principalement, le nombre annuel de patients traités par capécitabine et par 5-FU en France est respectivement estimé à 23 400 et 53 400. Une requête, lancée sur la cohorte cancer du SNIIRAM (Système national d'information inter-régimes de l'Assurance maladie) et du PMSI (Programme de médicalisation des systèmes d'information), confirme l'estimation du nombre de patients ayant bénéficié d'un traitement par capécitabine⁵, avec 22 861 personnes traitées en 2015 et 23 336 en 2016. Ainsi, chaque année, environ 77 000 patients recevraient un traitement comportant des fluoropyrimidines, 65 000 si les protocoles FEC (5-FU-cyclophosphamide-épirubicine), indiqués dans le traitement des cancers du sein mais qui tendent à disparaître, ne sont pas pris en compte.

1.3. Toxicités

Les toxicités sévères sous fluoropyrimidines, de grade ≥ 3 , surviennent principalement au niveau des tissus à renouvellement rapide comme la moelle osseuse (toxicités hématologiques : neutropénie, thrombopénie, anémie), les muqueuses de l'appareil digestif (nausées et vomissements, mucites, ulcérations de la muqueuse oropharyngée, diarrhées) et les cellules de la peau (alopécies, dermatites, érythrodermies palmo-plantaire)⁶. Le niveau de sévérité de ces effets indésirables est communément gradé selon la terminologie CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*⁷) qui distingue ainsi les toxicités sévères de grades 3, 4 et 5 :

- grade 3 : effet indésirable sévère ou médicalement significatif, mais sans mise en jeu immédiate du pronostic vital, conduisant à une hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation, invalidant et/ou interférant avec les activités élémentaires de la vie quotidienne ;
- grade 4 : effet indésirable mettant en jeu le pronostic vital et nécessitant une prise en charge en urgence ;
- grade 5 : décès lié à l'effet indésirable.

Les données d'incidence de ces toxicités sévères sont fortement variables en fonction des publications, particulièrement lorsque les toxicités de grades 3, 4 voire 5 ne sont pas distinguées.

⁵ Le 5-FU n'étant pas inscrit sur la liste en sus des molécules onéreuses, le nombre de patients traités par cette chimiothérapie au sein des établissements de santé publics ou privés n'a pu être estimé *via* une requête de la cohorte cancer.

⁶ Source : RCP des spécialités concernées.

⁷ Version v5.0 disponible *via* le lien :

https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_50.

Tableau 2. Incidences estimées des toxicités sévères sous fluoropyrimidines⁸

Toxicités évaluées	Sources bibliographiques	Incidences des toxicités
Toxicités globales, grade ≥ 3	(3)	20 % - 25 %
	(4, 5)	25 %
	(1, 6-8)	10 % - 30 %
	(9)	6 % - 57 %
	(10)	25 % - 50 %
Toxicités sévères, grade ≥ 4	PHRC FUSAFE (axe 1) ⁹	24 %
	(1, 11)	3 % - 5 %
	PHRC FUSAFE (axe 1)	6,7 %
Toxicités létales, grade 5	(3, 6-8, 12-14)	0,1 % - 1 %
	PHRC FUSAFE (axe 1)	0,05 %

Différents éléments participent à cette variabilité des incidences rapportées, parmi lesquels :

- l'hétérogénéité des types de tumeurs ;
- la fluoropyrimidine (5-FU ou capécitabine) et les modalités d'administration considérées (perfusion continue ou bolus pour le 5-FU) ;
- les autres traitements éventuellement administrés en association avec les fluoropyrimidines ;
- le grade, la nature (toxicités globales, hématologiques, digestives, cutanées et/ou neurologiques...) et le délai de survenue (premier cycle, deux premiers cycles, voire plus) des toxicités ;
- les caractéristiques cliniques des patients inclus dans les différentes études (âge, sexe, fonction rénale, *performance status*...) (10, 15-17).

Les fluoropyrimidines sont le plus souvent associées à d'autres traitements cytotoxiques, avec de fréquents recouvrements des effets toxiques potentiels. Outre le fait que certains symptômes peuvent résulter du cancer lui-même, l'imputabilité des toxicités sévères aux fluoropyrimidines est de ce fait compliquée à établir, ce qui peut conduire à une surestimation de l'incidence des effets indésirables graves (EIG) liés à ces molécules (15). Pour exemple, le syndrome de Gilbert, qui concerne 10 % de la population et qui résulte notamment de la présence de variants délétères au sein du gène *UGT1A1*, pourrait être lié à un risque accru de diarrhées et de neutropénies particulièrement sévères chez les patients traités par irinotécan¹⁰. Or, les mutations du gène *UGT1A1* ne sont quasiment jamais caractérisées dans les études s'intéressant aux toxicités des fluoropyrimidines chez des patients traités par un protocole FOLFIRI combinant fluoropyrimidine et irinotécan.

Dans ce contexte, l'enquête de pharmacovigilance, menée dans le cadre de l'axe 2 du PHRC FUSAFE, s'est attachée à évaluer, en situation réelle de prescription, l'incidence de survenue des EIG chez 513 patients, identifiés à partir du registre des cancers de Poitou-Charentes et ayant reçu une fluoropyrimidine au cours des six premiers mois de leur traitement par chimiothérapie. Les résultats principaux, présentés ci-dessous, ne renseignent donc pas uniquement sur les toxicités des chimiothérapies comportant une fluoropyrimidine, mais sur celles de l'ensemble des chimiothérapies reçues par les patients.

⁸ Les fréquences de toxicités présentées sont issues d'un panel d'études publiées sur le sujet et ne sont pas nécessairement celles mentionnées au sein des AMM des spécialités concernées.

⁹ Les données d'incidences de toxicités sévères présentées pour le PHRC FUSAFE ont été estimées sur la base de 9 724 patients (axe 1 - méta-analyses sur données individuelles - résultats préliminaires).

¹⁰ Les patients porteurs du variant (TA)7 de l'*UGT1A1* à l'état homozygote présenteraient, sous irinotécan, un risque 3,5 fois plus élevé de neutropénie sévère, de grade 3 ou 4, que les patients non porteurs (18).

- Parmi les 513 patients, 220 ont présenté au moins un EIG de grade ≥ 3 (43 %).
- Un décès toxique (0,2 %), lié à une neutropénie fébrile, a été rapporté, décès survenu à la seconde cure d'une chimiothérapie palliative par cétuximab, carboplatine et 5-FU, chez un patient de 62 ans présentant un cancer du pharynx avec des métastases osseuses.
- Outre ce décès, un EIG mettant en jeu le pronostic vital ou entraînant une incapacité/invalidité est survenu chez dix patients (2 %).

1.4. Vistogard® : antidote aux intoxications par le 5-FU

Il est à noter l'existence d'un antidote aux intoxications par le 5-FU, le Vistogard® (triacétate d'uridine), mais son intérêt reste très limité. En effet, il doit être prescrit dans les 96 heures suivant la fin de l'administration de la fluoropyrimidine, son efficacité et sa sécurité étant non établies au-delà. Il n'est donc pas adapté à toutes les toxicités graves, certaines d'entre elles pouvant survenir au-delà de ce délai. Il n'est disponible en outre que sous ATU nominative obtenue auprès de l'ANSM, aucun stock n'existe en France ou en Europe et son acheminement, en provenance des États-Unis, requiert un délai de 24 à 48 heures¹¹. De ce fait, son utilisation se limite très essentiellement aux surdosages accidentels.

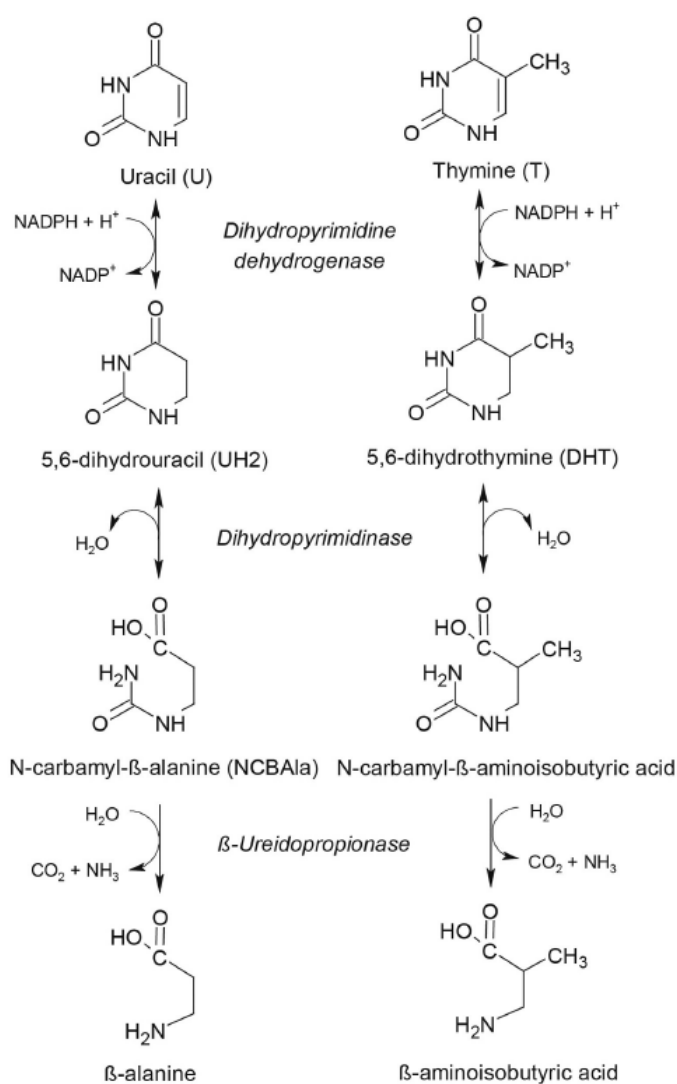
¹¹ Sources : RCP du Vistogard® (19) et site internet de l'ANSM. Laboratoire fournisseur : *Wellstat Therapeutics Corporation*, (Rockville, Maryland).

2. LA DPD

2.1. Implication des déficits en DPD dans certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines

La DPD, codée par le gène *DPYD*, est une enzyme du catabolisme des pyrimidines endogènes (uracile et thymidine) et fluorées (médicamenteuses). Elle est présente dans de nombreux tissus mais son activité est maximale dans les lymphocytes circulants et les hépatocytes. Ainsi, seule une faible fraction du 5-FU est anabolisée en dérivés cytotoxiques dans les tissus car la molécule est très majoritairement (80 - 85 %) catabolisée par la DPD (20, 21). Si le catabolisme du 5-FU s'arrête à sa réduction en 5-fluorodihydrouracile (5-FUH2) dans les lymphocytes et la plupart des tissus, une deuxième enzyme, la dihydropyrimidinase, catabolise, en revanche, le 5-FUH2 en acide 5-fluorouréidopropionique (5-FUPA) au niveau hépatique. Une troisième enzyme, la β -uréidopropionase, transforme finalement le 5-FUPA en α -fluoro- β -alanine (FBAL) et en urée.

Figure 1. Voies cataboliques des pyrimidines¹²



¹² Source : van Kuilenburg *et al.* (2016) (22).

L'activité de la DPD, qui varie d'un individu à l'autre, constitue l'étape limitante de ce processus. Ainsi, les patients avec un déficit important en DPD présentent un risque accru de toxicité aiguë et grave sous 5-FU ou capécitabine du fait du rôle majeur de l'enzyme dans le catabolisme de ces molécules (20). Les déficits en DPD peuvent être :

- partiels, avec une prévalence chez les caucasiens estimée entre 3 et 8 % selon les publications (7, 11-14, 23) ;
- complets, avec une prévalence qui serait comprise entre 0,01 et 0,5 % (1, 7, 11, 12, 14, 24).

Les toxicités liées à un déficit en DPD sont précoces, survenant généralement au cours des deux premiers cycles de chimiothérapie. En effet, l'altération du métabolisme du 5-FU, occasionnée par un déficit en DPD, entraîne, dès le premier cycle de chimiothérapie, une augmentation des concentrations de 5-FU au-delà de la concentration maximale tolérée.

En fonction des publications, les déficits en DPD expliqueraient 20 % (4), 30-40 % (25), 30-50 % (7) ou 40-60 % (8, 14, 26) des toxicités sévères chez les patients recevant un traitement comportant des fluoropyrimidines. Cette variabilité peut s'expliquer :

- d'une part, par le fait que les publications, qui s'intéressent à la relation entre déficit en DPD et toxicités sévères sous fluoropyrimidines, ne posent généralement pas une limite de délai pour attribuer la survenue d'une toxicité sévère à un déficit en DPD alors que, théoriquement, elles ne devraient considérer que les effets indésirables sévères précoces ;
- d'autre part, par la diversité des traitements incluant des fluoropyrimidines, celles-ci pouvant être administrées seules ou associées à d'autres molécules, et par les différentes modalités d'administration possibles pour le 5-FU (perfusion continue ou bolus).

Il est donc important de noter d'emblée que toutes les toxicités sévères survenant sous traitement comprenant une fluoropyrimidine ne sont pas dues à un déficit en DPD. En conséquence, aucune technique de recherche de déficit en DPD, même idéale, ne pourrait permettre de prédire toutes les toxicités pouvant survenir sous ce type de traitement¹³.

¹³ En ce sens, il est par exemple à noter l'information apportée par un oncologue du groupe de travail selon qui le lien entre certaines toxicités potentiellement mortelles, notamment les spasmes coronariens, et un trouble métabolique des fluoropyrimidines n'est pas clairement démontré.

2.2. Principales méthodes disponibles pour rechercher un déficit en DPD

2.2.1. Génométypage

L'enzyme DPD est codée par le gène *DPYD* localisé sur le chromosome 1 et qui comprend 23 exons. Plus de 100 variants ont été décrits jusqu'à présent mais seul un nombre limité d'entre eux est associé à un déficit de l'activité de la DPD pouvant expliquer la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines, les données d'impact fonctionnel et clinique étant limitées. Ainsi, en pratique, quatre variants sont communément recherchés aujourd'hui au sein des laboratoires pratiquant le génotypage de *DPYD*, leurs fréquences et impacts fonctionnels présumés étant détaillés ci-dessous. Néanmoins, au vu de certaines données *in vitro* et/ou *ex vivo*, il est fort probable que d'autres variants fonctionnels existent, entraînant un déficit ou au contraire une activation de l'activité de la DPD (22, 27-29).

► Fréquences des principaux variants

Tableau 3. Principaux variants *DPYD* recherchés et fréquences estimées/calculées dans les populations d'origine caucasienne¹⁴

Variants <i>DPYD</i>	Fréquence en population (sources bibliographiques)	Taux de porteurs		Nombre de porteurs / 100 000 patients	
		hétérozygotes	homozygotes	hétérozygotes	homozygotes
<i>DPYD</i>*2A (IVS14+1G>A, c.1905G>A)	0,8 % (11, 13, 24, 29)	1,5 %	0,01 %	1 500	10
<i>DPYD</i>*13 (c.1679T>G / p.I560S)	0,1 % (8, 11, 23, 24, 29)	0,2 %	0,0001 %	200	0,1
c.2846A>T (p.D949V)	0,6 % (11, 23, 24, 28, 29)	1 %	0,004 %	1 000	4
HapB3¹⁵	2,4 % (24, 29)	4,6 %	0,06 %	4 600	60

Outre le fait que leurs fréquences alléliques soient faibles dans les populations d'origine caucasienne, ces quatre variants ne sont globalement pas retrouvés dans les populations d'origine africaine ou asiatique (30). Ainsi, les fréquences alléliques des variants *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T et HapB3 sont respectivement estimées à 0,1 %, 0 %, 0,1 % et 0 % en population d'origine africaine ; elles sont considérées comme nulles dans les pays d'Asie de l'Est (29). En l'occurrence, d'autres variants *DPYD* associés à une activité DPD diminuée (*in vitro* et/ou *ex vivo*) ont été plus fréquemment rapportés dans les populations non caucasiennes, comme le variant p.Y186C identifié chez 26 % de la population afro-américaine (31, 32) ou les variants *DPYD**9A, *5 et *6 retrouvés au sein des populations chinoises et coréennes (33). L'impact de ces variants à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines n'a cependant pas été étudié à ce jour.

¹⁴ Basé sur les fréquences alléliques des variants telles que rapportées dans une revue systématique du CPIC (29), le calcul des fréquences de portage hétérozygote et homozygote a été effectué par approximation selon la loi de Hardy-Weinberg.

¹⁵ L'haplotype B3 (HapB3) correspond à une combinaison de cinq polymorphismes génétiquement liés. Il inclut quatre variants introniques et un variant exonique, parmi lesquels deux en déséquilibre de liaison complet : le variant c.1129-5923C>G (variant intronique) et le variant c.1236G>A (variant exonique) (2).

► Impact fonctionnel présumé des quatre principaux variants

Les données d'impact fonctionnel des quatre principaux variants *DPYD* sont résumées ci-dessous mais le détail de ces données et les références bibliographiques associées sont détaillées au sein du tableau 16 en Annexe 4.

- Le variant *DPYD**2A serait responsable de la perte de l'exon 14 au moment de l'épissage, exon qui code pour une partie du site de liaison des pyrimidines, aboutissant à une protéine tronquée. Les données de mesure de l'activité DPD, *in vitro* (sur modèle cellulaire) et *ex vivo* (mesure d'activité dans les cellules mononuclées du sang périphérique), concordent globalement vers le fait que l'enzyme tronquée résultante serait catalytiquement inactive, conduisant à une activité nulle lorsque le variant est présent à l'état homozygote et à une activité diminuée d'environ 50 % lorsque le variant est présent à l'état hétérozygote, sous réserve de l'absence d'autres variants influençant par ailleurs l'activité de la DPD. Une étude pharmacocinétique a en effet mis en évidence que les patients porteurs du variant *DPYD**2A à l'état hétérozygote présentaient une exposition systémique au 5-FU deux fois supérieure à la normale.
- Les conséquences fonctionnelles de la mutation faux-sens (mutation entraînant un changement d'acide aminé) c.1679T>G (*DPYD**13 ; p.I560S) n'ont à ce jour pas été clairement établies. Il a été émis l'hypothèse que cette altération pourrait causer une déstabilisation d'une région importante de l'enzyme.
- Les données de mesure de l'activité DPD *in vitro* et *ex vivo* suggèrent une activité très diminuée mais non nulle de l'enzyme résultante, diminution de l'ordre de 60 % à l'état hétérozygote et de 75 % à l'état homozygote sur la base des quelques données disponibles.
- La mutation faux-sens c.2846A>T (p.D949V), localisée sur l'exon 22, au niveau du site 4Fe-4S, affecterait l'activité de la DPD par interférence directe avec la liaison des cofacteurs et le transport des électrons. Les données *in vitro* et *ex vivo* s'accordent globalement en faveur d'une diminution de l'activité de l'enzyme en présence de ce variant. Bien qu'assez variable en fonction des études, l'amplitude de cette diminution serait de l'ordre de 20-30 % en moyenne chez les patients porteurs de ce variant à l'état hétérozygote.
- Parmi les variants inclus dans l'haplotype HapB3, le variant c.1129-5923C>G, localisé au sein de l'intron 10, entraînerait un épissage aberrant de l'ARN prémessager et est probablement celui conduisant à une modification de l'activité de DPD. S'il n'a pas été identifié de données de mesure de l'activité DPD sur modèle cellulaire, des données *ex vivo* existent et, bien qu'hétérogènes, suggèrent globalement une diminution d'activité de l'ordre de 20-35 % en moyenne chez les patients porteurs hétérozygotes et de 20-60 % chez les patients porteurs homozygotes.

2.2.2. Phénotypage

En regard de la recherche de variants au sein du gène *DPYD*, les techniques de phénotypage visent à mesurer plus directement l'activité fonctionnelle de l'enzyme, quels que soient les éléments génétiques et non génétiques dont résulte cette activité. Cette approche vise en particulier à s'affranchir de l'impact possible de variants *DPYD* non connus et de l'incapacité *a priori* à prédire les conséquences fonctionnelles de la combinaison d'un ou plusieurs variants délétères et/ou activateurs. De ce fait, elle a la capacité potentielle d'identifier tous les types de déficits en DPD, en particulier les déficits complets.

À l'heure actuelle, il existe principalement trois techniques ayant pour objectif de mesurer l'activité de la DPD¹⁶.

► Mesure de l'activité DPD dans les cellules mononuclées du sang périphérique

La mesure de l'activité DPD dans les PBMC (*peripheral blood mononuclear cell*) par une méthode radio-enzymatique, est considérée comme la technique de référence car elle est celle qui cherche à mesurer l'activité de l'enzyme de la manière la plus directe.

Néanmoins, les données scientifiques publiées sont contradictoires quant à l'existence d'une bonne corrélation entre les résultats de cette méthode et :

- les paramètres pharmacocinétiques du 5-FU (clairance systémique et exposition systémique) (34-36). Cela peut s'expliquer en partie par le fait :
 - qu'il n'est pas complètement établi que l'activité DPD dans les PBMC soit un bon marqueur de l'activité DPD existant dans le foie (mesure non directement accessible) ;
 - que l'activité DPD est sujette à de larges variations intra-individuelles ;
 - que la DPD n'explique pas seule les paramètres d'élimination et d'exposition au 5-FU.
- la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines chez les patients porteurs d'un des quatre principaux variants *DPYD* (37).

De plus, cette technique est délicate et longue à mettre en œuvre, nécessitant généralement l'utilisation de radioéléments, si bien qu'elle n'est réalisée que dans de très rares laboratoires et globalement limitée au domaine de la recherche (24).

D'autres méthodes indirectes de mesure de l'activité DPD, plus adaptées à une diffusion plus large du test, ont donc été développées, parmi lesquelles la mesure de l'uracilémie et le calcul du ratio UH2/U. En l'occurrence, l'élaboration des présentes recommandations s'est limitée à considérer ces deux dernières techniques car elles sont actuellement les plus utilisées en routine et *a priori* les seules envisageables dans le contexte de la mise en œuvre d'une recherche systématique de déficits en DPD pour environ 80 000 patients chaque année.

► Mesure du rapport UH2/U plasmatique et de l'uracilémie seule

L'estimation de l'activité DPD *via* le calcul du ratio dihydrouracile/uracile (UH2/U) plasmatique a été jusqu'à récemment la méthode de mesure de l'activité DPD majoritairement utilisée dans les études cliniques et au sein des laboratoires recherchant, en pratique clinique, un déficit en DPD par phénotypage. Cette méthode repose sur l'hypothèse selon laquelle le rapport entre les concentrations plasmatiques du métabolite (UH2) et du substrat naturel (U) de la DPD serait un marqueur de l'activité globale de l'enzyme. Les concentrations plasmatiques de l'uracile et du dihydrouracile sont communément mesurées par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) avec différentes méthodes de détection possibles (spectrophotométrie UV, spectrométrie de masse) (3). Les laboratoires utilisent également la mesure de l'uracilémie comme marqueur de l'activité de DPD.

¹⁶ D'autres méthodes sont mentionnées dans la littérature, comme le 2-¹³C-uracil *breath test* ou l'*uracil test dose* (24), mais elles apparaissent vraisemblablement très anecdotiques et ne sont donc pas détaillées ici.

Néanmoins, les données de corrélation de ces deux marqueurs avec l'activité de DPD et les paramètres pharmacocinétiques sont contradictoires :

- Fleming *et al.* notent une corrélation inverse faible, mais significative, entre la valeur de l'uracilémie et l'activité DPD lymphocytaire, mais une absence de corrélation significative entre l'uracilémie et la clairance du 5-FU (n = 78 patients) (34) ;
- Gamelin *et al.* (1999) rapportent une corrélation significative entre le ratio UH2/U et les principaux paramètres pharmacocinétiques du 5-FU (clairance, concentrations plasmatiques), la corrélation avec la clairance du 5-FU étant meilleure lorsque les valeurs du ratio sont basses (n = 81 patients) (35). En regard de ces résultats, une nouvelle étude, menée par la même équipe quelques années plus tard (Boisdron-Celle *et al.*, 2007), ne retrouve pas de corrélation entre le ratio UH2/U et la clairance plasmatique du 5-FU alors qu'une corrélation faible, mais significative, est retrouvée entre l'uracilémie et cette même clairance (n = 252 patients) (12) ;
- sur la base d'une étude chez 20 volontaires sains, Meulendijks *et al.* rapportent que, par rapport au ratio UH2/U, la mesure de l'uracilémie serait mieux corrélée à l'activité DPD mesurée dans les PBMC (38) ;
- van Kuilenburg *et al.* observent, chez 100 volontaires sains, une corrélation inverse significative mais faible entre l'uracilémie et l'activité de l'enzyme DPD mesurée dans les PBMC, mais une absence de corrélation entre le ratio UH2/U et cette même activité (22) ;
- sur une population de 320 volontaires sains et de 28 patients atteints de cancer, Sistonen *et al.* montrent que, même si des ratios UH2/U significativement inférieurs sont en moyenne observés chez les patients porteurs des variants *DPYD* considérés comme délétères, un recouvrement important avec les valeurs de ratios des patients non porteurs de ces variants existe (39). Ce résultat est confirmé par Henricks *et al.* sur une population de 539 patients traités par capécitabine ou 5-FU et est retrouvé par Etienne-Grimaldi *et al.* (40, 41).

Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse que la corrélation médiocre entre les concentrations physiologiques d'uracile ou de dihydrouracile et l'activité de DPD reflétait le fait, qu'à des concentrations physiologiques faibles d'uracile, l'enzyme DPD n'était pas saturée. Ils suggèrent ainsi que seul un déficit marqué en DPD peut impacter les concentrations physiologiques d'uracile ou de dihydrouracile (22, 38, 39).

2.2.3. Méthodes combinées

L'enquête nationale de pratiques relative à la recherche des déficits en DPD, menée dans le cadre de l'axe 4 du PHRC FUSAFE, a rapporté que, à l'automne 2017, huit laboratoires sur les dix-huit réalisant cette recherche proposaient l'exploration des déficits en DPD *via* la recherche génotypique de variants *DPYD* combinée à une ou plusieurs techniques(s) de phénotypage (ratio UH2/U et/ou mesure de l'uracilémie ou activité DPD dans les PBMC), l'objectif revendiqué étant d'améliorer les performances prédictives globales d'identification de ces déficits.

2.3. Adaptation du traitement en fonction du niveau de déficit en DPD

L'objectif d'identifier les patients présentant un déficit en DPD est de réduire le risque de toxicités sévères en leur proposant un ajustement de la posologie initiale des fluoropyrimidines, voire un traitement alternatif en cas de déficit complet.

En 2015, Henricks *et al.* ont proposé le calcul d'un *gene activity score* qui repose sur l'impact fonctionnel attribué par ces auteurs à chacun des quatre principaux variants, *i.e.* *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T et HapB3, en considérant que les deux premiers variants conduiraient à la genèse d'une enzyme non fonctionnelle tandis que l'impact plus faible des deux derniers se traduirait par une activité résiduelle de la DPD diminuée de 50 % (23). En fonction de la présence ou de l'absence de ces variants, des valeurs sont attribuées à chaque allèle *DPYD*, le score de 1 étant associé à un allèle totalement fonctionnel (absence des quatre variants), le score de 0,5 à un allèle dont l'activité est diminuée (présence du variant c.2846A>T ou HapB3) et le score de 0 à un allèle non fonctionnel (présence du variant *DPYD**2A ou *13). Des ajustements de posologie initiale sont ainsi proposés une fois les scores de chaque allèle additionnés :

- score combiné de 2 : posologie standard ;
- score combiné de 1,5 : diminution de 25 % de la posologie initiale ;
- score combiné de 1 : diminution de 50 % de la posologie initiale ;
- score combiné de 0,5 : diminution de 75 % de la posologie initiale ;
- score combiné de 0 : proposition d'un traitement alternatif.

Si un patient est porteur de deux variants différents, des études complémentaires de phénotypage sont nécessaires, du fait de l'impossibilité de déterminer si ces variants sont retrouvés ou non sur le même allèle.

Ce type de calcul de score associé à des préconisations d'ajustement thérapeutique (diminution de dose initiale ou contre-indication des fluoropyrimidines) sur la base du génotypage *DPYD* a été repris lors des actualisations récentes des RBP émanant de trois sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie (KNMP, CPIC, consortium GPCO-Unicancer - RNPGx).

2.4. État des lieux de la recherche des déficits en DPD en France

Comme évoqué plus haut, actuellement, les actes de phénotypage et génotypage recherchant un déficit en DPD sont inscrits sur la liste complémentaire des actes de biologie médicale et d'anatomocytopathologie (actes M102 et M119). Les examens réalisés sont déclarés auprès des Agences régionales de santé (ARS) et de la DGOS *via* le logiciel FICHSUP mis à disposition par l'ATIH. Le génotypage fait également l'objet de demandes de rapport d'activité annuel adressées aux laboratoires concernés par l'Agence de biomédecine (ABM) et l'INCa.

Dans ce contexte, quelle que soit l'institution en charge du recueil de l'activité (DGOS, ABM ou INCa), le nombre annuel de phénotypes DPD déclarés, en 2017, était de 3 400 environ tandis que le nombre de génotypes *DPYD* ne dépassait pas 4 500, que ce soit en 2016 ou 2017 (données fournies par les différentes institutions).

Depuis début 2018 et la publication de la note d'information de l'ANSM préconisant une recherche systématique des déficits en DPD avant mise en route d'un traitement comportant des fluoropyrimidines, il est à noter que les professionnels réalisant le génotypage *DPYD* et/ou le phénotypage de la DPD au sein de leurs laboratoires ont constaté une nette progression des demandes de la part des cliniciens¹⁷ (information apportée par certains membres du groupe de travail ayant participé à l'élaboration des présentes recommandations).

3. ASPECTS RÉGLEMENTAIRES

Au niveau européen, en juillet 2017, en réponse à un avis demandé par le *Committee for medicinal products for human use* (CHMP) de la *European medicines agency* (EMA), le *Pharmacovigilance risk assessment committee* (PRAC) s'est prononcé en faveur d'une modification des RCP de la capécitabine et des spécialités de 5-FU en vue d'y intégrer des informations relatives à la problématique des déficits en DPD et, plus particulièrement, à la possibilité de les détecter par génotypage (42). Le PRAC a également relevé que d'autres mises à jour des RCP pourraient être ultérieurement requises sur la base de la disponibilité des résultats de nouvelles études, d'une part, et des avancées en matière de recommandations d'ajustement posologique, d'autre part.

Faisant suite aux préconisations du PRAC, le RCP européen de la capécitabine (Xeloda®) a été actualisé en avril 2018 (43). Au sein de la version précédente du RCP, le traitement était déjà contre-indiqué chez les patients déficitaires complets en DPD et une mise en garde alertait sur un risque de toxicité accru chez les déficitaires partiels, sans pour autant proposer de modalités de recherche de ces déficits ni d'ajustement posologique. La version actualisée fait maintenant état d'un lien entre la présence des variants *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T et HapB3 (c.1236G>A) et un risque augmenté de toxicité sévère sous capécitabine. La recherche de ces variants par génotypage est donc recommandée avant traitement, tout en soulignant :

- que l'intérêt de ces variants se limite vraisemblablement à la population caucasienne ;
- que d'autres variants rares non identifiés peuvent sans doute être également associés à un risque accru de toxicité ;
- qu'un risque d'effets indésirables graves subsiste même pour les patients non porteurs de ces variants.

Par ailleurs, le RCP stipule qu'il peut être envisagé de réduire la dose initiale chez les patients porteurs de l'un des quatre variants *DPYD* à l'état hétérozygote et donc diagnostiqués comme déficitaires partiels, mais alerte sur le fait :

- que les données sont insuffisantes pour recommander une posologie spécifique chez les patients présentant une activité partielle de la DPD ;
- que les conséquences d'une dose réduite sur l'efficacité du traitement sont actuellement incertaines ;
- qu'il a été rapporté que les variants *DPYD**2A, et *DPYD**13 entraînaient une réduction plus importante de l'activité enzymatique que les autres variants avec un risque plus élevé d'effets indésirables.

¹⁷ Au moment de la rédaction du présent rapport, le nombre et la répartition territoriale des laboratoires pratiquant la recherche des déficits en DPD, tout comme le volume d'actes réalisés, apparaissent difficiles à évaluer compte tenu de la diffusion croissante et de l'augmentation rapide de cette activité depuis la publication de la note d'information de l'ANSM.

Pour ces raisons, en l'absence de toxicité grave, il est préconisé que la dose soit réajustée dans le cadre d'une surveillance étroite du patient.

Les RCP des spécialités génériques de 5-FU actuellement sur le marché ont également été modifiés récemment pour y intégrer de nouvelles informations relatives au déficit en DPD. Néanmoins, elles sont moins précises que celles figurant dans la nouvelle version du RCP de la capécitabine. En effet, bien qu'il soit indiqué que certains variants à l'état homozygote ou hétérozygote peuvent induire un déficit plus ou moins important en DPD, aucun variant n'est nommé et le génotypage systématique des patients avant traitement n'est pas préconisé.

4. RECOMMANDATIONS PROFESSIONNELLES DISPONIBLES

Dans un contexte où il n'existe pas de consensus fort quant au choix d'une méthode préférentielle pour rechercher, en routine clinique, un déficit en DPD avant traitement comprenant des fluoropyrimidines, une recherche systématique des recommandations professionnelles de bonne pratique (RBP) existant sur le sujet a été menée, conduisant à retenir six RBP, nationales et internationales, élaborées ou actualisées entre 2016 et 2018¹⁸ :

- trois RBP (2, 29, 44), émises par des sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie, centrées exclusivement sur la recherche d'un déficit en DPD dans le cadre de traitements par fluoropyrimidines, d'une part ;
- trois RBP (45-47), élaborées par des sociétés savantes en oncologie, portant plus généralement sur un type de cancer et évoquant, dans ce cadre, la recherche d'un déficit en DPD, d'autre part.

4.1. RBP de sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie

En 2017 ou 2018, trois sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie ont élaboré ou actualisé des RBP dédiées au déficit en DPD dont les données principales sont présentées au sein du Tableau 4 :

- la *Royal dutch pharmacists association* (KNMP), aux Pays-Bas ;
- le *Clinical pharmacogenetics implementation consortium* (CPIC), réunissant des équipes essentiellement basées en Amérique du Nord ;
- le consortium GPCO-Unicancer - RNPGx, en France.

Ces trois RBP concluent à l'intérêt d'une recherche systématique d'un déficit en DPD en amont d'un traitement par fluoropyrimidines. Elles recommandent le génotypage *DPYD*, le phénotypage étant uniquement intégré au sein des recommandations françaises. Par ailleurs, elles proposent des adaptations posologiques des fluoropyrimidines en fonction des résultats des tests réalisés, adaptations qui reposent essentiellement sur le système de score publié par l'équipe d'Henricks en 2015 (23).

¹⁸ Le processus de recherche et de sélection bibliographiques est décrit en Annexe 3.

Tableau 4. Principaux éléments des RBP émises par les sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie

KNMP 2011 (48) Prise en compte des variants <i>DPYD</i>*2A, *3, *7, *8, *10, *11, *12, *13, IVS10-15T>C, 496A>G, 1156G>T et 1845G>T, considérés comme associés à une activité DPD nulle, et des variants <i>DPYD</i>*9B et *10, considérés comme associés à une activité diminuée¹⁹. Définition de trois classes de patients en fonction du niveau d'activité de la DPD prédit par les résultats du génotypage : <i>extensive metabolizers</i>, <i>intermediate metabolizers</i> et <i>poor metabolizers</i>. Recommandation d'un traitement alternatif aux fluoropyrimidines chez les patients classés comme <i>poor metabolizers</i> et diminution de 50 % de la posologie initiale ou proposition d'un traitement alternatif chez les <i>intermediate metabolizers</i>.
KNMP 2017 (actualisation) (44) Prise en compte des variants <i>DPYD</i>*2A, <i>DPYD</i>*13, c.2846A>T et HapB3 et du <i>gene activity score</i> proposé en 2015, tout en soulignant la faible incidence des variants considérés, leur présence quasi-exclusive chez les populations d'origine caucasienne et l'incertitude de leur impact fonctionnel. Évocation d'autres variants <i>DPYD</i> de niveaux de preuve considérés comme beaucoup plus limités et donc non pris en compte dans l'établissement du <i>gene activity score</i>.
CPIC 2017 (29) Sur la base d'une revue systématique de la littérature, prise en compte d'un grand nombre de variants <i>DPYD</i>, chacun étant associé à un niveau de preuve s'attachant à la relation génotype-phénotype. Synthèse des données de prévalence disponibles pour ces variants en fonction de l'origine du patient (origine géographique/ethnique). Proposition de calcul d'un score d'activité DPD prédit par les résultats du génotypage.
GPCO-Unicancer - RNPGx 2018 (2) Recommandation d'une recherche de déficit en DPD par association du génotypage des quatre principaux variants <i>DPYD</i> et du phénotypage <i>via</i>, en première intention, la mesure de l'uracilémie. Proposition de calcul d'un score d'activité DPD prédit par les résultats du génotypage et du phénotypage. Choix de deux seuils d'uracilémie se basant sur les données de trois études (12, 49, 50) et permettant de définir trois classes de patients : • les patients diagnostiqués comme non déficitaires, présentant une uracilémie ≤ 16 ng/ml associée à un score de 2 ; • les patients considérés comme déficitaires partiels, avec une uracilémie comprise entre 16 et 100 ng/ml et un score de 1 à 1,5 ; • les patients définis comme déficitaires complets dont l'uracilémie est supérieure à 100 ng/ml correspondant à un score de 0 ou 0,5. En fonction du score d'activité DPD, recommandation d'un traitement alternatif (score de 0 ou 0,5) ou d'une diminution de posologie initiale (score de 1 ou 1,5), avec un réajustement éventuel ultérieur en fonction de la tolérance du patient. Calcul du ratio UH2/U éventuellement associé à la mesure de l'uracilémie, sans que soient précisées ses modalités d'interprétation, en particulier en cas de discordance entre les résultats des deux tests de phénotypage.

¹⁹ Les auteurs précisent que l'association de la plupart ces variants à une toxicité des fluoropyrimidines repose sur des *case-reports*.

4.2. RBP de sociétés savantes en oncologie

Les RBP émanant de sociétés savantes en oncologie, portant sur un type de cancer, sont plus mesurées quant à la nécessité de réaliser systématiquement une recherche de déficit en DPD en pratique clinique.

Au sein de ses dernières recommandations dédiées au cancer colorectal datant de juillet 2016, la *European Society for Medical Oncology* (ESMO) prend une position ambiguë (45). En effet, si elle atteste de l'intérêt de contre-indiquer les fluoropyrimidines chez les patients déficitaires complets en DPD et d'adapter les posologies chez les patients déficitaires partiels, elle considère la recherche de ce déficit avant mise en route du traitement comme une option, justifiant ce positionnement par l'absence de consensus sur une méthode et/ou stratégie diagnostique adéquate pour réaliser cette recherche.

Dans ses recommandations de mars 2018 sur le cancer du côlon, le *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) ne soutient pas le recours systématique à un génotypage *DPYD* avant mise en route du traitement, en justifiant cette position par l'existence de données controversées sur ce sujet (46). Il est à noter par ailleurs que la problématique des déficits en DPD n'est pas évoquée au sein de ses RBP portant sur le cancer rectal et les cancers tête et cou (51, 52).

Enfin, au sein du chapitre consacré au cancer du côlon non métastatique du Thésaurus national de cancérologie digestive (TNCD)²⁰, chapitre mis à jour en avril 2018, la recherche d'un déficit en DPD est recommandée en « option », avec un niveau de preuve de grade C qui correspond à l'existence d'études prospectives non randomisées (47).

²⁰ Le Thésaurus national de cancérologie digestive repose sur un travail collaboratif établi sous l'égide de la Fédération francophone de cancérologie digestive (FFCD), de la Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer (Unicancer), du Groupe coopérateur multidisciplinaire en oncologie (GERCOR), de la Société française de chirurgie digestive (SFCD), de la Société française de radiothérapie oncologique (SFRO), de la Société française d'endoscopie digestive (SFED) et de la Société nationale française de gastroentérologie (SNFGE).

MÉTHODE D'ÉLABORATION DES RECOMMANDATIONS

1. RECHERCHE ET SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUES²¹

Une recherche systématique initiale, sur une période allant de janvier 2008 à mars 2018, des rapports d'évaluation technologique, méta-analyses et revues systématiques a été menée afin d'établir l'inventaire de la littérature synthétique disponible.

La littérature non synthétique apparaissant très abondante, en particulier en matière d'études cliniques et de rapports de cas²², il a été décidé ensuite de conduire une recherche des études-clés en rapport avec le sujet sur la base des références bibliographiques mentionnées au sein des trois RBP (présentées ci-dessus dans la partie Généralités), qui portent spécifiquement sur la recherche d'un déficit en DPD dans le cadre de traitements par fluoropyrimidines. Cette méthode retenue se justifie par le fait :

- que l'une des RBP, se focalisant sur le génotypage *DPYD* et actualisée en 2017, repose sur une revue systématique de la littérature sur le sujet ;
- que les trois RBP sont globalement en accord entre elles concernant la recherche d'un déficit en DPD par génotypage et qu'elles mentionnent de façon itérative des références bibliographiques communes ;
- qu'il a été considéré que la RBP française, qui préconise une recherche d'un déficit en DPD par génotypage et phénotypage, avait *a priori* réalisé une synthèse des données les plus probantes disponibles sur les deux techniques de phénotypage étudiées, à savoir la mesure de l'uracilémie et le calcul du ratio UH2/U.

Par ailleurs, une recherche des études cliniques publiées sur les périodes non prises en compte par ces trois RBP a été réalisée en complément afin d'identifier toute nouvelle étude jugée pertinente pour l'évaluation (à compter de mars 2017 concernant le génotypage et de janvier 2018 concernant le phénotypage, jusqu'en avril 2018). Seules les études correspondant aux critères de sélection définis dans le Tableau 5 ont été conservées. L'ensemble de ce processus de recherche et de sélection de la littérature par l'INCa et la HAS a abouti à retenir 34 publications. Il a ensuite été demandé aux experts du groupe de travail de valider cette liste et de proposer d'éventuelles références additionnelles qui leur semblaient pertinentes ou utiles à l'évaluation. Sur les quinze publications additionnelles proposées, six ont été conservées sur la base des critères du Tableau 5, aboutissant à un corpus initial de travail de 40 publications utilisé comme support bibliographique pour l'évaluation des différentes méthodes de recherche des déficits en DPD.

Une veille bibliographique a été réalisée pour la période avril 2018 - octobre 2018 afin d'identifier de potentielles études publiées ultérieurement à l'établissement du corpus bibliographique initial et répondant aux critères de sélection retenus. Cette veille a permis de sélectionner une référence additionnelle portant sur l'utilité clinique du génotypage *DPYD*²³ (37).

²¹ La méthode retenue afin de constituer le corpus bibliographique utilisé pour construire l'argumentaire des recommandations est présentée de façon détaillée en Annexe 2.

²² Une recherche systématique étendue des études cliniques et rapports de cas, portant sur les mots-clés DPD et fluoropyrimidines, conduite en avril 2018 selon une équation de recherche détaillée en Annexe 2, a identifié 258 publications.

²³ À noter l'identification, dans le cadre de cette veille, d'une autre publication s'intéressant à l'utilité clinique du génotypage *DPYD* mais non retenue car rétrospective (53).

Tableau 5. Critères de sélection ayant permis la constitution du corpus bibliographique

Critères de non inclusion
• Méta-analyses dont la qualité méthodologique est jugée insuffisante. • Revues systématiques et rapports d'évaluation technologique dont la méthodologie est insuffisamment décrite ou dont la période de recherche bibliographique est devenue obsolète. • Études rétrospectives (sauf si incluses dans une méta-analyse) et rapports de cas. • Études dont les résultats ont déjà été pris en compte dans les méta-analyses sélectionnées.
Génotypage : critères d'inclusion
• Méta-analyses de qualité jugée suffisante, incluant les résultats préliminaires du PHRC FUSAFE. • Études observationnelles prospectives, prospectives-rétrospectives ou analyses poolées d'études dont les résultats n'ont pas déjà été pris en compte dans les méta-analyses sélectionnées (en pratique, études publiées après 2015). • Études <i>in vitro/ex vivo</i> apportant des données d'impact fonctionnel des variants <i>DPYD</i> sur l'activité de l'enzyme DPD.
Phénotypage : critères d'inclusion
• Études observationnelles prospectives ou prospectives-rétrospectives apportant des données de performances et/ou de détermination de seuils distinguant les patients déficitaires des non déficitaires. • Études observationnelles prospectives avec recherche d'un déficit en DPD par phénotypage puis ajustement de posologie initiale en fonction des résultats.

2. CONSTITUTION DU GROUPE DE TRAVAIL

Un groupe de travail, représentatif des spécialités médicales et modes d'exercice concernés par la recherche d'un déficit en DPD avant mise en route d'un traitement comportant des fluoropyrimidines, a été constitué suite à la sollicitation de plusieurs sociétés savantes :

- FFCD (Fédération francophone de cancérologie digestive) ;
- GFCO (Groupe francophone de cytogénomique oncologique) ;
- GPCO-UNICANCER (Groupe de pharmacologie clinique oncologique) ;
- RNPGx (Réseau national de pharmacogénétique) ;
- SFCCF (Société française de carcinologie cervico-faciale) ;
- SFORL (Société française d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie de la face et du cou) ;
- SFPC (Société française de pharmacie clinique) ;
- SFPO (Société française de pharmacie oncologique) ;
- SFPT (Société française de pharmacologie et de thérapeutique) ;
- SFSPM (Société française de sénologie et de pathologie mammaire) ;
- SNFGE (Société nationale française de gastro-entérologie).

Les experts proposés par les sociétés savantes ont été sollicités *intuitu personae* et non en qualité de représentant d'un organisme, d'une société savante ou d'un groupe de professionnels. Ils ont tous renseigné une déclaration d'intérêts dont l'analyse par l'INCa a respecté les principes de prévention et de gestion des conflits d'intérêts fixés par :

- la loi n°2011-2012 du 29 décembre 2011 sur le renforcement de la sécurité sanitaire du médicament et autres produits de santé ;
- la charte de l'expertise sanitaire régie par le décret n°2013-413 du 21 mai 2013 ;
- le code de déontologie de l'INCa²⁴ qui décrit le dispositif de prévention et de gestion des conflits d'intérêts en vigueur à l'institut.

Pour les experts retenus, cette analyse n'a pas mis en évidence de risque de conflit d'intérêt majeur en lien avec l'objet de l'expertise.

Finalement, le groupe de travail a réuni six oncologues médicaux et spécialistes d'organe, treize professionnels ayant une expertise relative à la recherche des déficits en DPD en laboratoire et/ou aux toxicités sévères dans l'usage des fluoropyrimidines (biologistes médicaux, pharmaciens, pharmacologues, pharmacogénéticiens) et cinq représentants institutionnels (INCa, HAS, ANSM) (Annexe 1). À des fins de simplification, dans la suite du document, il a été décidé de réunir les biologistes médicaux, pharmaciens, pharmacologues et pharmacogénéticiens sous la dénomination commune de « pharmacologues », la présente thématique de travail relevant en premier lieu de leur expertise en pharmacologie. Les oncologues médicaux et spécialistes d'organe ont été réunis sous l'appellation de « cliniciens » quel que soit leur domaine spécifique d'exercice médical.

Ce groupe s'est réuni à deux reprises en formation complète (25 juin 2018 et 5 septembre 2018). Une troisième session n'a réuni que les biologistes médicaux exerçant dans un laboratoire pratiquant la recherche des déficits en DPD (8 octobre 2018) pour des raisons exposées dans la suite du présent rapport.

3. AUDITION

Dans le cadre de cette expertise, une biologiste médicale du Département biopathologie du cancer de l'Institut de cancérologie de l'Ouest (ICO) d'Angers a été auditionnée par l'INCa afin d'apporter des précisions sur l'approche multiparamétrique 5-FU^{ODPMTox} commercialisée par la société ODPM (*Onco Drug Personalized Medicine*) qu'elle représente.

4. CONSTRUCTION DE L'ARGUMENTAIRE

La rédaction de l'argumentaire des recommandations repose sur :

- l'analyse critique des données scientifiques retenues ;
- l'avis argumenté des experts du groupe de travail en l'absence de publications, lorsque le niveau de preuve des données de la littérature est jugé insuffisant ou lorsqu'il existe une hétérogénéité des pratiques.

²⁴ Code de déontologie approuvé par le conseil d'administration du 15/12/2017 - Institut national du cancer - février 2018.

Les principaux critères permettant, dans le cas présent, de juger de l'adéquation ou non d'une technique avec la mise en œuvre d'une recherche systématique d'un déficit en DPD sont les suivants :

- le niveau de concordance entre les résultats du test et la survenue des toxicités sévères aux fluoropyrimidines, utilisées à des doses standard, concordance estimée *via* le niveau de force d'association (OR, RR) et les performances²⁵ du test (sensibilité clinique, spécificité clinique, valeurs prédictives) (validité clinique²⁶) ;
- la capacité du test à permettre de proposer un ajustement des doses initiales de fluoropyrimidine (ou une alternative thérapeutique), contribuant à éviter la survenue d'une toxicité sévère sans altérer l'efficacité du traitement (utilité clinique) ;
- la capacité de diffusion du test retenu à large échelle.

5. RELECTURE NATIONALE

Identifiés grâce au concours des sociétés savantes, des professionnels, représentatifs des spécialités médicales et modes d'exercice concernés par le sujet, ont été invités à juger la pertinence et l'applicabilité des recommandations émises ainsi que la lisibilité du document. Des représentants d'associations de patients atteints de cancers traités par fluoropyrimidines ou concernés par la problématique des toxicités sévères sous fluoropyrimidines ont également été sollicités à cette étape.

En accord avec l'avis du comité de déontologie et d'éthique et conformément au code de déontologie de l'INCa, il n'est pas demandé aux parties intéressées et aux relecteurs de renseigner une déclaration d'intérêts dans le cadre d'une relecture nationale d'un document produit par un groupe de travail.

Le document, comprenant l'argumentaire et les principales conclusions qui pouvaient en être tirées, a finalement été :

- relu, éventuellement amendé et validé par dix des treize pharmacologues et quatre des six cliniciens ayant participé à une ou plusieurs des sessions plénières du groupe de travail ;
- relu, apprécié et discuté par quinze professionnels relecteurs externes ayant répondu à la sollicitation de l'INCa et de la HAS, parmi lesquels onze biologistes, généticiens, pharmaciens ou pharmacologues et quatre cliniciens.

La liste des professionnels ayant contribué à cette étape est présentée en Annexe 1.

6. VALIDATION DE LA VERSION FINALE DES RECOMMANDATIONS

Après prise en compte des remarques pertinentes issues de la relecture nationale, l'INCa (19 novembre 2018) et la HAS (28 novembre 2018) ont validé les présentes recommandations.

²⁵ Dans ce contexte, les paramètres dits de performances sont relatifs à la capacité de prédiction de survenue des toxicités sévères aux fluoropyrimidines. Il ne s'agit pas de performances diagnostiques estimant la capacité à détecter un déficit en DPD en comparaison avec une technique diagnostique de référence.

²⁶ Cette définition de la validité clinique d'un test correspond à celle donnée par l'*Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention Working Group* (EGAPP) pour l'évaluation de tests génomiques (18).

ÉVALUATION DES MÉTHODES DISPONIBLES POUR RECHERCHER UN DÉFICIT EN DPD ET ÉVITER CERTAINES TOXICITÉS SÉVÈRES SOUS FLUOROPYRIMIDINES

1. PRÉAMBULE

1.1. Éléments de consensus préalables à l'élaboration de ces recommandations

Lors des deux premières sessions plénières du groupe de travail, les cliniciens, pharmacologues et représentants institutionnels du groupe de travail ont défini leurs positions et attentes principales à l'égard de la recherche systématique d'un déficit en DPD avant tout traitement comprenant des fluoropyrimidines. Dans un contexte où il n'existe pas de consensus préalable fort quant à l'existence d'une méthode fiable de recherche des déficits en DPD, en particulier sur le plan de la sensibilité et de la valeur prédictive positive (VPP), permettant d'éviter la survenue de toxicités sévères aux traitements comportant des fluoropyrimidines, **les éléments suivants ont été retenus de manière consensuelle.**

- **La recherche d'un déficit en DPD doit permettre avant tout d'identifier les patients déficitaires complets afin de prévenir, *a minima* et autant que possible, les toxicités les plus graves, en particulier celles pouvant entraîner un décès.**
 - Il existe une pertinence clinique *a priori* indiscutable à contre-indiquer la prescription d'une fluoropyrimidine chez ces patients, conformément à ce qui est énoncé aujourd'hui dans les RCP de ces spécialités.
 - La nécessité de disposer d'un test permettant d'identifier ces déficits complets apparaît d'autant plus impérative que le traitement est utilisé en situation adjuvante.
 - La recherche des déficits complets en DPD conduira nécessairement à identifier également des patients présentant un déficit partiel en DPD, avec des niveaux de performances ou de validation potentiellement inférieurs. Étant donné le besoin clinique, la recommandation de mise en œuvre d'une méthode de recherche des déficits profonds ne doit pas être retardée par des incertitudes autour des performances de cette même méthode à l'égard de l'identification des déficits partiels.
- **L'existence de diagnostics faussement positifs de déficit complet n'apparaît pas acceptable.**
 - Ce diagnostic étant associé à une contre-indication des fluoropyrimidines, il entraînerait, par conséquent, une perte de chance pour les patients concernés lorsqu'il n'existe pas de traitement alternatif de même efficacité que les fluoropyrimidines, en particulier lorsque celui-ci est administré à visée curative. Cela semble être notamment le cas en oncologie digestive où les fluoropyrimidines, en particulier le 5-FU, sont des molécules majeures proposées à la quasi-totalité des patients, sans alternative d'efficacité considérée comme comparable²⁷.
- **Afin de ne pas retarder le traitement, la recherche d'un déficit en DPD doit respecter un délai de sept à dix jours, de la prescription du test à la réception du résultat par le clinicien.**
- **La phase pré-analytique de la recherche systématique d'un déficit en DPD avant tout traitement par fluoropyrimidine ne doit pas conduire à des modifications organisationnelles majeures ou à une surcharge de travail trop élevée pour les services cliniques.**

²⁷ Un des experts oncologues a expliqué, lors de l'une des réunions plénières, que le raltitrexed constituait la principale alternative aux fluoropyrimidines en oncologie digestive mais que cette molécule était moins efficace que le 5-FU et ne potentialiserait pas, en outre, les effets de l'irinotécan ou de l'oxaliplatine.

Ces quatre éléments constituent les fondements conditionnant l'élaboration des présentes recommandations nationales.

1.2. Éléments généraux relatifs aux données de la littérature actuellement disponibles

La constitution du corpus bibliographique a mis en évidence que les études disponibles concernant la recherche d'un déficit en DPD en lien avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines étaient peu nombreuses et généralement de faible niveau de preuve.

Par ailleurs, ces études présentent pour la plupart un biais méthodologique car elles incluent généralement des patients recevant des combinaisons de traitements. Or, dans ce contexte, toutes les toxicités observées ne sont pas nécessairement dues aux fluoropyrimidines. En outre, comme relevé par certains experts cliniciens du groupe de travail, l'imputabilité d'une toxicité sévère aux fluoropyrimidines dépend principalement du moment de sa survenue, les fluoropyrimidines étant plutôt associées à des toxicités précoces, apparaissant essentiellement lors du premier cycle de traitement, tandis que les dérivés du platine et l'irinotécan seraient liés à des toxicités plus tardives. Or, la plupart de ces études prennent en compte toutes les toxicités sévères, quel que soit leur moment de survenue, mais considèrent *de facto* que la survenue d'événements toxiques est liée à un déficit en DPD.

Enfin, la quasi-totalité des études s'intéressant à établir un lien entre un déficit en DPD, qu'il soit recherché par génotypage ou phénotypage, et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines, repose sur une méthode inadaptée aux fondements énoncés dans le paragraphe précédent. En effet, les toxicités sévères considérées sont généralement toutes de grade ≥ 3 ²⁸. Il n'existe quasiment pas de données concernant plus spécifiquement les toxicités les plus graves (grades 4 et 5) qui sont celles dont la prévention devrait être priorisée. Celles-ci relèvent quasi exclusivement de publications de *case reports* présentant, de ce fait, un faible niveau de preuve²⁹.

²⁸ De ce fait, les toxicités qualifiées de « sévères » dans la suite du présent document correspondront, sauf précision contraire, à des toxicités de grade ≥ 3 .

²⁹ Faible niveau de preuve, de grade C, selon le guide méthodologique de la HAS : « Élaboration de recommandations de bonne pratique. Méthode de recommandations pour la pratique clinique ». Décembre 2010, mise à jour : mars 2016.

2. GÉNOTYPAGE *DPYD*

Après sélection des études s'intéressant au génotypage *DPYD*, qui correspond actuellement à une recherche d'un nombre limité de variants au sein de ce gène, une analyse critique de leur qualité méthodologique a été menée en considérant les éléments contextuels suivants :

- bien qu'il existe des méta-analyses étudiant le lien entre certains variants *DPYD* et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines, et que ce type de publication soit théoriquement associé à un niveau de preuve élevé, la fiabilité des conclusions émises peut être affectée par :
 - les très faibles fréquences populationnelles des principaux variants *DPYD* recherchés, les effectifs de patients porteurs restant faibles dans ces méta-analyses, malgré le regroupement de plusieurs études, et très majoritairement composés de patients hétérozygotes ;
 - le nombre limité d'études disponibles, conduisant ces méta-analyses à reposer sur des types hétérogènes d'études (études prospectives non contrôlées, prospectives-rétrospectives et rétrospectives), avec des niveaux de preuve faible à intermédiaire et des méthodes de plus ou moins bonne qualité ;
 - la conduite des méta-analyses sur la base des études et non des données individuelles de patients, à l'exception du PHRC FUSAFE pour lequel seuls quelques résultats préliminaires sont à l'heure actuelle disponibles.
- peu d'études publiées ultérieurement aux méta-analyses ont été identifiées et celles retenues présentent des niveaux de preuve hétérogènes (études prospectives non contrôlées et prospectives-rétrospectives) ;
- si les résultats disponibles du PHRC FUSAFE ont été pris en compte, il est à noter qu'il s'agit de données préliminaires, brutes et non ajustées ;
- il n'existe quasiment pas de données publiées concernant des patients porteurs d'un variant *DPYD* à l'état homozygote.

Les résultats détaillés de cette analyse des données de la littérature disponibles sont présentés en Annexe 4 (tableaux 11 à 18), ce chapitre intégrant les principaux éléments et certaines précisions apportées par les experts lors des réunions plénières. Les experts se sont montrés globalement en accord avec l'ensemble des conclusions formulées et présentées lors de la deuxième session plénière de l'expertise.

2.1. Capacité du génotypage *DPYD* à prédire la survenue de certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines

Tableau 6. Association des quatre principaux variants *DPYD* avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3) et performances prédictives de la recherche de ces variants

<i>DPYD</i> *2A
Corpus bibliographique
Trois méta-analyses (8, 9, 54), une étude prospective-rétrospective (55), une étude observationnelle prospective (40).
Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines
- Pour les méta-analyses de Terrazzino <i>et al.</i>, colligeant les données de 3 499 patients dont 57 porteurs du variant <i>DPYD</i>*2A, et de Meulendijks <i>et al.</i>, réunissant les données de 5 737 patients dont 60 porteurs, une association significative est mise en évidence, avec un OR³⁰ de 5,4 ($p < 0,001$) pour la première et un RR de 2,9 ($p < 0,0001$) pour la seconde (8, 9). - Pour la méta-analyse de Rosmarin <i>et al.</i>, qui comprend quatre études communes avec la méta-analyse de Terrazzino <i>et al.</i> et qui ne précise pas le nombre de porteurs du variant <i>DPYD</i>*2A, une absence d'association est mise en évidence chez les 1 035 patients traités par capécitabine, avec un OR de 3,0 ($p = 0,11$), et association à la limite de la significativité pour les 732 patients sous monothérapie de 5-FU en perfusion, avec un OR de 6,7 ($p = 0,0075$ pour un seuil de significativité à 0,0048) (54). - Ultérieurement à ces méta-analyses, l'étude de Toffoli <i>et al.</i>, incluant 603 patients dont 12 porteurs hétérozygotes du variant <i>DPYD</i>*2A, et celle d'Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, s'intéressant à 243 patients dont trois porteurs hétérozygotes, ont retrouvé une association significative entre la présence du variant <i>DPYD</i>*2A et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines, avec un OR de 12,6 ($p = 0,003$) pour la première et de 5,7 ($p = 0,041$) pour la seconde (40, 55).
Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines
- Pour la méta-analyse de Terrazzino <i>et al.</i> et les études de Toffoli <i>et al.</i> et d'Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, les estimations de la sensibilité de la recherche du variant <i>DPYD</i>*2A à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines sont comprises entre 5 et 8 % (9, 40, 55). - Une seule étude, celle de Toffoli <i>et al.</i>, propose une estimation de VPP à hauteur de 67 % (55).
Synthèse
- L'association significative retrouvée entre la présence du variant <i>DPYD</i>*2A et la survenue de toxicités graves sous fluoropyrimidines dans la quasi-totalité des études disponibles (incluant deux méta-analyses), avec une amplitude d'OR/RR constamment assez élevée, soutient l'existence d'une association probable entre la présence de ce variant et certaines toxicités sévères, cohérente avec l'inactivité fonctionnelle du variant. - La sensibilité rapportée pour la recherche de ce variant est très faible, et la VPP modérée.

³⁰ Les intervalles de confiance des estimations d'OR, RR et performances prédictives mentionnés dans le chapitre 4 sont détaillés au sein des tableaux d'analyse de la littérature en Annexe 4.

DPYD*13

Corpus bibliographique

- Une méta-analyse (8), deux études prospectives-rétrospectives (38, 55).
- Très peu d'études rapportent des données relatives au variant *DPYD**13, probablement du fait de la très faible fréquence populationnelle de ce variant.

Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Pour la méta-analyse de Meulendijks *et al.* (2015), colligeant les données de 5 616 patients mais seulement 11 porteurs hétérozygotes du variant *DPYD**13, une association significative est mise en évidence, avec un RR de 4,4 ($p < 0,0001$), la faiblesse des effectifs a été prise en compte dans l'analyse statistique *via* l'utilisation d'une méthode exacte non conditionnée par une distribution normale des données (8).
- Les études de Toffoli *et al.*, incluant 595 patients dont deux porteurs hétérozygotes du variant *DPYD**13, et de Meulendijks *et al.* (2017), s'intéressant à 1 605 patients dont trois porteurs hétérozygotes, ne retrouvent pas d'association significative, avec des OR néanmoins assez élevés, de 6,0 ($p = 0,131$) pour la première et de 5,3 (P value non précisée) pour la seconde (38, 55).

Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères globales sous fluoropyrimidines

- Pour la méta-analyse de Meulendijks *et al.*, la sensibilité de la recherche du variant *DPYD**13 à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines est estimée à 0,3 % et la VPP à 46 % (55).

Synthèse

- La très faible fréquence des patients porteurs du variant *DPYD**13 affecte la possibilité de conclure de façon fiable à une association entre ce variant et les toxicités sévères sous fluoropyrimidines. Néanmoins, cette association semble probable compte tenu de la cohérence entre :
 - la significativité des résultats d'une méta-analyse ayant pris en compte la faiblesse des effectifs ;
 - le niveau assez élevé des OR rapportés dans leur ensemble ;
 - la forte diminution d'activité fonctionnelle du variant rapportée par les données *in vitro* et *ex vivo*.
- La sensibilité rapportée pour la recherche de ce variant est très faible, et la VPP faible.

c.2846A>T

Corpus bibliographique

- Deux méta-analyses (8, 9), deux études prospectives-rétrospectives (38, 55), une étude observationnelle prospective (40), une analyse poolée de trois études prospectives (50).

Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Pour les méta-analyses de Terrazzino *et al.*, colligeant les données de 2 308 patients, dont 34 porteurs du variant c.2846A>T, et de Meulendijks *et al.*, réunissant les données de 7 318 patients dont 85 porteurs, une association significative est mise en évidence, avec un OR de 8,2 ($p < 0,001$) pour la première et un RR de 3,0 ($p < 0,0001$) pour la seconde (8, 9).
- Pour les études de Toffoli *et al.*, publiées ultérieurement aux méta-analyses, incluant 588 patients dont cinq porteurs hétérozygotes du variant c.2846A>T, et d'Etienne-Grimaldi *et al.*, s'intéressant à 243 patients dont trois porteurs hétérozygotes, une association significative est retrouvée, avec un OR de 7,8 ($p = 0,0048$) pour la première et un RR de 5,7 ($p = 0,041$) pour la seconde (40, 55).
- Publiées ultérieurement aux méta-analyses, les deux études de Meulendijks *et al.* de 2017, incluant respectivement 547 patients, dont six porteurs du variant c.2846A>T, et 185 patients, dont cinq porteurs hétérozygotes, une absence d'association est observée, avec un OR de 4,5 ($p = 0,129$) pour la première et de 1,7 ($p = 0,58$) pour la seconde (38, 50).

c.2846A>T

Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Pour la méta-analyse de Terrazzino *et al.* et les études de Toffoli *et al.* et d'Etienne-Grimaldi *et al.*, les estimations de la sensibilité de la recherche du variant c.2846A>T à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines sont comprises entre 3 et 6,7 % (9, 40, 55).
- Aucune estimation de VPP n'est proposée.

Synthèse

- Il existe une association probable entre la présence du variant c.2846A>T et la survenue de certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines au vu de la cohérence entre :
 - la significativité de cette association retrouvée dans quatre études (incluant deux méta-analyses) parmi les six retenues, avec des amplitudes d'OR ou RR assez élevées ;
 - et la diminution d'activité de l'enzyme rapportée *in vitro* et *ex vivo*, même si cette diminution apparaît vraisemblablement très inférieure à celles attribuées aux variants *DPYD**2A et *DPYD**13.
- La sensibilité rapportée pour la recherche de ce variant est très faible, et la VPP non documentée.

HapB3

Corpus bibliographique

- Une méta-analyse (8), une étude prospective-rétrospective (38), une étude observationnelle prospective (40), une analyse poolée de trois études prospectives (50), une étude ancillaire d'un essai randomisé de phase III (56).

Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Pour la méta-analyse de Meulendijks *et al.*, colligeant les données de 4 261 patients dont 174 porteurs hétérozygotes du variant HapB3 et trois porteurs homozygotes, une association significative est mise en évidence, avec un RR de 1,6 ($p < 0,0001$) (8).
- Pour toutes les autres études, publiées ultérieurement à la méta-analyse et incluant, respectivement, 1 228 patients dont 78 porteurs du variant HapB3, 243 patients dont quatre porteurs hétérozygotes, 547 patients dont 22 porteurs, 185 patients dont 15 porteurs, aucune association n'est retrouvée (38, 40, 50, 56).

Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Pour la méta-analyse de Meulendijks *et al.*, la sensibilité de la recherche du variant HapB3 à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines est estimée à 6,4 % et la VPP à 41 % (8).

Informations complémentaires apportées par les experts

- Plusieurs experts pharmacologues, effectuant actuellement le génotypage *DPYD* au sein de leurs laboratoires, ont exprimé avoir certaines incertitudes quant à la pertinence de la recherche du variant HapB3 du fait, notamment, d'un certain nombre de patients porteurs de ce variant et pour lesquels les résultats de phénotypage sont normaux. L'un des experts a précisé ne pas préconiser de diminution de posologie initiale dans une telle situation.

Synthèse

- Les éléments disponibles relatifs à HapB3 ne permettent pas de confirmer l'existence d'une association forte entre la présence de ce variant et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines. En effet :
 - une seule étude (méta-analyse) conclut à une association significative mais avec un RR d'amplitude faible, les quatre autres études ne retrouvant pas d'association significative ;
 - le mécanisme d'impact fonctionnel du variant HapB3 sur la DPD n'est pas bien élucidé, il n'y a pas de données de mesure d'activité DPD *in vitro* et les données *ex vivo* suggèrent un impact limité et mal évalué de ce variant sur l'activité de la DPD ;
 - plusieurs experts du groupe de travail ont confirmé l'existence d'incertitudes quant à la pertinence clinique de ce variant.
- La sensibilité rapportée pour la recherche de ce variant est très faible, et la VPP faible.

Corpus bibliographique

- Une méta-analyse (16), deux études prospectives-rétrospectives (38, 55), une étude observationnelle prospective (40).

Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Pour la méta-analyse FUSAFE, colligeant les données de 7 782 patients dont 192 porteurs hétérozygotes des variants DPYD*2A, *13 ou c.2846A>T, une association significative est mise en évidence à l'égard des toxicités hématologiques et digestives de grade 4, avec un OR de 9,2 (p<0,0001) (16).
- L'étude d'Etienne-Grimaldi *et al.*, s'intéressant aux variants DPYD*2A, *13 et c.2846A>T, retrouve également une association significative à l'égard des toxicités de grades 3-4, avec un OR de 6,7 (p<0,001) (40).

Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Les études de Toffoli *et al.* et d'Etienne-Grimaldi *et al.* proposent des estimations de sensibilité de la recherche combinée des variants DPYD*2A, *13 et c.2846A>T à l'égard de la survenue de toxicités sévères (grades 3-4) sous fluoropyrimidines de 12 et 17 %. Les estimations des VPP sont de 61 et 71 % respectivement (40, 55).
- Pour la méta-analyse FUSAFE, ces estimations sont de 11 % pour la sensibilité et de 35 % pour la VPP à l'égard des toxicités hématologiques et digestives de grade 4.
- Pour l'étude de Meulendijks *et al.*, la sensibilité de la recherche combinée des variants DPYD*13, c.2846A>T et HapB3 à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines est estimée à 6,0 % et la VPP à 13 % (38).
- Ces faibles sensibilités peuvent s'expliquer, entre autres facteurs, par l'existence probable d'autres variants délétères DPYD actuellement non identifiés ou non validés cliniquement (27-29, 40). En ce sens, en ajoutant à la recherche des trois principaux variants celle de quatre autres variants ayant montré un effet délétère *in vitro*, l'étude d'Etienne-Grimaldi *et al.* (40) rapporte une augmentation de la sensibilité du génotypage à l'égard de la survenue de toxicités de grades 3-4 sous fluoropyrimidines, la sensibilité étant estimée alors à 27 % avec une VPP de 73 %.

Synthèse

- L'intérêt du génotypage DPYD actuellement basé sur la recherche de trois voire quatre variants apparaît fortement limité par une très faible sensibilité et une faible VPP.

2.2. Utilité clinique du génotypage *DPYD*

Les études évaluant l'utilité clinique du génotypage *DPYD* doivent s'attacher à montrer que les résultats de ce génotypage permettent de mettre en œuvre des adaptations effectives de doses conduisant à réduire significativement le nombre de toxicités sévères dues au traitement, sans pour autant impacter son efficacité.

Il n'existe à ce jour aucune étude clinique prospective contrôlée comparant un bras avec recherche d'un déficit en DPD suivie d'ajustements posologiques respectant les préconisations d'une RBP *versus* un bras contrôle sans stratégie de dépistage avant traitement. Selon les RBP, une telle étude ne serait pas éthique eu égard aux données disponibles sur le sujet. Pour corroborer ce positionnement, il peut être souligné qu'une étude, publiée en 2017, qui prévoyait d'inclure deux groupes de patients, le premier avec recherche d'un déficit en DPD avant traitement, le second sans, a été arrêtée prématurément lorsqu'un patient du bras contrôle, qui s'est avéré être déficitaire complet en DPD, est décédé (11).

Dans ce contexte, seules deux études s'intéressant à l'utilité clinique du génotypage *DPYD* ont été identifiées lors de l'établissement du corpus bibliographique initial sur lequel ont reposé les échanges au cours des réunions du groupe de travail. Si l'étude rétrospective de Lunenburg *et al.* est évoquée à titre uniquement informatif compte tenu de son très faible niveau de preuve³¹, celle, prospective et multicentrique, publiée par Deenen *et al.* en 2016, s'est attachée, avant lancement d'un traitement par fluoropyrimidines, à rechercher le variant *DPYD**2A chez 1 631 patients (13). Celui-ci a été identifié à l'état hétérozygote chez 22 patients, dont 18 patients qui se sont vu proposer une diminution de posologie initiale de fluoropyrimidine, avec réajustement ultérieur en fonction de la tolérance au traitement. L'incidence des toxicités sévères chez ces patients a été comparée à deux groupes de patients ayant reçu des doses standards de fluoropyrimidine : une cohorte historique incluant 48 porteurs hétérozygotes du variant *DPYD**2A, d'une part, et les patients de l'étude non porteurs du variant *DPYD**2A, d'autre part. Chez les patients porteurs du variant *DPYD**2A ayant reçu une dose initiale ajustée de fluoropyrimidine, en comparaison avec les patients de la cohorte historique, l'étude conclut à une diminution significative d'incidence des toxicités sévères (28 % *versus* 73 % ; $p < 0,001$) et à une diminution des décès (0/18 *versus* 5/48). L'incidence des toxicités sévères est par ailleurs considérée comme similaire entre les porteurs du variant *DPYD**2A ayant reçu une dose initiale ajustée et les non porteurs du variant *DPYD**2A ayant reçu une dose standard (28 % *versus* 23 % ; $p = 0,64$). Il doit néanmoins être souligné que cette étude présente des limites méthodologiques importantes devant modérer l'interprétation de ces résultats, parmi lesquelles le faible taux de porteurs du variant *DPYD**2A identifiés de façon prospective et le recours à une cohorte historique où la prévalence des patients porteurs du variant *DPYD**2A est supérieure à celle des patients de l'étude. L'intervalle très large (17-91 %) des doses finalement administrées aux patients de l'étude porteurs du variant *DPYD**2A suggère que la diminution de 50 % de la dose initiale (1^{er} cycle) doit être réévaluée lors des cycles suivants.

Comme évoqué dans la partie Méthodes du présent document, la veille bibliographique réalisée ultérieurement a conduit à identifier et retenir une nouvelle étude menée par la même équipe de recherche³². Si le protocole est similaire à celui adopté en 2016 par Deenen *et al.*, présentant donc les mêmes limites méthodologiques, l'étude s'est élargie, s'attachant à la recherche combinée des quatre

³¹ Cette étude ne répond pas aux critères de sélection définis dans la partie « Méthodes » du présent document mais a été intégrée au corpus bibliographique à la demande de certains experts.

³² M.J. Deenen, L.M. Henricks, D. Meulendijks, C.A.T.C. Lunenburg et A.B.P. van Kuilenburg, co-auteurs de nombreuses publications mentionnées dans le présent document, sont tous affiliés au *Netherlands Cancer Institute* (Amsterdam, Pays-Bas).

principaux variants *DPYD* (37). Publiés après les sessions plénières du groupe de travail, ces résultats n'ont pu être pris en compte pour l'établissement des conclusions émises à l'issue de ces réunions. Néanmoins, leur analyse montre qu'ils n'apportent *a priori* pas de nouvelle information susceptible d'impacter les conclusions relatives au génotypage *DPYD* du présent rapport.

- En cohérence avec les résultats déjà apportés par Deenen *et al.*, une diminution du risque de toxicités sévères est retrouvée chez les patients porteurs du variant *DPYD**2A ayant reçu une dose initiale ajustée de fluoropyrimidine (de l'ordre de - 50 %, conformément à la RBP du KNMP) en comparaison d'une cohorte historique de patients porteurs de variants *DPYD* ayant reçu une dose standard (dérivée de la méta-analyse de Meulendijks *et al.* de 2015) (RR = 1,31 [0,63-2,73] *versus* 2,87 [2,14-3,86]).
- À l'inverse, malgré l'ajustement posologique chez des patients porteurs du variant c.2846A>T ou HapB3, le risque de toxicités sévères apparaît similaire à celui de la cohorte historique (RR = 2,00 [1,19-3,34] *versus* 3,11 [2,25-4,28] pour c.2846A>T et RR = 1,69 [1,18-2,42] *versus* 1,72 [1,22-2,42] pour HapB3) tandis que l'incidence de survenue de ces toxicités reste supérieure à celle des patients de l'étude non porteurs de ces variants (47 % pour c.2846A>T et 39 % pour HapB3 *versus* 23 %) ³³.
- Un seul patient étant porteur de ce variant *DPYD**13, l'utilité clinique de la recherche de ce variant n'a pu être explorée.
- Enfin, d'une manière générale, l'incidence des toxicités sévères reste significativement supérieure chez les patients porteurs d'un variant *DPYD* ayant reçu une dose initiale ajustée de fluoropyrimidine en comparaison des patients de l'étude non porteurs de l'un des quatre variants et ayant reçu une dose standard (33/85 [39 %] *versus* 231/1018 [23 %] ; p=0,0013).

La prise en compte de l'ensemble des résultats de l'étude amène les auteurs à conclure que la réduction de 50 % de la dose initiale de fluoropyrimidine est pertinente chez les porteurs des variants *DPYD**2A ou *DPYD**13 mais non optimale chez les porteurs du variant c.2846A>T et HapB3.

³³ Significativité non renseignée pour l'ensemble de ces résultats.

2.3. Synthèse concernant le génotypage *DPYD*

Les résultats de l'analyse critique des données scientifiques disponibles, confirmés et complétés par la consultation des experts du groupe de travail, amènent aux conclusions générales suivantes.

- Au vu des résultats d'études d'association, généralement concordants, et des amplitudes d'OR ou de RR assez élevées, il semble exister une association significative entre la présence des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T du gène *DPYD* et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3), association en outre cohérente avec l'impact fonctionnel présumé attribué à chaque variant. Il est néanmoins à noter que la très faible fréquence des patients porteurs du variant *DPYD**13 affecte la possibilité de conclure de façon tout à fait fiable en ce qui le concerne.
- Le niveau de preuve d'une association entre le variant HapB3 et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines est considéré comme insuffisant.
- Les seuls patients déficitaires complets pouvant potentiellement être identifiés par le génotypage des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T sont les porteurs homozygotes de *DPYD**2A, voire de *DPYD**13. La fréquence de ces variants étant extrêmement faible dans les populations d'origine caucasienne et quasiment nulle dans les autres populations, elle ne peut expliquer qu'un nombre très limité de cas de déficits complets (Tableau 18). De plus, en cas d'identification de deux variants différents chez un même patient, le recours au génotypage seul ne permet pas de savoir si ces variants sont portés sur le même allèle ou non et une approche complémentaire par phénotypage de la DPD apparaît donc nécessaire.
- Concernant les déficits partiels en DPD, le génotypage, basé sur une recherche combinée des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T, présente les limites majeures suivantes : une très faible sensibilité et une VPP médiocre sur les toxicités de grade 3-4 ainsi qu'un intérêt restreint à la population caucasienne. En d'autres termes, cette approche ne permet d'identifier qu'une très faible partie des patients présentant un déficit en DPD (faible sensibilité) et peut, en outre, conduire à des diagnostics faussement positifs et à l'administration d'un traitement moins efficace (faible VPP).

Le génotypage *DPYD*, basé à l'heure actuelle sur la recherche de trois variants (*2A, *13 et c.2846A>T) dont l'association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines apparaît certes prouvée, ne peut répondre à l'objectif d'identifier avant tout les patients déficitaires complets en DPD, condition considérée comme indispensable pour recommander une méthode de recherche des déficits en DPD.

3. PHÉNOTYPAGE DPD

L'analyse critique des données scientifiques disponibles s'intéressant au phénotypage DPD ainsi que la consultation des experts du groupe de travail ont été menées avec l'objectif de déterminer s'il existait actuellement une technique de phénotypage capable d'identifier, avec fiabilité, les patients présentant une activité enzymatique DPD nulle ou très diminuée et dont le déploiement à l'échelle nationale pourrait être envisageable.

Très majoritairement utilisés en pratique clinique, le calcul du ratio UH2/U et la mesure de l'uracilémie, ont été étudiés. Les données scientifiques disponibles sont peu nombreuses et s'attachent essentiellement à :

- rechercher une association entre les résultats de ce phénotypage et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3), mais le plus souvent sans estimation précise d'OR ou RR ni de performances ;
- déterminer des valeurs seuils permettant de distinguer les patients déficitaires des non déficitaires, voire de caractériser différents niveaux de déficits.

Les résultats détaillés de l'analyse des données de la littérature sont présentés en Annexe 4 (Tableau 19), ce chapitre intégrant uniquement les principaux éléments et certaines précisions apportées par les experts lors des réunions plénières.

3.1. Capacité à prédire la survenue de certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines et utilité clinique du phénotypage DPD

3.1.1. Ratio UH2/U

► Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines et performances prédictives

Tableau 7. Association du ratio UH2/U avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3)

Corpus bibliographique
• Deux études observationnelles prospectives (12, 40).
Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines
• L'étude de Boisdron-Celle <i>et al.</i>, incluant 252 patients, rapporte une association significative entre le ratio UH2/U et le risque de toxicités sous 5-FU, la diminution de la valeur de ce ratio étant corrélée avec le grade de toxicité (12). • Celle d'Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, s'intéressant à 230 patients traités par capécitabine (seule ou en association), ne constate pas de différences significatives de ratios UH2/U entre patients développant ou non une toxicité de grade ≥ 3. (40).
Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines
• Une seule étude, l'étude de Boisdron-Celle <i>et al.</i>, rapporte des données de performances prédictives du ratio UH2/U à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (prévalence fixée à 20 %), avec une sensibilité évaluée à 82 % et une VPP à 49 %. Cependant, les modalités d'obtention de ces estimations, et particulièrement les effectifs de patients permettant d'aboutir à ces résultats ne sont pas précisés (12).

► Seuils d'interprétation des déficits

Le rapport UH2/U, comme l'uracilémie, étant des variables continues, l'interprétation des résultats de mesure de ces paramètres requiert la détermination et validation de valeurs seuils permettant de distinguer les patients déficitaires en DPD des patients non déficitaires, voire de distinguer plusieurs niveaux de déficits.

Les données scientifiques disponibles relatives au choix des valeurs seuils utilisées pour l'interprétation du rapport UH2/U sont peu nombreuses, émanant seulement de deux laboratoires (équipe 1 : études de Gamelin *et al.* et de Boisdron-Celle *et al.*, équipe 2 : études de Launay *et al.* de 2016 et 2017). Elles montrent une forte hétérogénéité des valeurs seuils du fait de différents facteurs, parmi lesquels la variabilité des méthodes analytiques utilisées (HPLC avec détection UV, barrette de diode ou MS-MS). Entre outre, les valeurs évoluent parfois avec le temps pour un même laboratoire.

Tableau 8. Valeurs seuils utilisées pour l'interprétation du rapport UH2/U dans la littérature

	Gamelin <i>et al.</i> 1999 (35)	Boisdron-Celle <i>et al.</i> 2007 (12)
Absence de déficit	UH2/U > 1,8	UH2/U > 6
Déficit en DPD	UH2/U < 1,8	UH2/U < 6
	Launay <i>et al.</i> , 2016 (6)	Launay <i>et al.</i> 2017 (10)
Absence de déficit	UH2/U > 4	UH2/U > 4
Zone grise		3 < UH2/U < 4
Déficit modéré	2 < UH2/U < 4	2 < UH2/U < 3
Déficit intermédiaire	1 < UH2/U < 2	1 < UH2/U < 2
Déficit profond	0,5 < UH2/U < 1	0,5 < UH2/U < 1
Déficit complet	UH2/U < 0,5	UH2/U < 0,5

Les experts pharmacologues ont confirmé l'hétérogénéité des méthodes analytiques utilisées d'un laboratoire à un autre (HPLC avec détection UV, barrette de diode ou MS-MS). Certains experts ont expliqué que la variabilité des valeurs seuils et des rapports UH2/U était, notamment, due à des problèmes d'interférences analytiques lorsque la détection est réalisée en UV, l'UH2 étant dans ce cas mesuré à une longueur d'onde non spécifique de 210 nm. En l'occurrence, selon les experts, ces problèmes d'interférences rendent certaines analyses ininterprétables et impactent la fiabilité de la technique. Or, l'HPLC couplée à une détection UV est actuellement la technique la plus répandue, celle couplée à la spectrométrie de masse, considérée plus fiable pour mesurer le ratio UH2/U, restant à l'heure actuelle une technologie accessible à un nombre relativement restreint de laboratoires.

Dans ce contexte, il a été confirmé que les valeurs seuils utilisées dépendaient du laboratoire, en fonction de leur expérience pratique et de la technique utilisée, comme en atteste le recueil ci-dessous des valeurs seuils de trois laboratoires différents où exercent certains membres du groupe de travail.

Tableau 9. Valeurs seuils utilisées pour l'interprétation du rapport UH2/U dans trois laboratoires où exercent certains membres du groupe de travail

	Laboratoire A	Laboratoire B	Laboratoire C
Absence de déficit	UH2/U > 5	UH2/U > 6	UH2/U > 13
Zone grise		5 < UH2/U < 6	10 < UH2/U < 13
Déficit partiel/intermédiaire	2 < UH2/U < 5	3 < UH2/U < 5	2 < UH2/U < 10
Déficit profond	1 < UH2/U < 2	1 < UH2/U < 3	1 < UH2/U < 2
Déficit complet	UH2/U < 1	UH2/U < 1	UH2/U < 1

► Utilité clinique

Les études évaluant l'utilité clinique d'un phénotypage de la DPD doivent s'attacher à montrer que les résultats de ce phénotypage permettent de mettre en œuvre des adaptations effectives de doses conduisant à réduire significativement le nombre de toxicités sévères dues au traitement, sans pour autant impacter son efficacité.

Trois études prospectives non contrôlées, menées par la même équipe scientifique, ont cherché à objectiver l'utilité clinique du ratio UH2/U mesuré, avant traitement, chez 65, 59 et 218 patients respectivement (6, 10, 57). En s'appuyant sur une échelle indicative, établie sur la base de l'expérience de l'équipe et comprenant plusieurs niveaux de déficits en DPD en fonction des valeurs d'UH2/U retrouvées, des adaptations posologiques ont été proposées aux cliniciens. Les auteurs concluent à une moindre toxicité chez les patients déficitaires en DPD dont les doses initiales ont été ajustées prospectivement, en comparaison d'un groupe contrôle historique pour l'une des études (57) ou de patients non déficitaires ayant reçu les doses « standard » pour les deux études les plus récentes (6, 10). Parallèlement, afin d'évaluer l'efficacité des traitements, des éléments relatifs à la survie sans progression et au taux de réponse ont été rapportés (données relatives à la survie non colligées).

Ces résultats doivent cependant être modérés du fait des éléments suivants :

- le pourcentage de patients diagnostiqués comme déficitaires en DPD apparaît anormalement très élevé dans l'étude de 2011 (48 %) pour évoluer ensuite fortement (23 % en 2016, 9 % en 2017), ce qui suggère l'existence de biais méthodologiques et/ou d'un statut encore en développement de la technique utilisée ;
- les incidences de toxicités sévères précoces sont particulièrement faibles au regard des données régulièrement rapportées dans la littérature. Pour exemple, dans le groupe de patients ayant théoriquement reçu des doses standards de 5-FU seul ou en association, il est rapporté une incidence globale des toxicités sévères précoces de 5 % alors que des incidences de 25 à 50 % sont plutôt retrouvées dans le traitement des cancers tête-cou (10). Ceci suggère également l'existence de biais méthodologiques inhérents aux études observationnelles non contrôlées et rappelle, par ailleurs, que la notion de posologie standard est relative, des ajustements posologiques étant réalisés, indépendamment de la problématique de la DPD, en fonction de différents facteurs majorant le risque toxique de certains patients (âge, état de santé général, comorbidités...).

3.1.2. Uracilémie

► Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines et performances prédictives

Tableau 10. Association de la mesure de l'uracilémie avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3)

Corpus bibliographique
Deux études observationnelles prospectives (12, 40) et une étude prospective rétrospective ayant fait l'objet de deux publications (15, 38).
Association avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines
- L'étude de Boisdron-Celle <i>et al.</i> rapporte une association significative entre l'uracilémie et le risque de toxicités sous 5-FU, l'augmentation de la valeur d'uracilémie étant corrélée avec le grade de toxicité (12). - Dans l'étude prospective-rétrospective hollandaise (qui excluait les patients porteurs du variant *2A), Meulendijks <i>et al.</i> rapportent sur 507 patients une association significative entre l'augmentation de l'uracilémie et le risque de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (15). Dans une seconde publication issue de la même étude, les auteurs distinguent quatre groupes de patients sur la base de la distribution des valeurs d'uracilémie mesurées avant traitement : $U < 13$ ng/ml (groupe 1, $n=500$), $13 \leq U < 13,8$ ng/ml (groupe 2, $n=16$), $13,9 < U \leq 16$ ng/ml (groupe 3, $n=17$) et $U > 16$ ng/ml (groupe 4, $n=17$) (38). Dans ce contexte : - il est indiqué que l'uracilémie serait une variable continue au regard de la prédiction des toxicités sévères globales précoces survenant sous fluoropyrimidines, avec une augmentation de l'OR de 2,75 ($p = 0,004$) lorsque l'uracilémie augmente de 10 ng/ml et une augmentation linéaire du risque de toxicités sévères tout au long d'un intervalle compris entre 8 et 20 ng/ml ; - les 34 patients des groupes 3 et 4 présentent un risque de toxicité globale sévère précoce sous fluoropyrimidines significativement augmenté en comparaison des 500 patients du groupe 1, avec des OR de 8,2 ($p=0,0004$) et 5,3 ($p=0,0087$) respectivement ; - la fréquence des décès toxiques est plus faible dans le groupe 1 (2/500, 0,4 %) que dans le groupe 4 (2/18, 11 %, $p=0,0011$) - L'étude d'Etienne-Grimaldi <i>et al.</i> ne constate pas de différences significatives de valeurs d'uracilémie entre patients développant ou non une toxicité de grade ≥ 3. Par contre, l'association devient significative vis-à-vis de la survenue de toxicités de grade 4-5 lorsque ces valeurs sont supérieures ou égales à 16 ng/ml, avec un RR de 20,6 ($p=0,021$) (40).
Performances prédictives à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines
- Comme pour le ratio $UH2/U$, des performances prédictives de l'uracilémie à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines sont proposées par l'étude de Boisdron-Celle <i>et al.</i>, avec une sensibilité évaluée à 88 % et une VPP à 42 % (12). - L'étude d'Etienne-Grimaldi <i>et al.</i> évalue la sensibilité et la VPP de mesures d'uracilémie supérieures ou égales à 16 ng/ml pour prédire des toxicités sévères précoces de grade 4 à respectivement 67 % et 11 % (40). - Pour Meulendijks <i>et al.</i>, la sensibilité des mesures d'uracilémie supérieures ou égales à 13,9 ng/ml à l'égard de la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines est estimée à 18 % et la VPP à 35 % (38).

► Seuils d'interprétation des déficits partiels

Les études de Boisdron-Celle *et al.* (12), Etienne-Grimaldi *et al.* (40) et Meulendijks *et al.* (38) convergent vers une valeur seuil d'uracilémie de 14-16 ng/ml permettant de distinguer déficit partiel de l'absence de déficit :

- 15 ng/ml pour la première, sur la base d'une courbe ROC ;
- 16 ng/ml pour la deuxième, sur la base d'une distribution par percentiles des valeurs d'uracilémie ;
- 16 voire 13,9 ng/ml pour la dernière, sur la base également d'une distribution par percentiles des valeurs d'uracilémie.

S'appuyant sur ces conclusions, les recommandations du consortium GPCO-Unicancer - RNPGx propose une valeur seuil de 16 ng/ml.

Il n'existe cependant pas de validation prospective de cette valeur sur une cohorte externe indépendante et certains éléments ne soutiennent pas totalement ce choix.

Par exemple, l'*abstract* de Milano *et al.* (58), qui présente les résultats préliminaires de l'étude d'Etienne-Grimaldi *et al.* de 2017 et qui s'intéresse à 286 patients traités par capécitabine, retrouve des valeurs d'uracilémie plus élevées chez les patients développant des toxicités sévères (médiane = 12,7 ng/ml) que chez ceux n'en développant pas (médiane = 10,2 ng/ml). Cependant, si la différence est significative sur la base d'une courbe ROC ($p=0,014$), elle apparaît néanmoins trop faible pour prédire une toxicité *via* la mesure de l'uracilémie, et le fort recouvrement des valeurs entre patients développant une toxicité sévère (1^{er}-3^e quartile : 9-17 ng/ml) et ceux n'en développant pas (1^{er}-3^e quartile : 8-13 ng/ml) ne s'accorde pas avec la fixation d'un seuil discriminant autour de 16 ng/ml.

Etienne-Grimaldi *et al.* proposent une valeur seuil d'uracilémie de 16 ng/ml pour distinguer les patients susceptibles de développer des toxicités de grade 4-5 des autres patients, sur la base d'une étude où les données d'uracilémie sont disponibles pour trois patients ayant subi de telles toxicités, les résultats individuels d'uracilémie étant les suivants : 16,7 ng/ml (patient décédé), 12,9 ng/ml (grade 4), et 22,0 ng/ml (grade 4). En l'occurrence, sur la base d'une valeur seuil de 16 ng/ml, un des patients ayant subi une toxicité de grade 4 devrait être considéré comme non déficitaire en DPD tandis que celui dont le décès est attribué aux fluoropyrimidines ne serait que très marginalement déficitaire. Néanmoins, il est à noter qu'il est possible que les toxicités grade 4-5 ayant affecté ces deux patients ne soient pas liées à un déficit en DPD, auquel cas il serait cohérent de retrouver une uracilémie normale ou proche de la normale chez ces patients.

Les experts pharmacologues du groupe de travail ont confirmé que les laboratoires utilisent, à l'heure actuelle, la valeur seuil d'uracilémie de 16 ng/ml pour distinguer les patients déficitaires partiels des patients non déficitaires, tout en attestant néanmoins que, si les données publiées convergent vers cette valeur, elles restent peu nombreuses et de faible niveau de preuve. En comparaison avec la mesure du ratio UH2/U, ils ont également précisé que les résultats de mesure de l'uracilémie ne dépendent pas de la technique analytique utilisée (absence de problèmes d'interférences analytiques en UV) et que la standardisation de cette méthode paraît réalisable rapidement du fait de la possibilité d'établir un seuil consensuel indépendant de la technique utilisée par le laboratoire et de la mise en place actuellement d'un contrôle de qualité externe (CQE).

► Seuils d'interprétation des déficits complets

Seule l'étude de Boisdron-Celle *et al.* (12) propose une valeur seuil d'uracilémie de 100 ng/ml pour distinguer les déficits complets en DPD des déficits partiels, en précisant que cette proposition repose sur l'expérience de l'équipe (aucune référence mentionnée). Cette valeur est reprise par les recommandations françaises de février 2018. Les pharmacologues du groupe de travail ont attesté que les données publiées ne permettent pas de définir précisément une valeur seuil de détection des déficits complets et que la valeur de 100 ng/ml, proposée dans les recommandations du consortium GPCO-Unicancer - RNP Gx, repose exclusivement sur un avis d'experts orienté par l'étude de Boisdron-Celle *et al.*

Cependant, selon eux, s'il est difficile de déterminer précisément ce seuil dans le cadre d'une étude clinique, du fait de la grande rareté des patients concernés, ces patients sont, dans leur pratique, facilement « repérables » par cette technique parce que présentant des valeurs extrêmes d'uracilémie.

Pour illustration, sur la base de leur expérience de quelques cas de mesures rétrospectives d'uracilémie chez des patients ayant subi une toxicité de grade 4-5 sous fluoropyrimidines en lien avec un déficit en DPD, les experts ont pu constater que les patients concernés présentaient globalement toujours des valeurs largement supérieures à 100 ng/ml. Un des experts a ainsi rapporté des valeurs de 786 et 1 158 ng/ml pour deux cas, en ajoutant que les rapports UH2/U étaient conjointement inférieurs à 0,1 et que, pour les valeurs « extrêmes », les résultats des deux techniques de phénotypage s'accordent souvent. Un autre expert a également rapporté deux cas de patients déficitaires complets dont les valeurs d'uracilémie étaient supérieures à 200 ng/ml.

Selon les experts, sur la base d'une mise en commun des données d'uracilémie des laboratoires pratiquant cette mesure, il serait donc *a priori* possible de proposer une valeur seuil pertinente pour identifier les déficits complets, valeur qui pourrait être utilisée comme un standard à l'échelle nationale.

► Utilité clinique

Il n'a été identifié aucune étude où des ajustements posologiques de fluoropyrimidines auraient été proposés (et mis en œuvre) prospectivement sur la base de résultats d'uracilémie (*i.e.* aucune étude d'utilité clinique).

3.2. Synthèse concernant le phénotypage DPD

Les résultats de l'analyse méthodologique des données scientifiques disponibles, confirmés et complétés par la consultation des experts, amènent aux conclusions générales suivantes.

- L'association entre ratio UH2/U et toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3) est mal démontrée et les données de performances de ce rapport à l'égard de la survenue de ces toxicités n'ont été estimées que par une seule étude, sans que les modalités retenues pour les obtenir ne soient précisées.
- L'association entre uracilémie et toxicités sévères sous fluoropyrimidines semble mieux démontrée mais les performances prédictives de cette méthode de phénotypage sont faibles.

- Finalement, l'analyse méthodologique des données scientifiques se heurte au nombre limité de publications de hauts niveaux de preuve sur le sujet. Par ailleurs, les données scientifiques ne distinguent pas les grades de toxicités observées (grades 3, 4 voire 5 confondus), ni les déficits complets des déficits partiels. Cette analyse ne répond donc que partiellement aux priorités émises par les experts, à savoir l'identification des patients déficitaires complets les plus susceptibles d'être atteints par des toxicités de grade 4 voire 5. Elle ne permet pas par exemple d'estimer les performances prédictives du rapport UH2/U et de l'uracilémie quant à l'identification de ces patients.
- Néanmoins, les experts pharmacologues pratiquant le phénotypage se sont accordés sur le fait que, dans leurs pratiques, les patients déficitaires complets en DPD présentent des valeurs extrêmes de rapport UH2/U et d'uracilémie, sans qu'ils aient pu s'accorder sur la valeur d'un seuil permettant d'identifier ces patients.
- D'un point de vue analytique, la mesure du rapport UH2/U ne semble pas fiable avec la technique actuellement la plus répandue, l'HPLC-UV, et les valeurs seuils utilisées sont fortement hétérogènes d'un laboratoire à un autre. Pour ces raisons, cette méthode apparaît à ce jour inadaptée à la mise en œuvre d'une recherche systématique des déficits en DPD sur le plan national. Quelle que soit la technique utilisée (HPLC-UV, HPLC avec détection par barrette de diode ou HPLC-SM), la mesure de l'uracilémie semble plus fiable et sa standardisation apparaît réalisable rapidement du fait de l'existence d'un seuil commun permettant de distinguer les déficitaires partiels en DPD des non déficitaires, d'une part, et de la mise en place d'un CQE, d'autre part. En outre il semble que cette méthode puisse être en mesure, autant que possible, d'identifier les patients déficitaires complets qui présentent constamment des valeurs d'uracilémie atypiquement élevées.

***In fine*, au vu de ces éléments, les conclusions essentielles suivantes sont apparues comme consensuelles :**

- **la mesure de l'uracilémie semble la méthode la plus adaptée à l'identification des patients déficitaires complets, sous réserve de la détermination d'un seuil permettant de distinguer ces patients.** En l'absence de données scientifiques sur cet aspect, ce seuil pourrait être établi *via* la mise en commun des données d'uracilémie des laboratoires français pratiquant cette recherche. **Les patients présentant une valeur intermédiaire d'uracilémie seraient considérés comme étant à risque accru de toxicité sous fluoropyrimidines ;**
- dans tous les cas, **les conditions d'administration des fluoropyrimidines** (dose standard, ajustement de la posologie initiale ou contre-indication et alternative thérapeutique) **ainsi que la surveillance en cas de prescription de ces molécules devront être discutées en réunion de concertation pluridisciplinaire** ou, tout du moins, résulter d'un dialogue clinico-biologique, compte tenu du fait que ces conditions d'administration ne dépendent pas que de la présence d'un déficit en DPD (complet ou partiel), mais également d'autres éléments déjà habituellement pris en compte (âge, état général, comorbidités...).

4. APPROCHES COMBINÉES GÉNOTYPAGE-PHÉNOTYPAGE

Peu d'études documentent les performances prédictives de différentes approches combinées de phénotypage et de génotypage. Ces approches sont en outre hétérogènes en fonction des études, puisqu'elles associent la recherche d'un nombre variable de variants *DPYD* à une ou plusieurs méthode(s) de phénotypage.

Par ailleurs, il existe deux possibilités pour combiner et interpréter les résultats individuels de deux méthodes recherchant un déficit en DPD :

- pour la première, le résultat combiné est considéré comme positif uniquement si les deux résultats individuels sont eux-mêmes positifs (méthode A ET méthode B) ;
- pour la seconde, il suffit qu'un des deux résultats individuels soit positif pour que le résultat combiné soit considéré comme positif, l'interprétation finale tenant compte, dans ce cas, du résultat individuel le plus péjoratif (méthode A ET/OU méthode B).

Les principaux résultats des études identifiées sont présentés dans le tableau 20 en Annexe 4 du présent document et une synthèse en est présentée ci-dessous.

4.1. Capacité des approches combinées génotypage-phénotypage à prédire certaines toxicités sévères sous fluoropyrimidines

- Dans une étude déjà précédemment mentionnée, Boisdrion-Celle *et al.* proposent des estimations de performances pour différentes approches combinées à l'égard des toxicités de grade ≥ 3 (12). Les données sur lesquelles reposent ces estimations ne sont pas détaillées.
 - La combinaison « génotypage ET uracilémie » se caractérise notamment par des valeurs de sensibilité similaires à celles du génotypage seul (47 %) alors que les performances calculées de la combinaison « génotypage ET/OU uracilémie » sont égales à celles de l'uracilémie seule (88 %).
 - Il en est de même pour la combinaison « génotypage ET ratio UH2/U » pour laquelle les performances sont proches de celle du génotypage seul alors que la combinaison « génotypage ET/OU ratio UH2/U » est associée à des performances proches de celle du ratio UH2/U seul.
 - Les meilleures performances globales sont obtenues avec la combinaison « ratio UH2/U ET/OU uracilémie » pour laquelle des sensibilités et VPP de 94 % et 89 % (pour une prévalence à 10 %) sont rapportées.
 - Cependant, les auteurs concluent que l'approche la plus appropriée est celle combinant génotypage et uracilémie suivie par une détermination du rapport UH2/U en cas de suspicion de déficit, avec une sensibilité revendiquée de 83 % pour cette approche (« génotypage ET/OU uracilémie ET UH2/U »).
- Dans l'étude d'Etienne-Grimaldi *et al.* de 2017, il est rapporté que la combinaison « génotypage (recherche des variants *2A, *13 et c.2846A>T) ET/OU uracilémie (U > 16 ng/ml) » n'améliore pas les performances prédictives du génotypage seul à l'égard des toxicités de grade 3-4 (sensibilité de 17 % et VPP de 71 % pour le génotypage seul *versus* sensibilité de 21 % et VPP de 24 % pour l'approche combinée). Concernant la prédiction des toxicités de grade 4, si l'approche combinée semble augmenter la sensibilité de 20 % à 67 % (sur la base néanmoins de seulement quatre patients ayant subi des toxicités de grade 4), la VPP de cette approche apparaît légèrement inférieure à celle du génotypage seul (14 %) et particulièrement basse, estimée à moins de 10 %. Les meilleures performances à l'égard des toxicités de grade 3-4 sont apportées par le génotypage seul

de sept variants (*DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T + quatre variants qualifiés de délétères *in vitro*) (sensibilité = 27 %, spécificité = 73 %) (49).

- Dans l'étude de Meulendijks *et al.* publiée en 2017, les auteurs estiment la sensibilité de la combinaison « génotypage (recherche des variants c.2846A>T, *DPYD**13 et HapB3) ET/OU du uracilémie (U > 13,9 ng/ml) » légèrement supérieure à celle du phénotypage seul (22 % *versus* 18 %), mais la VPP du phénotypage seul est *a contrario* substantiellement supérieure à celle de la combinaison des deux méthodes (35 % *versus* 24 %) (38).

Les trois publications convergent à montrer que l'utilisation combinée du phénotypage et du génotypage, avec prise en compte du résultat le plus péjoratif des deux méthodes, augmente la sensibilité de la recherche d'un déficit en DPD au détriment de sa valeur prédictive positive.

4.2. Utilité clinique

Il n'a été identifié aucune étude clinique où la dose initiale de fluoropyrimidines des patients aurait été adaptée prospectivement sur la base des résultats d'une recherche de déficit en DPD *via* une approche combinée génotypage ET/OU phénotypage

4.3. Approche multiparamétrique de la société ODPM

Comme évoqué ci-dessus, certains professionnels, ayant participé à des publications mentionnées dans le présent document (Gamelin *et al.* [1999], Boisdron-Celle *et al.* [2007] (12, 35)) et affiliés à l'ICO d'Angers, ont mis au point et breveté une méthode, dite multiparamétrique, de détection des déficits en DPD et d'aide à l'adaptation posologique des fluoropyrimidines, méthode commercialisée *via* la société ODPM (59). Cette société s'appuie sur une approche associant phénotypage et génotypage et utilise un algorithme (5-FU^{ODPMTox}) combinant les résultats obtenus avec certaines caractéristiques cliniques du patient (dont l'âge et le sexe...) et le type de traitement envisagé, en vue de proposer une dose adaptée à chaque patient pour la première cure de traitement. Il est à noter que les données cliniques et les paramètres relatifs à la stratégie thérapeutique, qui s'ajoutent à l'approche combinée de phénotypage et de génotypage, sont ceux classiquement pris en compte par les cliniciens pour ajuster le traitement de leurs patients.

La société revendique, sur son site internet, une sensibilité de 96 % pour cette approche qui, selon ce même site, aurait été validée sur plus de 26 000 patients pour lesquels elle aurait permis d'éviter la quasi-totalité des toxicités graves voire mortelles. Or, ces performances semblent issues d'une étude dont quelques résultats ont été présentés dans un poster soumis par Boisdron-Celle *et al.* dans le cadre de l'ESMO 20th *World Congress on Gastrointestinal Cancer* qui s'est tenu en juin 2018 (60, 61). En sus de la sensibilité de 96 %, une VPP de 97 % est rapportée, ces performances ayant apparemment été estimées sur la base d'une étude rétrospective portant sur une population, *a priori* arbitrairement choisie, de 462 patients ayant reçu des fluoropyrimidines, incluant 6 % de patients décédés et 49 % ayant subi des toxicités de grade 3-4 à l'issue de leur premier ou second cycle de traitement. Les données présentées sur ce poster et l'*abstract* associé n'ont à ce jour pas fait l'objet d'une publication intégrale dans une revue médicale à comité de lecture qui apporterait le détail de l'obtention de ces performances.

En l'occurrence, la seule publication (dans une revue médicale à comité de lecture) visant à valider cette approche multiparamétrique repose sur une cohorte prospective non randomisée comportant deux bras :

- un bras où les patients ont eu une recherche de déficit en DPD avant administration du traitement (n=718) ;
- un bras sans recherche préalable de déficit en DPD (n=398) (11).

Cette étude conclut à l'intérêt de la méthode multiparamétrique sur la base d'un taux de patients ayant subi des toxicités de grade 4-5 de 1,2 % dans le bras avec recherche préalable de déficit en DPD *versus* 3 % dans le bras sans cette recherche préalable, la différence apparaissant significative (p=0,04). Deux biais méthodologiques importants doivent néanmoins nuancer l'interprétation de ces résultats. En effet, d'une part, le taux de patients avec déficit partiel dans le bras sans recherche préalable était environ 2,5 fois plus élevé que dans le bras avec recherche préalable et, d'autre part, dans le bras avec recherche préalable, l'approche multiparamétrique pouvait être associée à un ajustement posologique de la fluoropyrimidine basé sur le suivi pharmacologique du 5-FU, introduisant un facteur de confusion dans l'évaluation de la performance de cette approche. Par ailleurs, le test multiparamétrique a été effectué pour les 398 patients inclus dans le bras sans recherche préalable d'un déficit en DPD et a identifié un déficit complet et 34 déficits partiels, ce qui apparaît très inférieur aux 69 patients rapportés comme ayant subi une toxicité de grade supérieur à 3 dans ce bras. Par ailleurs, il est également rapporté que, parmi les 12 patients ayant subi une toxicité de grade 4-5 dans ce même bras, seuls quatre d'entre eux présentaient un déficit en DPD. Ces données confirment vraisemblablement le fait qu'aucune méthode visant à rechercher des déficits en DPD ne peut, d'un point de vue rationnel, atteindre les performances de sensibilité annoncées par cette société, toutes les toxicités sévères n'étant pas nécessairement dues aux fluoropyrimidines et celles liées aux fluoropyrimidines ne résultant pas toutes d'un déficit en DPD.

4.4. Avis des experts du groupe de travail

D'un point de vue théorique, la présence d'un variant conduisant à une diminution d'activité de la DPD doit se traduire par un résultat de phénotypage considéré comme « anormal », c'est-à-dire évocateur d'un déficit complet ou d'un déficit partiel.

En ce sens, concernant les déficits complets ou profonds, les experts pharmacologues ont confirmé ne pas avoir rencontré, dans leur pratique, de patients homozygotes pour un des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 voire c.2846A>T du gène *DPYD* avec un résultat de phénotypage normal.

Concernant les déficits partiels, quelques experts pharmacologues ont relevé que, selon eux, les résultats de génotypage pourraient, dans certains cas, permettre de confirmer ceux du phénotypage lorsque ces derniers sont proches de la valeur seuil de 16 ng/ml. Néanmoins, étant donné la faible sensibilité et la VPP incomplète de la recherche des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T du gène *DPYD*, les performances d'une telle approche (« uracilémie proche de 16 ng/ml ET/OU génotypage ») sont inconnues et il n'y a aucune certitude quant au fait que ces performances puissent être supérieures à celles du phénotypage seul.

Étant donné le niveau de performances du phénotypage, les experts pharmacologues se sont accordés sur le fait qu'il y aurait un intérêt à évaluer cette approche, dans le cadre d'un projet de recherche en se basant sur le séquençage complet du gène *DPYD* et sur l'étude de l'impact fonctionnel des nouveaux variants identifiés.

4.5. Synthèse concernant l'approche combinée

- Les données de la littérature ne permettent pas d'évaluer les performances d'une approche combinée pour identifier les déficits complets en DPD. Néanmoins, les experts pharmacologues pratiquant conjointement le génotypage et le phénotypage se sont accordés sur le fait que, dans leurs pratiques, ils n'ont pas rencontré de patients avec un résultat de phénotypage normal alors qu'ils étaient porteurs homozygotes pour un des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T du gène *DPYD*.
- Concernant l'identification des déficits partiels, il n'y a pas à ce jour d'approche combinée pour laquelle les performances, en matière de sensibilité et de VPP, seraient bien établies et montrées supérieures à celles d'une des méthodes utilisée seule, la consultation des experts ayant confirmé ce point.
- Il n'existe pas de données d'utilité clinique basées sur une approche combinée (étude prospective avec ajustement de dose initiale en fonction des résultats d'une méthode combinant génotypage et phénotypage).
- Les performances de l'approche multiparamétrique 5-FU^{ODPMT_{tox}}, revendiquées par la société ODPM, ne peuvent être confirmées, à ce jour, par l'analyse des données publiées.

5. CONCLUSION

- Tous les experts consultés ont exprimé un consensus sur la nécessité d'assurer, autant que possible, la détection des patients présentant un déficit complet en DPD.
- Un consensus existe également sur le fait que le génotypage tel que proposé actuellement (recherche ciblée de 3 ou 4 variants) ne peut permettre d'identifier qu'un très faible nombre de patients déficitaires en DPD et, *a fortiori*, qu'une faible partie des patients déficitaires complets. Il apparaît donc que le recours à cette méthode devrait à ce stade rester limité au domaine de la recherche, ses performances devant être améliorées par l'identification et la validation d'un plus grand nombre de variants avant d'envisager la diffusion de ce test à large échelle (axe de recherche).
- Les experts consultés ont exprimé un consensus sur le fait qu'une approche phénotypique est susceptible en théorie d'identifier les patients présentant un déficit complet en DPD car elle s'attache à évaluer, directement ou indirectement, l'activité fonctionnelle de l'enzyme, quels que soient les éléments génétiques ou non génétiques impactant cette activité.
- Parmi les deux techniques de phénotypage actuellement les plus utilisées en France, les experts considèrent que la technique de mesure de l'uracilémie serait en mesure de répondre à l'attente prioritaire de détection des déficits complets en DPD, déficits qui se caractériseraient par des valeurs extrêmes d'uracilémie. Cette méthode apparaît par ailleurs comme étant la plus fiable et la plus adaptée à une standardisation à court terme. L'établissement d'un seuil consensuel permettant de distinguer ces patients pourrait être établi sur la base d'une mise en commun des données d'uracilémie colligées par les laboratoires pratiquant cette recherche depuis quelques années.
- Sur ces considérations, un recueil de ces données a été réalisé par l'INCa et la HAS et une troisième session plénière, dédiée aux modalités de mise en œuvre et de diffusion sur tout le territoire de cette approche phénotypique, a été organisée. La partie 5 du présent document est consacrée à la présentation des résultats de ce recueil de données et des conclusions de cette troisième session plénière.

PROPOSITIONS DE MODALITÉS DE MISE EN ŒUVRE DE LA MESURE DE L'URACILÉMIE POUR IDENTIFIER LES PATIENTS DÉFICITAIRES EN DPD AVANT TRAITEMENT PAR FLUORO-PYRIMIDINES

1. PRÉAMBULE

Un consensus général a été trouvé auprès des experts quant au fait qu'à ce jour la **technique de mesure de l'uracilémie apparaît être la plus à même de répondre à l'attente prioritaire d'identifier avant tout les patients déficitaires complets en DPD**. En l'occurrence, selon les experts, la capacité de cette technique à identifier ces patients repose fondamentalement sur le fait qu'ils se distingueraient par des valeurs d'uracilémie particulièrement élevées. Les experts s'accordent en effet sur la nécessité d'éviter les **diagnostics faussement positifs**, l'enjeu étant de **ne pas contre-indiquer à tort un traitement par fluoropyrimidines à certains patients**, en particulier lorsque les alternatives médicamenteuses possibles sont considérées comme moins efficaces.

Un **seuil de déficit complet** apparaît intrinsèquement difficile à définir compte tenu de la rareté des patients concernés, ce qui explique probablement, à ce jour, l'absence de seuil établi à l'issue d'une étude et identifiable dans la littérature. Ce type de seuil apparaît ne pouvoir être proposé que **sur la base d'un échantillon considéré comme suffisant de données**. À cet effet, les experts ont suggéré d'entreprendre la mise en commun des données d'uracilémie des laboratoires français pratiquant cette recherche. Sur cette base, une enquête, menée par l'INCa et la HAS, a permis de réunir les **données d'uracilémie de sept laboratoires et de près de 40 000 patients**.

Par ailleurs, d'autres éléments sont apparus comme devant être impérativement évoqués en vue d'un déploiement à large échelle (environ 80 000 patients/an) de ce test de phénotypage, à savoir :

- l'établissement de **conditions pré-analytiques** standardisées et aussi simplifiées que possible (car inévitablement contraignantes du fait de la labilité de l'uracile dans un prélèvement sanguin), le respect de ces conditions étant impératif à la fiabilité des résultats ;
- la nécessité de pouvoir garantir un **délai de résultats** ne dépassant pas 7 à 10 jours, cet impératif ayant clairement été énoncé par l'ensemble des cliniciens.

Enfin, la recherche des déficits complets en DPD conduisant nécessairement à identifier des patients présentant un déficit partiel, il est également nécessaire de retenir un seuil d'uracilémie permettant d'identifier les **patients déficitaires partiels en DPD**, dans un contexte de données de la littérature peu nombreuses et compte tenu du caractère continu de cette variable rendant difficile l'établissement d'un seuil fiable.

2. PROPOSITIONS DE MODALITÉS D'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS D'URACILÉMIE ET D'AJUSTEMENT THÉRAPEUTIQUE SUR LA BASE DE CES RÉSULTATS

2.1. Propositions de seuils d'interprétation de l'uracilémie

2.1.1. Diagnostic de déficit complet

Lors de la seconde session plénière, les experts biologistes ont rapporté, au regard de leur expérience globale, que les patients diagnostiqués déficitaires complets après survenue de toxicités de grade 4-5 présentaient *a priori* toujours des valeurs d'uracilémie largement supérieures à 100 ng/ml. Dans ce contexte, une enquête auprès de sept laboratoires français réalisant ce test de phénotypage a été lancée et a permis de collecter les données de 38 862 patients sur une période courant de 2000 (au plus tôt) à 2018.

Figure 2. Dans le cadre de l'enquête INCa-HAS menée auprès de sept laboratoires français, description et répartition des 38 862 patients ayant bénéficié d'une mesure d'uracilémie

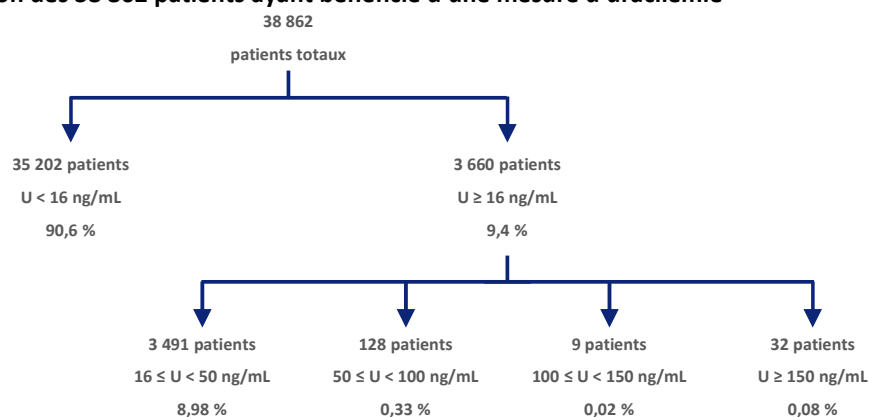
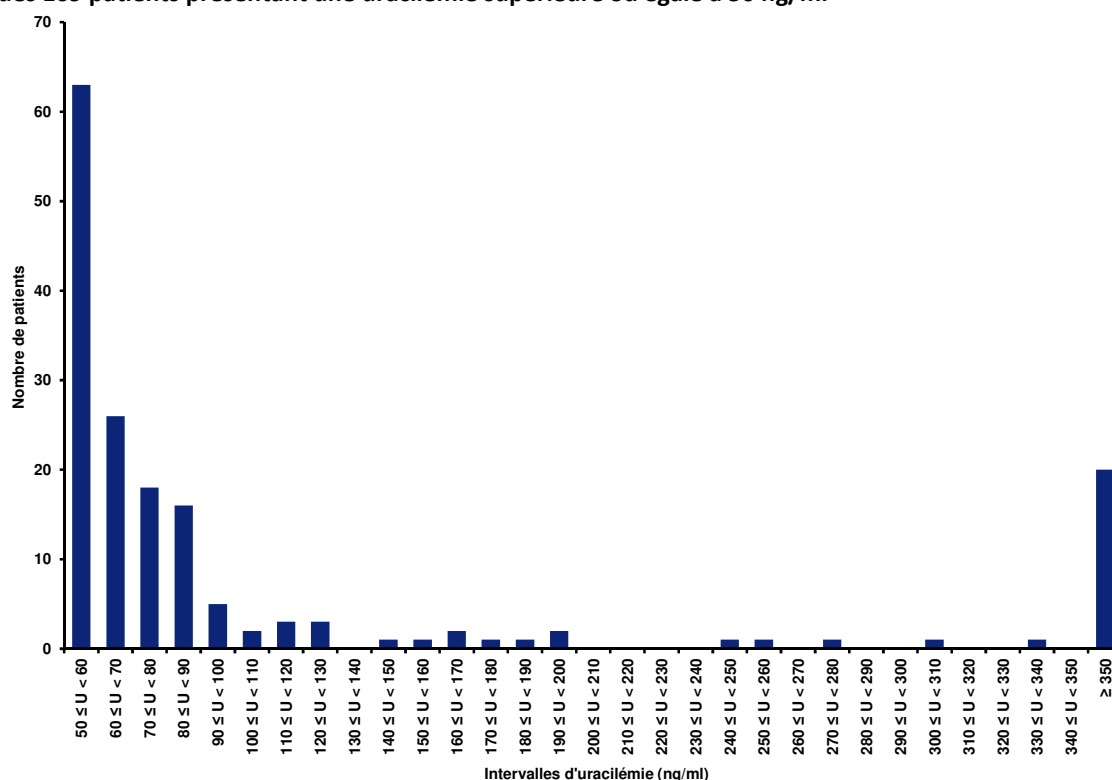


Figure 3. Dans le cadre de l'enquête INCa-HAS menée auprès de sept laboratoires français, répartition des 169 patients présentant une uracilémie supérieure ou égale à 50 ng/ml



Les données des 3 660 patients avec une mesure d'uracilémie supérieure ou égale à 16 ng/ml et, parmi eux, la répartition de ceux présentant une uracilémie supérieure ou égale à 50 ng/ml confirment que cette mesure est une variable continue. Un point de rupture au-delà duquel les mesures d'uracilémie deviennent plus dispersées et individualisables est malgré tout observé autour de valeurs de 140-150 ng/ml. Sur cette base, **une valeur seuil d'uracilémie de 150 ng/ml** a été proposée de manière consensuelle par les experts pour identifier les déficits complets. Sur les 38 862 patients, 32 patients présentaient des mesures d'uracilémie supérieures ou égales à cette valeur seuil retenue, correspondant à un taux de 0,08 %. Cette fréquence de patients diagnostiqués avec un déficit en DPD considéré comme complet apparaît cohérente avec les valeurs d'incidences de décès toxiques mentionnées dans la littérature, valeurs comprises entre 0,1 et 1 %. La mesure d'uracilémie étant une variable continue, il est important de signaler que ce seuil établi à 150 ng/ml constitue un point de repère et qu'il **est impératif d'être particulièrement vigilant vis-à-vis des patients dont la mesure d'uracilémie est supérieure à la normale**, ce d'autant plus lorsque cette mesure est particulièrement élevée bien qu'inférieure à 150 ng/ml.

2.1.2. Diagnostic de déficit partiel

Si les biologistes s'accordent sur le fait que le seuil de 16 ng/ml est *a priori* celui désormais utilisé par les laboratoires réalisant ce dosage, ils confirment néanmoins que les données de la littérature sur lesquelles repose le choix de ce seuil sont de faible niveau de preuve et que cette valeur seuil proposée n'a pas à ce jour fait l'objet d'une validation clinique par un essai prospectif.

En corollaire, selon les experts, les valeurs proches du seuil de 16 ng/ml apparaissent difficiles à interpréter, ce qui induit un risque de faux-négatifs et de faux-positifs.

- Concernant le risque de faux-négatifs, les cliniciens ont exprimé très clairement que, dans leur pratique, les toxicités pouvant survenir chez un patient déficitaire partiel en DPD non diagnostiqué comme tel sont contrôlables par les services.
- Par ailleurs, le risque encouru par un diagnostic faussement positif de déficit partiel sur la base d'une valeur seuil mal définie est concrètement celui d'une préconisation à tort de sous-dosage au moment de la cure initiale du patient concerné, assimilable à une perte de chance potentielle. En effet, les experts ont rappelé, d'une part, que les fluoropyrimidines sont des molécules à très faible marge thérapeutique pour lesquelles efficacité et toxicité sont très étroitement liées et, d'autre part, que certaines données de la littérature suggèrent qu'un nombre substantiel de patients seraient déjà sous-dosés avec les posologies « standard » de 5-FU reposant sur la surface corporelle. Cependant, selon les cliniciens, le risque de perte de chance par sous-dosage à tort au 1^{er} cycle de traitement peut être limité par un réajustement systématique des posologies, dès le 2nd cycle de chimiothérapie, en fonction de la tolérance du patient au traitement. En l'occurrence, les oncologues ont rapporté pratiquer déjà couramment des ajustements empiriques de posologies initiales sur la base de différents facteurs pouvant accroître le risque de toxicités plutôt que de risquer une forte toxicité ou de proposer une alternative thérapeutique jugée moins efficace, avec un réajustement ultérieur des posologies en fonction du niveau de tolérance du patient.

Les données d'uracilémie collectées pour 38 862 patients retrouvent 3 660 patients (9,4 %) avec des uracilémies supérieures ou égales à 16 ng/ml, ce qui apparaît cohérent avec :

- les incidences de toxicité de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidines rapportées dans la littérature (*i.e.* 10-20 %, ces incidences étant probablement surestimées du fait de l'imputation aux fluoropyrimidines de toutes les toxicités sévères) ;
- la fréquence des déficits partiels, de l'ordre de 7-8 %, rapportée par un expert pharmacologue du groupe de travail pratiquant l'analyse des déficits en DPD par mesure de l'activité de l'enzyme dans les PBMC (technique qui, malgré ses limites, reste la technique de mesure la plus directe de l'activité DPD) ;
- l'expérience des cliniciens, selon qui un trop grand nombre de diagnostics de déficits partiels en DPD n'apparaît pas pertinent cliniquement (un des experts cliniciens rapporte un taux de 20 % sur la base du ratio UH2/U rendu à son service). En effet, antérieurement à la note d'information de l'ANSM de février 2018, les cliniciens prescrivaient régulièrement les fluoropyrimidines sans attente des résultats de recherche de déficit en DPD ni en corollaire d'ajustement des posologies initiales en fonction de ce paramètre. Or, les retours en aval de résultats de diagnostic de déficit partiel en DPD les ont amenés à constater que, la plupart du temps, l'absence de prise en compte de ce facteur pour l'initiation du traitement n'avait eu aucune conséquence notable sur l'état général des patients.

L'ensemble de ces éléments a amené le groupe de travail à émettre les conclusions suivantes :

- le seuil de 16 ng/ml apparaît consensuel pour signaler un risque de déficit partiel en DPD, donc de défaut plus ou moins important d'élimination des fluoropyrimidines ;
- sur la base des données disponibles, il n'est pas raisonnable de proposer des seuils intermédiaires d'uracilémie distinguant différents niveaux de déficit partiel ;
- l'uracilémie étant une variable continue, il est impératif d'être particulièrement vigilant vis-à-vis des patients dont la mesure d'uracilémie est supérieure à la normale, ce d'autant plus lorsque cette mesure est particulièrement élevée bien qu'inférieure à 150 ng/ml.

2.2. Propositions de modalités d'ajustement thérapeutique sur la base des résultats d'uracilémie

2.2.1. Chez le patient diagnostiqué déficitaire complet en DPD

En présence d'un diagnostic de déficit complet en DPD, l'ensemble des experts considèrent qu'une **contre-indication conforme aux RCP des fluoropyrimidines** s'impose *a priori*. Néanmoins, ont été relevés les résultats de certains rapports de cas où des patients déficitaires complets en DPD ont reçu des fluoropyrimidines à des doses drastiquement diminuées (du fait de l'absence d'alternative considérée comme aussi efficace) avec un suivi clinique et pharmacologique (dosage du 5-FU) étroit et, *in fine*, sans survenue de toxicité majeure.

2.2.2. Chez le patient diagnostiqué déficitaire partiel en DPD

- Les experts pharmacologues qui proposent à l'heure actuelle la recherche des déficits en DPD dans leurs laboratoires ont rapporté associer le rendu de résultat d'un déficit partiel en DPD à une proposition de diminution de dose initiale, dont l'amplitude (-25, -50 % ou -75 %) repose sur leur expérience et/ou les RBP, assortie d'une préconisation systématique de réajustement ultérieur de la dose en fonction de la tolérance observée.

- Cependant, en l'état actuel des connaissances, les cliniciens estiment que les abaques d'ajustements de doses, publiés dans les RBP, pour les déficitaires partiels en DPD ne sont pas validés cliniquement, *i.e.* que le rapport bénéfice/risque de ces ajustements n'a pas été évalué. Pour cette raison, les cliniciens ont rapporté ne pas ajuster systématiquement les doses de fluoropyrimidines lorsqu'un diagnostic de déficit partiel est rendu par le laboratoire. En l'occurrence, ils ont rappelé très clairement qu'il est déjà de leur pratique courante d'ajuster les doses initiales des patients en fonction de différents paramètres. Selon eux, le diagnostic de déficit partiel en DPD pourrait être considéré comme un **paramètre supplémentaire à prendre en compte conjointement à d'autres indicateurs usuels**, les décisions potentielles d'ajustement de traitement devant être prises sur la base d'un **dialogue clinico-biologique** (idéalement en réunion de concertation pluridisciplinaire).
- Dans tous les cas, l'ensemble des experts s'accorde sur le fait que, chez les patients recevant une dose initiale réduite (du fait de leur diagnostic de déficit en DPD et/ou d'autres facteurs), **la posologie doit être réajustée ultérieurement** en fonction de la tolérance du patient au traitement et/ou, lorsque le dosage est disponible, des concentrations plasmatiques de 5-FU.

2.3. Synthèse

Dans un objectif de standardisation des pratiques en vue du déploiement national d'une recherche systématique des déficits en DPD par mesure de l'uracilémie, les **propositions suivantes de formulations d'interprétation des résultats d'uracilémie** évoquant un déficit en DPD ont été élaborées, de manière consensuelle, par le groupe de travail :

- **pour un résultat d'uracilémie ≥ 150 ng/ml** : « Cette valeur d'uracilémie est évocatrice d'un déficit complet en DPD associé à un risque de toxicité très sévère aux fluoropyrimidines. Le traitement par fluoropyrimidines est contre-indiqué. En cas d'absence d'alternative thérapeutique, l'utilisation des fluoropyrimidines ne pourrait être envisagée qu'à dose extrêmement réduite et sous surveillance très étroite. Dans ce cas, un suivi thérapeutique pharmacologique (dosage sanguin du médicament) est fortement recommandé. » ;
- **pour un résultat d'uracilémie ≥ 16 ng/ml et < 150 ng/ml** : « Cette valeur d'uracilémie est évocatrice d'un déficit partiel en DPD associé à un risque accru de toxicité aux fluoropyrimidines. La posologie initiale des fluoropyrimidines pourra être adaptée sur la base d'un dialogue clinico-biologique en fonction du niveau d'uracilémie, du protocole de chimiothérapie et des critères physiopathologiques du patient. Un réajustement thérapeutique doit être envisagé dès le deuxième cycle en fonction de la tolérance au traitement et/ou d'un suivi thérapeutique pharmacologique (dosage sanguin du médicament) s'il est disponible. ».

3. CONTRAINTES ORGANISATIONNELLES

3.1. Conditions pré-analytiques

Le respect des conditions pré-analytiques est **indispensable à la fiabilité des résultats** de la mesure de l'uracilémie du fait de la forte labilité de l'uracile dans les prélèvements sanguins. En effet, les experts pharmacologues pratiquant le phénotypage ont souligné que des conditions pré-analytiques non respectées tendent à générer des faux-positifs dans l'interprétation des déficits en DPD, avec des valeurs d'uracilémie parfois supérieures à 100 ng/ml (correspondant à un diagnostic à tort de déficit *a priori* majeur en DPD).

Ces conditions pré-analytiques n'étant à l'heure actuelle pas totalement standardisées entre les laboratoires, un consensus a été recherché au sein du groupe de travail afin de proposer des conditions pouvant être uniformément préconisées à l'échelle nationale. Cette démarche a abouti aux **conditions consensuelles « minimales » nécessaires suivantes** :

- utilisation de tubes sans gel séparateur et avec anticoagulant pour réaliser le prélèvement ;
- délai maximal, entre prélèvement et centrifugation, de 1h30 si le prélèvement est conservé à température ambiante et de 4h s'il est placé à + 4°C ;
- centrifugation de préférence à + 4°C puis congélation immédiate du plasma décanté ;
- transport jusqu'au laboratoire réalisant la mesure d'uracilémie devant respecter la chaîne du froid.

La contrainte des horaires de prélèvement actuellement imposée par certains laboratoires (du fait d'un possible rythme circadien de l'enzyme³⁴) a été qualifiée de non impérative, les experts pharmacologues considérant que le rythme circadien présumé de l'enzyme ne serait *a priori* pas susceptible d'influencer les valeurs d'uracilémie au point de « faire basculer » à tort un diagnostic de déficit partiel vers un diagnostic de déficit complet.

Les experts pharmacologues ont insisté sur l'importance d'une **vigilance particulière des laboratoires** à l'égard du contrôle de la conformité des conditions pré-analytiques. Celles-ci doivent être impérativement décrites sur la feuille de prescription : heure de prélèvement, condition de conservation du prélèvement avant centrifugation, heure de centrifugation, heure et température de congélation, mesure et contrôle des températures d'acheminement des échantillons jusqu'au laboratoire. Le non-respect de ces conditions doit conduire à un rendu de non-conformité dont le clinicien doit être informé au plus vite afin qu'un nouveau prélèvement puisse être acheminé au laboratoire dans les meilleurs délais.

Interrogés sur la faisabilité du respect de ce type de contraintes dans leur pratique quotidienne, les cliniciens ont confirmé la complexité logistique représentée par ces conditions pré-analytiques pour les services cliniques. Néanmoins, quelles que soient les contraintes, ils ont exprimé une **motivation de la part des services cliniques à s'adapter s'ils sont convaincus de l'utilité de la recherche d'un déficit en DPD** à l'égard de la prévention des toxicités les plus graves pour les patients devant recevoir une fluoropyrimidine.

³⁴ Jacobs *et al.* rapportent un ratio de 1,4 entre la valeur maximale et la valeur minimale d'activité DPD mesurée au cours de la journée (n=20 patients) (62).

3.2. Respect d'un délai de rendu de résultats inférieur à 7 à 10 jours

Si les cliniciens s'accordent sur la capacité des services cliniques à mettre en œuvre une recherche systématique des déficits en DPD avant mise en route d'un traitement comportant des fluoropyrimidines, tous ont souligné la **nécessité d'un délai de résultats ne devant pas dépasser sept à dix jours**. Au-delà, le lancement retardé du traitement pourrait être préjudiciable pour le patient.

Le délai actuel de rendu de résultats n'est pas précisément connu et difficile à évaluer du fait de l'augmentation rapide récente des demandes suite à la publication, en février 2018, de la note d'information de l'ANSM. Les données les plus récentes sont celles issues des enquêtes de pratiques réalisées auprès des cliniciens et des biologistes dans le cadre du PHRC FUSAFE, données qui rapportent que le taux de résultats rendus dans un délai supérieur à dix jours est passé de 60 % en 2016 à 17 % en 2017. Ces dernières années, les laboratoires semblent donc s'adapter à l'augmentation des demandes de recherche de déficit en DPD malgré la montée en charge rapide récente sans augmentation concomitante de leurs moyens pour faire face à ces sollicitations. Or, la présente recommandation va conduire à une nouvelle augmentation majeure de cette activité et nécessiter que les laboratoires adaptent rapidement leurs organisations pour y répondre. Cependant, dans le cadre de l'intégration systématique de la recherche d'un déficit en DPD dans leur pratique, les cliniciens considèrent comme envisageable d'anticiper leurs demandes pour les patients qui seront probablement amenés à recevoir un traitement par fluoropyrimidines, ce qui semble fortement souhaitable dans les situations le permettant afin de minimiser le niveau de contraintes en matière de délai qui va peser sur les laboratoires.

Dans tous les cas, l'extension de la recherche d'un déficit en DPD avant mise en route d'un traitement comportant une fluoropyrimidine nécessitera la mise en place d'un suivi à l'échelle nationale permettant d'accompagner la montée en charge de l'activité, d'évaluer l'impact des contraintes pré-analytiques sur l'ensemble des étapes de cette recherche et de contrôler les délais de rendu des résultats.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES - PERSPECTIVES

Les fluoropyrimidines, représentées par le 5-fluorouracile (5-FU) et la capécitabine (prodrogue du 5-FU), sont une classe de médicaments cytotoxiques utilisés, seuls ou en combinaison avec d'autres types de molécules, pour traiter différents cancers (principalement cancers digestifs, du sein et ORL). Environ 80 000 patients par an en France reçoivent une fluoropyrimidine qui peut être à l'origine d'effets indésirables potentiellement sévères. Une partie de ces toxicités est liée à un déficit d'une enzyme appelée dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) responsable de l'élimination d'environ 80 % de la dose administrée de 5-FU. Ce déficit peut être partiel (environ 3 à 8 % des individus) ou complet (entre 0,01 et 0,5 % des individus) ; les toxicités peuvent dans certains cas être très sévères, voire létales.

L'analyse critique des données disponibles de la littérature et la position argumentée d'un panel pluridisciplinaire d'experts réunis au sein d'un groupe de travail ont amené l'INCa et la HAS aux conclusions suivantes concernant la mise en œuvre, à l'échelle nationale, d'une recherche systématique des déficits en DPD avant traitement par fluoropyrimidines.

La recherche des déficits en DPD va vraisemblablement prévenir l'apparition de certaines toxicités sévères, rarement mais parfois létales, survenant sous traitement comprenant une fluoropyrimidine. Néanmoins, quelle que soit la méthode employée pour cette recherche, aucune ne pourra permettre d'éviter toutes les toxicités sévères ni létales associées à ces traitements, compte tenu du fait, d'une part, que les déficits en DPD n'expliquent qu'une partie des toxicités liées aux fluoropyrimidines et, d'autre part, que toutes les toxicités survenant dans le cadre d'une combinaison de traitements cytotoxiques intégrant une fluoropyrimidine ne peuvent être attribuées spécifiquement à cette molécule. En outre, à l'heure actuelle, aucune méthode n'est vraisemblablement en mesure d'identifier tous les patients déficitaires en DPD, partiels ou complets, de façon fiable sur le plan de la sensibilité et de la valeur prédictive positive.

Dans ce contexte, il a été considéré, en tant que fondement conditionnant l'élaboration des présentes recommandations, que :

- la recherche d'un déficit en DPD doit permettre avant tout d'identifier les patients déficitaires complets, conformément aux résumés des caractéristiques des produits (RCP) actuels des fluoropyrimidines, afin de prévenir, *a minima* et autant que possible, les toxicités les plus graves, en particulier celles pouvant entraîner un décès ;
- l'existence de diagnostics faussement positifs de déficits complets n'apparaît pas non plus acceptable, car entraînant une perte de chance pour les patients concernés en cas d'absence de traitement alternatif de même efficacité.

La recherche des déficits complets en DPD conduit nécessairement à identifier également des patients présentant un déficit partiel en DPD, avec des niveaux de performances ou de validation potentiellement inférieurs. Étant donné le besoin clinique, la recommandation de mise en œuvre d'une méthode de recherche des déficits profonds ne doit pas être retardée par des incertitudes autour des performances de cette même méthode à l'égard de l'identification des déficits partiels.

Parmi les méthodes actuellement disponibles pour la recherche d'un déficit en DPD :

- le génotypage du gène *DPYD*, codant pour l'enzyme DPD, repose sur la recherche de seulement quatre principaux variants : *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T et HapB3. S'il semble exister une association significative entre la présence des variants *DPYD**2A, *DPYD**13 et c.2846A>T du gène *DPYD* et la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3), le niveau de preuve d'une association entre le variant HapB3 et la survenue de telles toxicités est considéré comme insuffisant. Le génotypage présente par ailleurs deux limites majeures que sont : une très faible sensibilité (c'est-à-dire que seule une faible proportion des patients présentant un déficit en DPD serait ainsi identifiée), à la fois pour identifier les déficits partiels et les déficits complets, ainsi qu'un intérêt limité aux patients caucasiens. De ce fait, cette méthode ne peut permettre à l'heure actuelle de répondre que très partiellement à l'identification des patients déficitaires complets ;
- *a contrario*, une méthode de phénotypage peut théoriquement être en capacité d'identifier tous les patients déficitaires complets en DPD, quels que soient les facteurs (génétiques ou non) à l'origine de ce déficit. À l'heure actuelle, parmi les deux techniques chromatographiques principalement utilisées en France, la mesure de l'uracilémie paraît plus à même de répondre à cet objectif que le calcul du ratio UH2/U, les patients avec un déficit complet en DPD présentant des valeurs d'uracilémie extrêmes ;
- il n'a pas pu être montré de valeur ajoutée à la réalisation du génotypage basé sur la recherche de trois variants du gène *DPYD* en sus de la mesure de l'uracilémie, en particulier pour la détection des patients déficitaires complets en DPD. Pour les déficits partiels, les différentes stratégies de combinaison de phénotypage et de génotypage semblent conduire soit à une amélioration de la sensibilité au détriment de la valeur prédictive, soit à une amélioration de la valeur prédictive au détriment de la sensibilité.

Sur cette base, les seuils d'uracilémie permettant de distinguer les patients non déficitaires, déficitaires partiels et déficitaires complets, ainsi que la proposition de modalités de prise en compte des résultats obtenus dans l'attitude thérapeutique, ont été objectivés par l'analyse des données d'uracilémie de près de 40 000 patients recueillies auprès de sept laboratoires français pratiquant cette recherche depuis plusieurs années. Dans ce contexte, les recommandations suivantes sont émises.

- Une valeur d'uracilémie ≥ 150 ng/ml est considérée comme évocatrice d'un déficit complet en DPD associé à un risque de toxicité très sévère aux fluoropyrimidines. Le traitement par fluoropyrimidines est alors contre-indiqué. En cas d'absence d'alternative thérapeutique, le recours aux fluoropyrimidines ne peut être envisagé qu'à dose extrêmement réduite et sous surveillance très étroite. Dans ce cas, un suivi thérapeutique pharmacologique (dosage sanguin du médicament) est fortement recommandé.
- Une valeur d'uracilémie ≥ 16 ng/ml et < 150 ng/ml est considérée comme évocatrice d'un déficit partiel en DPD associé à un risque accru de toxicité aux fluoropyrimidines. Sur la base d'un dialogue clinico-biologique, la posologie initiale des fluoropyrimidines doit être adaptée en fonction du niveau d'uracilémie mesuré, du protocole de chimiothérapie envisagé et des critères physiopathologiques du patient. Un réajustement thérapeutique doit être envisagé dès le deuxième cycle de chimiothérapie en fonction de la tolérance du patient au traitement et/ou d'un suivi thérapeutique pharmacologique s'il est disponible.
- La mesure d'uracilémie étant une variable continue, le seuil établi à 150 ng/ml constitue un point de repère. Il est ainsi impératif d'être particulièrement vigilant vis-à-vis des patients dont la mesure d'uracilémie est supérieure à la normale, ce d'autant plus lorsque cette mesure est particulièrement élevée bien qu'inférieure à 150 ng/ml.

Si la mesure de l'uracilémie apparaît techniquement fiable et pouvant être standardisée à court terme, certaines conditions pré-analytiques doivent impérativement être respectées pour garantir la fiabilité des résultats : utilisation de tubes sans gel séparateur et avec anticoagulant pour réaliser le prélèvement (restriction des horaires de prélèvement non impérative), délai entre prélèvement et centrifugation de 1h30 si le prélèvement est conservé à température ambiante et de 4h s'il est placé à + 4°C, centrifugation de préférence à + 4°C puis congélation immédiate du plasma obtenu, transport devant respecter la chaîne du froid. Le non-respect de ces conditions doit conduire à un rendu de non-conformité porté à la connaissance du clinicien dans les meilleurs délais afin qu'un nouveau prélèvement puisse être acheminé au laboratoire rapidement.

Enfin, le délai de rendu de résultats, de la prescription du test à la réception du résultat par le clinicien, doit être idéalement de sept jours, et impérativement de dix jours au maximum, pour ne pas induire un risque de retard au lancement du traitement.

Concernant les perspectives :

- les performances du génotypage (qui présente l'avantage de conditions pré-analytiques et analytiques simples) pourraient être améliorées par l'identification et la validation d'un plus grand nombre de variants *DPYD* cliniquement pertinents, selon plusieurs voies possibles parmi lesquelles :
 - la réalisation d'un criblage complet du gène *DPYD*, potentiellement restreint aux patients présentant un résultat de phénotypage anormal, avec exploration fonctionnelle (*in silico*, *in vitro* et/ou *ex vivo*) des variants identifiés ;
 - la mise en place d'une base de données clinico-biologique nationale répertoriant, en parallèle des résultats de phénotypage, les nouveaux variants *DPYD* identifiés ainsi que le suivi clinique des patients diagnostiqués comme déficitaires en DPD (traitement prescrit, posologie des fluoropyrimidines, toxicités) ;
- les conclusions du présent rapport sont susceptibles d'évoluer en fonction de la mise à disposition de nouvelles données jugées de niveau de preuve suffisant pour justifier une actualisation des recommandations.

ANNEXES

ANNEXE 1. LISTE DES PERSONNES AYANT PARTICIPÉ À L'ÉLABORATION DES PRÉSENTES RECOMMANDATIONS

► Coordination et rédaction

- Julien BLIN, avec et sous la responsabilité de Frédérique NOWAK | INCa, Boulogne-Billancourt
- Carole GIRAUD, avec et sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID et de Cédric CARBONNEIL | HAS, Saint-Denis

► Participants aux groupes de travail

Biologistes / généticiens / pharmaciens / pharmacologues

- Pr Alain ASTIER | Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil
- Dr Chantal BARIN-LE GUELLEC | CHU, Tours
- Dr Jean-Christophe BOYER | CHU, Nîmes
- Dr Joseph CICCOLINI | Centre de Recherche en Cancérologie et Faculté de Pharmacie, Marseille
- Dr Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI | Centre Antoine Lacassagne, Nice
- Dr Alexandre HARLE | Institut de cancérologie de Lorraine, Nancy
- Dr Fanny LE QUELLEC | CHU, Rouen
- Pr Marie-Anne LORIOT | Hôpital Européen Georges Pompidou, APHP, Paris
- Dr Marie-Christine PERAULT-POCHAT | CHU, Poitiers
- Pr Frédéric PINGUET | Institut régional du Cancer, Montpellier
- Dr Antonin SCHMITT | Centre Georges-François Leclerc, Dijon
- Dr Fabienne THOMAS-JEAN | IUCT Oncopole, Toulouse
- Dr Audrey THOMAS-SCHOEMANN | Hôpital Cochin, AP-HP, Paris

Cliniciens / Oncologues

- Pr Olivier BOUCHÉ | CHU, Reims
- Dr Anatole CESSOT | Clinique Hartmann, Neuilly-sur-Seine
- Pr Dominique CHEVALIER | CHU, Lille
- Pr Romain CORIAT | Hôpital Cochin, AP-HP, Paris
- Dr Jean-Louis LEGOUX | CHR, Orléans
- Dr Rémy SALMON | Fondation Saint Jean de Dieu - Clinique Oudinot, Paris

Intervenant invité (responsable de la méta-analyse du PHRC-K FUSAFE)

- Dr Jean-Pierre PIGNON | Gustave-Roussy, Villejuif

Représentants institutionnels

- Julien BLIN | INCa, Boulogne-Billancourt
- Frédérique NOWAK | INCa, Boulogne-Billancourt
- Carole GIRAUD | HAS, Saint-Denis
- Vincent GAZIN | ANSM, Saint-Denis
- Emilie PATRAS-DE-CAMPAIGNO | ANSM, Saint-Denis

► Relecteurs ayant participé au groupe de travail

Biologistes / généticiens / pharmaciens / pharmacologues

- Pr Alain ASTIER | Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil
- Dr Chantal BARIN-LE GUELLEC | CHU, Tours
- Dr Jean-Christophe BOYER | CHU, Nîmes
- Dr Joseph CICCOLINI | Centre de Recherche en Cancérologie et Faculté de Pharmacie, Marseille

- Dr Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI | Centre Antoine Lacassagne, Nice
- Dr Alexandre HARLE | Institut de cancérologie de Lorraine, Nancy
- Pr Marie-Anne LORIOT | Hôpital Européen Georges Pompidou, APHP, Paris
- Dr Marie-Christine PERAULT-POCHAT | CHU, Poitiers
- Pr Frédéric PINGUET | Institut régional du Cancer, Montpellier
- Dr Antonin SCHMITT | Centre Georges-François Leclerc, Dijon

Cliniciens / Oncologues

- Pr Olivier BOUCHÉ | CHU, Reims
- Dr Anatole CESSOT | Clinique Hartmann, Neuilly-sur-Seine
- Dr Jean-Louis LEGOUX | CHR, Orléans
- Dr Rémy SALMON | Fondation Saint Jean de Dieu - Clinique Oudinot, Paris

► Relecteurs externes

Biologistes / généticiens / pharmaciens / pharmacologues

- Dr Christophe BARDIN | Hôpital Cochin, AP-HP, Paris
- Dr Ivan BIECHE | Institut Curie, Paris
- Pr Dominique BREIHL | CHU, Bordeaux
- Dr Xavier FONROSE | CHU, Grenoble
- Dr Claire LAFAY-CHEBASSIER | CHU, Poitiers
- Dr Pierre-Jean LAMY | Labosud, Montpellier
- Pr Cédric LE MARECHAL | CHRU, Brest
- Pr Tristan MONTIER | CHRU, Brest
- Pr Samia MOURAH | Hôpital Saint-Louis, APHP, Paris
- Dr Bertrand POURROY | CHU, Marseille
- Dr Etienne ROULEAU | Institut Gustave Roussy, Villejuif

Cliniciens / Oncologues

- Pr Beatrix BARRY | Hôpital Bichat, APHP, Paris
- Dr Gilles DOLIVET | Institut de cancérologie de Lorraine, Nancy
- Pr Thierry LECOMTE | CHU, Tours
- Pr Sylvain MANFREDI | CHU, Dijon

► Audition

- Dr Michèle BOISDRON-CELLE | Institut de cancérologie de l'Ouest, Angers

► Recherche documentaire

- Mireille CECCHIN et Yasmine LOMBRY, sous la responsabilité de Christine DEVAUD et Frédérique PAGES | HAS, Saint-Denis

► Secrétariat

- Suzie DALOUR | HAS, Saint-Denis
- Claire VERBEKE et Emmanuelle LALEVEE | INCa, Boulogne-Billancourt

► Autres contributions

- Muriel DAHAN, Marianne DUPERRAY, Sophie NEGELLEN | INCa, Boulogne-Billancourt

ANNEXE 2. MÉTHODOLOGIE UTILISÉE POUR L'ÉLABORATION DU CORPUS BIBLIOGRAPHIQUE

Recherche systématique des études cliniques et rapports de cas

Recherche sur bases de données

- Bases bibliographiques utilisées : *Medline, Embase*.
- Langue : anglais, français.
- Date limite : pas de borne inférieure-avril 2018.
- Équation de recherche sur base de données *Medline/Embase*

Termes utilisés
(fluoropyrimidine* or 5FU or 5-FU or 5 FU or 5 fluorouracil or 5-fluorouracil or capecitabine)/ti OR (Fluorouracil or Capecitabine or Fluoropyrimidine/de)
AND
(dihydropyrimidine dehydrogenase OR <i>DPYD</i>)/ti OR Dihydrouracil Dehydrogenase (NADP)/de OR Dihydrouracil Dehydrogenase (NAD+)/de OR Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency/de OR dihydropyrimidine dehydrogenase/de
AND*
(clinical trial* OR random* OR single-blind OR double-blind OR multicenter study OR multicenter studies OR multicentre study OR multicentre studies OR cross-over study OR cross-over studies)/ti,ab. OR (comparative study OR comparative studies OR case study OR case studies OR case report*)/ti OR (random allocation OR single-blind method OR double-blind method OR cross-over studies)/de OR (Clinical Trial OR Controlled Clinical Trial OR randomized controlled trial OR multicenter study OR Comparative Study OR case reports)/type

De : descripteur ti : titre ti,ab : titre/résumé pt : type de document * : troncature

Résultats

La recherche selon les équations de recherche et limites ci-dessus a identifié 258 publications.

Recherche systématique des revues systématiques et méta-analyses sur bases de données

Recherche sur base de données

- Bases bibliographiques utilisées : *Medline, Embase, Cochrane, Lissa*.
- Langue : anglais, français.
- Date limite : janvier 2008-mars 2018.
- Équation de recherche sur base de données *Medline/Embase* :

Termes utilisés
dihydropyrimidine dehydrogenase OR <i>DPYD</i> OR (Dihydrouracil Dehydrogenase (NADP) OR Dihydrouracil Dehydrogenase (NAD+) OR Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency OR dihydropyrimidine dehydrogenase OR dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency)/de
AND
(meta analys* OR metaanalys* OR systematic* overview* OR systematic* research* OR systematic* review* OR systematic* search*)/ti,ab OR (meta-analysis as topic OR meta-analysis) OR systematic review)/de OR (meta-analysis)/type OR (cochrane database syst rev OR Health Technol Assess)/revue

De : descripteur ti : titre ti,ab : titre/résumé pt : type de document * : troncature

- Équation de recherche sur base de données Lissa : Déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase OU dihydropyrimidine OU *DPYD*.
- Équation de recherche sur base de données Cochrane : Dihydropyrimidine dehydrogenase OR *DPYD* OR "Dihydrouracil Dehydrogenase (NADP)"/de OR Dihydrouracil Dehydrogenase (NAD+)/de OR Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency/de.

Résultats

La recherche initiale sur les bases *Medline* et *Embase* a identifié, après suppression des doublons, 35 publications. Sept publications ont été présélectionnées sur titre et *abstract*, puis trois publications ont été conservées après lecture intégrale et appréciation de la qualité de ces publications (8, 9, 54). Les quatre publications exclues l'ont été pour les raisons suivantes :

- Campbell *et al.*, 2016 (63) : revue systématique dont la période de recherche bibliographique se termine en 2014 ;
- Leung *et al.*, 2015 (64) et Li *et al.*, 2014 (65) : méta-analyses de qualité méthodologique jugée insuffisante (du fait notamment de critères de jugement principaux non clairement définis ou inappropriés) ;
- Meulendijks *et al.*, 2017 : ni revue systématique, ni méta-analyse (analyse poolée de quelques études sélectionnées par les auteurs) (50).

La recherche sur les bases de données Lissa a identifié 17 publications dont aucune revue systématique ni méta-analyse.

La recherche sur les bases de données Cochrane n'a identifié aucune publication.

Recherche systématique des RBP et HTA

Recherche sur bases de données

- Bases bibliographiques utilisées : Medline, Embase, Lissa.
- Langue : pas de restriction.
- Date limite : janvier 2008-mars 2018
- Équations de recherche sur base de données Medline/Embase :

Termes utilisés
dihydropyrimidine dehydrogenase OR <i>DPYD</i> OR (Dihydrouracil Dehydrogenase (NADP) OR Dihydrouracil Dehydrogenase (NAD+) OR Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency OR dihydropyrimidine dehydrogenase OR dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency)/de AND (consensus OR guidance OR guide OR guideline* OR position paper OR recommendation* OR statement*)/ti OR (Consensus Development Conferences as topic OR Consensus Development Conferences, NIH as topic OR guidelines as topic OR health planning guidelines OR Practice Guidelines as topic OR consensus development OR Practice Guideline)/de OR (consensus development conference OR consensus development conference, NIH OR Government Publications OR guideline OR practice guideline)/type

De : descripteur ti : titre ti,ab : titre/résumé pt : type de document * : troncature

- Équation de recherche sur base de données Lissa : Déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase OU dihydropyrimidine OU *DPYD*.

Recherche sur sites internet

La liste des sites internet consultés (sites d'agences d'évaluation, sociétés savantes, institutions sanitaires, ministère de la Santé ...) est présentée en Annexe 3.

Résultats

1. La recherche initiale sur les bases *Medline* et *Embase* a identifié 46 publications susceptibles de comporter des recommandations relatives au dépistage des déficits en DPD en amont d'un traitement par fluoropyrimidine. Celle sur LiSSa en a identifié 17. Toutes bases confondues, 13 publications comportant des recommandations ont été retenues sur titre et *abstract* (exclusion des doublons, des publications hors sujet et des publications ne comportant pas de recommandations).
2. La recherche initiale sur sites internet a identifié 161 documents. Une première sélection sur lecture globale des documents a retenu deux HTA et six RBP.
3. Une seconde étape de sélection sur lecture exhaustive des publications retenues à l'issue des étapes 1 et 2 a conservé six RBP (exclusion des doublons, des documents rendus obsolètes par des versions actualisées et des publications de qualité méthodologique jugée insuffisante).

Veille bibliographique

Une veille sur la base de données *Medline* reposant sur les mots clés *dihydropyrimidine dehydrogenase* et fluoropyrimidine a été menée pour la période allant du 01/04/2018 au 01/11/2018 sans autre limite de recherche, en vue d'identifier de potentielles études axées sur la problématique des déficits en DPD dans le cadre des traitements par fluoropyrimidines qui auraient pu être publiées pendant cette phase d'élaboration des recommandations. Cette recherche a identifié 15 publications dont une seule répondant aux critères de sélection du Tableau 5 et donc retenue.

ANNEXE 3. LISTE DES SITES INTERNET CONSULTÉS POUR LA RECHERCHE DES RBP ET HTA

Sites français

- Agence de la biomédecine (ABM)
- Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)
- Alliance nationale des sciences de la vie et de la santé (AVIESAN)
- Assemblée nationale
- Association des cytogénéticiens de langue française (ACLF)
- Association française des conseillers en génétique, professionnels et étudiants (AFCG)
- Association francophone de génétique clinique (AFGC)
- Association francophone des soins oncologiques de support (AFSOS)
- Association nationale des praticiens de génétique moléculaire (ANPGM)
- Assurance maladie
- Banque de données en santé publique (BDSP)
- Bibliothèque médicale Lemanissier
- Catalogue et index des sites médicaux francophones (CISMeF)
- Centre national de l'expertise hospitalière (CNEH)
- Collège national des enseignants en cancérologie (CNGE)
- Comité consultatif national d'éthique (CCNE)
- Comité d'évaluation et de diffusion des innovations technologiques (CEDIT)
- Comité éthique et cancer
- Conseil national professionnel d'oncologie médicale
- Conseil national professionnel de génétique clinique, chromosomique et moléculaire
- Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques (DREES)
- Évaluation des technologies de santé (ETSAD)
- Fédération française de génétique humaine (FFGH)
- Fédération française des oncologues médicaux (FFOM)
- Fédération hospitalière de France (FHF)
- Groupe francophone de cytogénomique oncologique (GFCO)
- Haut Conseil de la santé publique (HCSP)
- Haute Autorité de santé (HAS)
- Institut Curie
- Institut de recherche en santé publique (IReSP)
- Gustave Roussy
- Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm)
- Institut national du cancer (INCa)
- Ligue contre le cancer
- Littérature scientifique en santé (LiSSa)
- Ministère de la Santé
- Oncolor
- Orphanet
- Santé publique France
- Sénat
- Société française de génétique (SFG)
- Société française de génétique humaine (SFGH)
- Société française de pharmacie oncologique (SFPO)
- Société française de pharmacologie et de thérapeutique (SFPT)
- Société française d'oncologie médicale (SOFOM)
- Société française du cancer (SFC)
- Société nationale française de gastroentérologie (SNFGE)
- Unicancer
- VIDAL Recos

Sites internationaux

- Academy of Managed Care Pharmacy
- Adelaide Health Technology Assessment (AHTA)
- Agence santé publique Canada
- Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía (AETSA)
- Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya (AQuAS)
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
- Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ)
- Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali (age.na.s)
- Alberta Medical Association. Toward Optimized Practice Alberta Doctors
- American Association for Clinical Chemistry (AACC)
- American Cancer Society
- American College of Medical Genetics (ACMG)
- American Pharmacists Association
- American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics (ASPET)
- American Society of Clinical Oncology (ASCO)
- American Society of Health-System Pharmacists (ASHP)
- American Society of Human Genetics (ASHG) / Jerde
- Association of Cancer Physicians (ACP)
- Associazione Genetica Italiana
- Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM)
- Australasian Society of Clinical and Experimental Pharmacologists and Toxicologists (ASCEPT)
- Australian and New Zealand Horizon Scanning Network (ANZHSCN)
- Australian Council on Healthcare Standards
- Belgian Society for Human Genetics (BeSHG)
- Belgian Society of Medical Oncology (BSMO)
- Belgian Society of Pharmaceutical Sciences
- Belgian Society of Physiology and Pharmacology
- Blue Cross Blue Shield Association
- BMJ Best Practice
- British Columbia Cancer Agency (BC Cancer)
- British Association for Cancer Research (BACR)
- British Network Pharmacogenomics and Personalized Medicine
- British Oncology Pharmacy Association (BOPA)
- British Pharmacological Society
- British Society for Genetic Medicine
- British Society for Integrative Oncology (BSIO)
- British Society of Gastroenterology
- Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH)
- Canadian Association of Medical Oncologists (CAMO)
- Canadian Association of Pharmacy in Oncology (CAPHO)
- Canadian Association of Provincial Cancer Agencies
- Canadian Oncology Societies (COS)
- Canadian Partnership Against Cancer Corporation
- Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety (CPNDS)
- Canadian Society for Molecular Biosciences (CSMB)
- Canadian Society of Hospital Pharmacists
- Canadian Society of Pharmacology and Therapeutics (CSPT)
- Canadian Task Force on Preventive Health Care (CTFPHC)
- Cancer Australia
- Cancer Care Ontario (CCO)
- Cancer Core Europe
- Cancer Research UK
- Cancer Society NZ
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
- Centers for Medicare & Medicaid Services (CMS)
- Centre fédéral d'expertise des soins de santé (KCE)
- Centre for Reviews and Dissemination
- Clinical Oncology Society of Australia (COSA)
- Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC)
- Cochrane Library
- College of Physicians and Surgeons of Alberta
- Colorectal Cancer Canada
- Commissaire à la santé et au bien être Québec
- Conseil scientifique Luxembourg
- CPG Infobase: Clinical Practice GuidelinesDanish Health Authority
- Deutsche Gesellschaft für Humangenetik
- Deutsche Gesellschaft für Pharmakologie
- Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI)

- Dutch Pharmacological Society
- Dutch Society for Human Genetics (NVHG)
- Dutch Society for Laboratory Specialist Clinical Genetics (VKGL)
- Dutch Society for Medical Oncology
- EU Bookshop. Eu laws and publications
- Eu Joint Research Centre (JRC)
- EuroGentest
- European Association for Cancer Research (EARC)
- European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT)
- European CanCER Organisation (ECCO)
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)
- European Commission. Directorate-General for Health and Food Safety
- European Directory of DNA Diagnostic Laboratories (EDDNL)
- European Journal CanCER
- European Medicines Agency (EMA)
- European Molecular Biology Laboratory (EMBL)
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA)
- European network for Health Technology Assessment (EUnetHTA)
- European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC)
- European Society for Medical Oncology (ESMO)
- European Society of Human Genetics (ESHG)
- European Society of Pharmacogenomics and Personalised Therapy (ESPT)
- Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAP)
- EVIQ Cancer treatment online
- Federation of European Pharmacological Societies (EPHAR)
- Finnish National Institute for Health and Welfare
- Finnish Office for Health Technology Assessment (FINOHTA). Ohtanen
- German National Cancer Society
- Gouvernement du Canada. Rappels et Avis
- GOV.UK
- Government of Alberta
- Guidelines - Summarising clinical guidelines for primary care
- Guidelines and Protocols Advisory Committee British Columbia
- Guidelines International Network
- Health and Safety Executive
- Health Evidence
- Health Information and Quality Authority
- Health Policy Advisory Committee on Technology (HealthPACT)
- Health Quality Ontario (HQO)
- Health Services Assessment Collaboration
- HEN Sources of Evidence Database
- Human Genetics Society of Australasia (HGSA)
- Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG)
- Institut national de santé publique du Québec (INSPQ)
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS)
- Institute for Clinical and Economic Review (ICER)
- Institute for Clinical Evaluative Sciences (ICES)
- Institute for Clinical Systems Improvement (ICSI)
- Institute of Medicine (IoM)
- Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS)
- Instituto de Salud Carlos III Madrid/Cortejoso
- International Agency for Research on Cancer (IARC)
- International Association of Oncologists
- International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)
- International Federation of Human Genetics Societies
- International Journal of Technology Assessment in Health Care
- International Society of Gastrointestinal Oncology
- International Union of Pharmacology (IUPHAR)
- Japan PGx Data Science Consortium
- Japan Society of Human Genetics
- Japanese Pharmacological Society
- Japanese Society of Clinical Pharmacology and Therapeutics
- Japanese Society of Medical Oncology (JSMO)
- Kaiser Permanente. Care management institute
- Leitlinienprogrammes Onkologie
- Ludwig Boltzmann Institut (LBI)
- Medical Oncology Group of Australia (MOGA)
- Medical Services Advisory Committee (MSAC)
- Michigan Quality Improvement Consortium
- Ministero della Salute
- Ministry of Health Malaysia

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

- Nationaal Referentiecentrum Farmacogenetica
- Nationaal Referentiecentrum Farmacogenetica
- National Cancer Institute
- National Center for Biotechnology Information (NCBI)
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN)
- National Evidence-based Healthcare Collaborating Agency (NECA)
- National Guideline Clearinghouse
- National Health and Medical Research Council (NHMRC)
- National Health Services Scotland
- National Human Genome Research Institute (NHGRI)/Electronic Medical Records and Genomics (eMERGE)
- National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE)
- National Institute for Health Research (NIHR)
- National Institutes of Health (NIH)
- NCBI Bookshelf
- Nederlandse Associatie voor Community Genetics en Public Health Genomics (NACGG)
- Netherlands Comprehensive Cancer Organisation
- Netherlands National Health Care Institute
- New Zealand Ministry of Health. New Zealand Guidelines group
- New Zealand Society for Oncology
- NICE Evidence Search
- Norwegian Knowledge Centre for the Health Services
- Office fédéral de la santé publique (OFSP)
- Oncoline
- Organisation mondiale de la santé (OMS)
- Organisation of European Cancer Institutes
- Osasun Teknologien Ebaluazioko Zerbitzua (Osteba) Eusko Jaurlaritza Gobierno Vasco
- Personalized Medicine Coalition (PMC)
- Pharmaceutical Society of Australia
- PHG foundation
- Public Health England
- Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud
- Royal Australasian College of Surgeons
- Royal Dutch Pharmacists Association (KNMP) / Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG)
- SAGE Directory (Standards and Guidelines Evidence)
- Santé Canada
- Santé et services sociaux Québec
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)
- Servicio Evaluación Servicio Canario de la Salud (SESCS)
- Singapore Ministry of Health. Health Professionals Portal (HPP)
- Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica (SEFF)
- Sociedad Española de Farmacología
- Sociedad Española de Farmacología clínica
- Sociedad Española de Genética
- Sociedad Española de Oncología Médica
- Società Italiana di Farmacologia (SIF)
- Société suisse d'oncologie médicale
- Société suisse de pharmacologie clinique et de toxicologie (SGKPT)
- Society for Integrative Oncology
- Swedish Council on Technology Assessment in Health Care (SBU)
- Swiss Group of Pharmacogenomics and Personalised Therapy
- Swiss Medical Board
- Swiss Society of Medical Genetics
- The Commonwealth Fund
- The Health Council of the Netherlands
- The Health Foundation
- The Institute of Cancer Research
- The Medical Algorithms Company
- Trip Database
- U.S. Department of Health & Human Services (HHS) PharmGKB
- U.S. Department of Veterans Affairs
- U.S. Food and Drug Administration (FDA)
- U.S. Preventive Services Task Force (USPTF)
- UK National Screening Committee
- Unidade de Asesoramento Científico-técnico (AVALIA-T) Xunta de Galicia
- University of Michigan. Medicine. Clinical Care Guidelines
- Vanderbilt University Medical Center
- Vereniging Klinische Genetica Nederland (VKGN)

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

ANNEXE 4. TABLEAUX D'ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 11. Association entre le variant *DPYD**2A (*2A) et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine

Référence bibliographique Type d'étude	Variant = patients mutés / patients tot (taux mutationnel) +/- [nb d'études]	Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement	OR ou RR (toxicité globale G ≥ 3 +/- autres)	P value S ou NS	Se	VPP	Sp	VPN					
Terrazzino <i>et al.</i> , 2013 (9) Méta-analyse	*2A = 57 / 3 499 (1,62 %) [13 études]	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement Cancers : plusieurs localisations	Toxicité globale G ≥ 3 5,4 (IC95 % : 2,79-10,52)	p < 0,001 S	5,2 %		>99 %						
			Toxicité hématologique G ≥ 3 15,8 (IC95 % : 6,36-39,06)	p < 0,001 S									
			Mucite G ≥ 3 7,5 (IC95 % : 3,03-18,47)	p < 0,001 S									
			Diarrhée G ≥ 3 5,5 (IC95 % : 2,31-13,29)	p < 0,001 S									
			Rosmarin <i>et al.</i> , 2014 (54) Méta-analyse	*2A = NP / 1 035 [2 études] Capécitabine *2A = NP / 732 [2 études] Monothérapie 5FU en perfusion			Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement Cancer : CCR Traitement : capécitabine ou 5FU		Toxicité globale G ≥ 3 (Capécitabine) 3,0 (IC95 % : 0,78-11,70)	p = 0,11 NS			
					Toxicité globale G ≥ 3 (Monothérapie 5FU) 6,7 (IC95 % : 1,66-27,10)				p = 0,0075 Tendance S (seuil p < 0,0048)				
Diarrhée G ≥ 3 (Monothérapie 5FU) 7,7 (IC95 % : 1,61-36,90)	p = 0,011												
Méta-analyse faisant suite aux résultats d'une étude rétrospective sur essai randomisé de phase III (QUASAR2) incluant 927 patients. Nombre total de patients : 4 855 provenant de 16 études, dont QUASAR2 et 4 études communes avec [TERRAZZINO2013]. Méta-analyse non réalisable pour *2A et 5FU en bolus, ni pour c.2846A>T quel que soit le traitement car moins de deux études éligibles pour intégration dans une méta-analyse.													

Référence bibliographique Type d'étude	Variant = patients mutés / patients tot (taux mutationnel) +/- [nb d'études]	Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement	OR ou RR (toxicité globale G ≥ 3 +/- autres)	P value S ou NS	Se	VPP	Sp	VPN
Meulendijks <i>et al.</i>, 2015 (8) Méta-analyse	*2A = 60 / 5 737 (1,05 %) [7 études]	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement, durées hétérogènes selon les études Cancers : plusieurs localisations	2,9 (IC95 % : 1,75-4,62)	p < 0,0001 S				
Toffoli <i>et al.</i>, 2015 (55) Étude prospective-rétrospective	*2A = 12 Hz / 603 (1,99 %)	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1, 2 ou 3 Cancers : plusieurs localisations	12,6 (IC95 % : 2,9-51,0)	p = 0,003 S	8 %	67 %	99 %	85 %
Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, 2017A (40) Étude observationnelle prospective	*2A = 3 Hz / 243 (1,23 %)	Toxicités : toxicités gastro-intestinales, hématologiques, neurologiques, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2, jusqu'à 21j après la fin du cycle 2 Cancer : cancer du sein avancé Traitement : capécitabine seule ou en association, traitement adjuvant antérieur par FP autorisé	5,7 (IC95 % : 2,38-13,60)	p = 0,041 S	6,7 %		>99 %	

FP : fluoropyrimidines, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote, NP : non précisé, S/NS : significatif/non significatif, Se : sensibilité, Sp : spécificité, VPP/VPN : valeur prédictive positive/négative.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Tableau 12. Association entre le variant *DPYD**13 (*13) et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine

Référence bibliographique Type d'étude	Variant = patients mutés / patients tot (taux mutationnel) +/- [nb d'études]	Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement	OR ou RR (toxicité globale G ≥ 3 +/- autres)	P value S ou NS	Se	VPP	Sp	VPN
Meulendijks <i>et al.</i> , 2015 (8) Méta-analyse	*13 = 11 Hz / 5 616 (0,20 %) [5 études]	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement, durées hétérogènes selon les études Cancers : plusieurs localisations	4,4 (IC95 % : 2,08-9,30)	p < 0,0001 S	0,3 %	46 %		
Effectifs de patients porteurs du variant <i>DPYD</i> *13 pour le calcul de RR : 6 patients avec toxicité sévère versus 5 patients sans toxicité sévère. Les estimations de RR sont associées à une forte hétérogénéité (>70 %) avec un Q test positif pour <i>DPYD</i> *2A, c.2846A>T et <i>DPYD</i> *13.								
Toffoli <i>et al.</i> , 2015 (55) Étude prospective-rétrospective	*13 = 2 Hz / 595 (0,34 %) dont 1 Hz composite *2A/*13	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1, 2 ou 3 Cancers : plusieurs localisations	6,0 (IC95 % : 0,6-61)	p = 0,131 NS	1 %	50 %	100 %	84 %
Décès du patient hétérozygote composite *2A/*13 au cours du premier cycle.								
Meulendijks <i>et al.</i> , 2017A (38) Étude prospective-rétrospective	*13 = 3 / 1 605 (0,19 %) Cohorte initiale	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycle : 1 Cancers : plusieurs localisations	5,3	NS				
Différents critères de sélection (absence de radiothérapie, disponibilité d'un prélèvement avant traitement pour phénotypage...) ont restreint le nombre de patients inclus dans l'étude. Les données génotypiques et cliniques étaient cependant disponibles pour les 1 613 patients, permettant le calcul d'OR pour la cohorte initiale (avant processus de sélection).								

FP : fluoropyrimidines, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote, NP : non précisé, S/NS : significatif/non significatif, Se : sensibilité, Sp : spécificité, VPP/VPN : valeur prédictive positive/négative.

Tableau 13. Association entre le variant *DPYD* c.2846A>T et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine

Référence bibliographique Type d'étude	Variant = patients mutés / patients tot (taux mutationnel) +/- [nb d'études]	Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement	OR ou RR (toxicité globale G ≥ 3 +/- autres)	P value S ou NS	Se	VPP	Sp	VPN
Terrazzino <i>et al.</i> , 2013 (9) Méta-analyse	c.2846A>T = 34 / 2 308 (1,47 %) [6 études]	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement Cancers : plusieurs localisations	Toxicité globale G ≥ 3 8,2 (IC95 % : 2,65-25,25) Diarrhée G ≥ 3 6,0 (IC95 % : 1,77-20,66)	p < 0,001 S p = 0,004 S	5,4 %		>99 %	
Meulendijks <i>et al.</i> , 2015 (8) Méta-analyse	c.2846A>T = 85 / 7 318 (1,16 %) [8 études]	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement, durées hétérogènes selon les études Cancers : plusieurs localisations	3,0 (IC95 % : 2,22-4,10)	p < 0,0001 S				
Les données de l'étude rétrospective de [ROSMARIN2014] concernant c.2846A>T sont intégrées dans cette méta-analyse.								
Toffoli <i>et al.</i> , 2015 (55) Étude prospective-rétrospective	c.2846A>T = 5 Hz / 588 (0,85 %)	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1, 2 ou 3 Cancers : plusieurs localisations	7,8 (IC95 % : 1,5-41,80)	p = 0,048 S	3 %	60 %	100 %	85 %
Etienne-Grimaldi <i>et al.</i> , 2017A (40) Étude observationnelle prospective	c.2846A>T = 3 Hz / 243 (1,23 %)	Toxicités : toxicités gastro-intestinales, hématologiques, neurologiques, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2, jusqu'à 21j après la fin du cycle 2 Cancer : cancer du sein avancé Traitement : capécitabine seule ou en association, traitement adjuvant antérieur par FP autorisé	5,7 (IC95 % : 2,38-13,60)	p = 0,041 S	6,7 %		>99 %	
Meulendijks <i>et al.</i> , 2017A (38) Étude prospective-rétrospective	c.2846A>T = 6 / 547 (1,10 %) Cohorte "sélectionnée" c.2846A>T = 19 / 1 604 (1,18 %) Cohorte initiale	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycle : 1 Cancers : plusieurs localisations	4,5 (IC95 % : 0,65-31,00) 2,7	p = 0,129 NS NS				
Différents critères de sélection (absence de radiothérapie, disponibilité d'un prélèvement avant traitement pour phénotypage...) ont restreint le nombre de patients inclus dans l'étude. Les données génotypiques et cliniques étaient cependant disponibles pour les 1 613 patients, permettant le calcul d'OR pour la cohorte initiale (avant processus de sélection).								
Meulendijks <i>et al.</i> , 2017B (50) Analyse poolée de 3 études prospectives	c.2846A>T = 5 Hz / 185 (2,70 %)	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement Cancer : cancer gastrique avancé	1,7 (IC95 % : 0,3-11,2)	p = 0,58 NS				

FP : fluoropyrimidines, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote, NP : non précisé, S/NS : significatif/non significatif, Se : sensibilité, Sp : spécificité, VPP/VPN : valeur prédictive positive/négative.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Tableau 14. Association entre le variant HapB3 et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine

Référence bibliographique Type d'étude	Variant = patients mutés / patients tot (taux mutationnel) +/- [nb d'études]	Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement	OR ou RR (toxicité globale G ≥ 3 +/- autres)	P value S ou NS	Se	VPP	Sp	VPN
Meulendijks <i>et al.</i>, 2015 (8) Méta-analyse	HapB3 = 3 HZ / 4 261 (0,07 %) HapB3 = 174 Hz / 4 261 (4,08 %) [6 études]	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement, durées hétérogènes selon les études Cancers : plusieurs localisations	1,6 (IC95 % : 1,29-1,97)	p < 0,0001 S	6,4 %	41 %		
Lee <i>et al.</i>, 2016 (56) Étude ancillaire d'un essai clinique randomisé de phase III	HapB3 = 78 / 1 228 (6,35 %)	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1 à 12 Cancer : CCR Traitement : FOLFOX en adjuvant	1,5 (IC95 % : 0,90-2,43)	p = 0,13 NS				
Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, 2017A (40) Étude observationnelle prospective	HapB3 = 4 Hz / 243 (1,65 %)	Toxicités : toxicités gastro-intestinales, hématologiques, neurologiques, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2, jusqu'à 21j après la fin du cycle 2 Cancer : cancer du sein avancé Traitement : capécitabine seule ou en association, traitement adjuvant antérieur par FP autorisé		NS				
Meulendijks <i>et al.</i>, 2017A (38) Étude prospective-rétrospective	HapB3 = 22 / 547 (4,02 %) Cohorte "sélectionnée" HapB3 = 58 / 1 606 (3,61 %) Cohorte initiale	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycle : 1 Cancers : plusieurs localisations	0,8 (IC95 % : 0,16-3,53) 1,0	p = 0,721 NS NS				
<i>Différents critères de sélection (absence de radiothérapie, disponibilité d'un prélèvement avant traitement pour phénotypage...) ont restreint le nombre de patients inclus dans l'étude. Les données génotypiques et cliniques étaient cependant disponibles pour les 1 613 patients, permettant le calcul d'OR.</i>								
Meulendijks <i>et al.</i>, 2017B (50) Analyse poolée de 3 études prospectives	HapB3 = 15 HZ et Hz confondus / 185 (8,11 %)	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP, au cours du traitement Cancer : cancer gastrique avancé	0,8 (IC95 % : 0,3-2,4)	p = 0,66 NS				

FP : fluoropyrimidines, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote, NP : non précisé, S/NS : significatif/non significatif, Se : sensibilité, Sp : spécificité, VPP/VPN : valeur prédictive positive/négative.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Tableau 15. Association entre les variants combinés *DPYD**2A (*2A), c.2846A>T, *DPYD**13 (*13) et/ou HapB3 et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine

Référence bibliographique Type d'étude	Variant = patients mutés / patients tot (taux mutationnel) +/- [nb d'études]	Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement	OR ou RR (toxicité globale G ≥ 3 +/- autres)	P value S ou NS	Se	VPP	Sp	VPN
Toffoli <i>et al.</i>, 2015 (55) Étude prospective-rétrospective	*2A + c.2846A>T + *13 Analyse combinée	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1, 2 ou 3 Cancers : plusieurs localisations			12 %	61 %	99 %	86 %
Terrazzino <i>et al.</i>, 2013 Meulendijks <i>et al.</i>, 2015 (8, 9) Synthèse des données	Estimation de la sensibilité globale de la recherche des 4 variants sur la base des résultats des deux méta-analyses.				17 %			
Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, 2017A (40) Étude observationnelle prospective	*2A + c.2846A>T + *13 Analyse combinée	Toxicités : toxicités gastro-intestinales, hématologiques, neurologiques, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2, jusqu'à 21j après la fin du cycle 2 Cancer : cancer du sein avancé Traitement : capécitabine seule ou en association, traitement adjuvant antérieur par FP autorisé	6,7 (IC95 % : 3,7-12,2)	p < 0,001 S	1 %	71 %	99 %	89 %
Meulendijks <i>et al.</i>, 2017A (38) Étude prospective-rétrospective	c.2846A>T + *13 + HapB3 Analyse combinée	Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycle : 1 Cancers : plusieurs localisations			6 %	13 %	95 %	88 %
<i>Les patients *2A ont été exclus car, selon les auteurs, ils avaient été génotypés prospectivement et, sur la base de la présence du variant *2A, avaient reçu des posologies diminuées de FP. Il semble que les performances aient été calculées sur la cohorte "sélectionnée" de 550 patients.</i>								
FUSAFE, 2018 (16) Méta-analyse Résultats préliminaires	*2A + c.2846A>T + *13 = 192 Hz / 7 782 (2,47 %) [27 études] Analyse combinée	Toxicités : toxicité hématologique ou toxicité digestive, grade ≥ 4 Cycles : dans les 3 mois suivant le début du traitement Cancers : plusieurs localisations	9,2 (IC95 % : 6,6-13,0)	p < 0,0001 S	11 %	35 %	98 %	93 %

FP : fluoropyrimidines, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote, NP : non précisé, S/NS : significatif/non significatif, Se : sensibilité, Sp : spécificité, VPP/VPN : valeur prédictive positive/négative.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Tableau 16. Génomotypage des principaux variants *DPYD* : impact fonctionnel présumé, activité enzymatique, adaptations posologiques

Variant Fq allélique (caucasiens) [fq Hz – fq HZ]	Impact structural présumé Activité DPD <i>in vitro</i> (modèle cellulaire HZ)	Mesure d'activité DPD sur PBMC (en comparaison de patients "contrôles")	Ajustements posologiques proposés
<i>DPYD</i>*2A 0,8 % [1,5 % - 0,01 %]	Perte de l'exon 14 au moment de l'épissage aboutissant à un ARNm et une protéine tronqués (24) Offer <i>et al.</i> , 2013A ; Elraiyah <i>et al.</i> , 2017 : enzyme catalytiquement inactive (27, 32)	Nie <i>et al.</i> , 2017 : diminution de l'activité DPD de 50 % en moyenne chez 13 hétérozygotes pour *2A (66) van Kuilenburg <i>et al.</i> , 2016 : diminution de l'activité DPD (sans précision d'amplitude) chez 2 hétérozygotes pour *2A (22) Collie-Duguid <i>et al.</i> , 2000 : activité DPD normale chez 1 hétérozygote pour *2A (67) Henricks <i>et al.</i> , 2017 : activité DPD indétectable chez 1 homozygote pour *2A¹ (14) Autres données : exposition systémique au 5-FU deux fois supérieure à la normale chez les patients porteurs du variant <i>DPYD</i> *2A à l'état hétérozygote (13)	Allèle *2A : activité enzymatique nulle. KNMP, 2017 (44) *2A/*2A: contre-indication des FP. *1/*2A : diminution de 50 % de la posologie standard. Hétérozygote pour *2A + un des variants *13, c.2846A>T ou HapB3 : mesure de l'activité DPD dans les PBMC requise pour adapter la posologie initiale à l'activité DPD résiduelle car conséquences fonctionnelles différentes si les variants sont ou non sur le même allèle. CPIC, 2018 (29) *2A/*2A et *1/*2A : idem KNMP Hétérozygote pour *2A + un des variants *13, c.2846A>T ou HapB3 : contre-indication des FP ou diminution drastique de la posologie standard + suivi thérapeutique pharmacologique. GPCO-UNICANCER-RNPGx, 2018 (2) *2A/*2A et *1/*2A : idem KNMP et CPIC Hétérozygote pour *2A + un des variants *13, c.2846A>T ou HapB3 : contre-indication des FP.
c.2846A>T 0,6 % [1 % - 0,004 %]	Interférence avec la liaison des cofacteurs et le transport des électrons (9, 23). Offer <i>et al.</i> 2014, van Kuilenburg <i>et al.</i> , 2016 : diminution d'activité comprise entre 41 % et 65 % (22, 28).	Henricks <i>et al.</i> , 2018 : diminution de l'activité DPD de 34 % en moyenne chez 12 hétérozygotes pour c.2846A>T (37) Nie <i>et al.</i> , 2017 : diminution de l'activité DPD de 31 % en moyenne chez 12 hétérozygotes pour c.2846A>T (66) van Kuilenburg <i>et al.</i> , 2016 : activité DPD normale chez 1 hétérozygote pour c.2846A>T (22) Henricks <i>et al.</i> , 2017 : diminution de l'activité DPD de 71 et 90 % chez 2 homozygotes pour c.2846A>T (14)	Allèle c.2846A>T : activité enzymatique diminuée de 25 %. KNMP, 2017 ; CPIC, 2018 et GPCO-UNICANCER-RNPGx, 2018 2846T/2846T : diminution de 50 % de la posologie standard. *1/2846T: diminution de 25 % de la posologie standard.

¹ Traitement par capécitabine en monothérapie maintenu chez ce patient. Après survenue de toxicité de grade 3-4 avec des doses correspondant à 6,5 % de la posologie initiale prévue, traitement toléré par le patient sous des doses correspondant à 0,65 % de la posologie initiale puis ajout de bevacizumab et d'oxaliplatine.

Variant Fq allélique (caucasiens) [fq Hz – fq HZ]	Impact structural présumé Activité DPD <i>in vitro</i> (modèle cellulaire HZ)	Mesure d'activité DPD sur PBMC (en comparaison de patients "contrôles")	Ajustements posologiques proposés
DPYD*13 0,1 % [0,2 % - 0,0001 %]	Conséquences fonctionnelles à ce jour non clairement identifiées. Hypothèse de déstabilisation d'une région importante de la protéine (23). Offer <i>et al.</i> , 2013A : diminution de 75 % de l'activité DPD (27).	Nie <i>et al.</i> , 2017 : diminution de l'activité DPD de 68 % en moyenne chez 2 hétérozygotes pour *13 (66) Collie-Duguid <i>et al.</i> , 2000 : activité DPD à la limite de la normale (146 pmol/min/mg pour une normale > 150 pmol/min/mg) chez 1 hétérozygote pour *13 (67)	Allèle *13 : activité enzymatique nulle. KNMP, 2017 *13/*13 : contre-indication des FP. *1/*13 : diminution de 50 % de la posologie standard. Hétérozygote pour *13 + un des variants *2A, c.2846A>T ou HapB3 : mesure d'activité DPD dans les PBMC requise pour adapter la posologie initiale. CPIC, 2018 *13/*13 et *1/*13 : idem KNMP Hétérozygote pour *13 + un des variants *2A, c.2846A>T ou HapB3 : contre-indication des FP ou diminution drastique de la posologie standard + suivi thérapeutique pharmacologique. GPCO-UNICANCER-RNPGx, 2018 *13/*13 et *1/*13 : idem KNMP et CPIC Hétérozygote pour *13 + un des variants *2A, c.2846A>T ou HapB3 : contre-indication des FP.
HapB3 2,4 % [4,6 % - 0,06 %]	Variant qui entraînerait un épissage aberrant de l'ARN pré-messager, conduisant à un codon stop prématuré. Les niveaux d'ARNm sauvage seraient diminués de 30 % chez les Hz *1/HapB3. La présence d'ARNm sauvage a été rapportée chez les HZ HapB3/HapB3 (expression partielle d'une protéine non fonctionnelle ?) (68) Activité DPD <i>in vitro</i> : pas de données identifiées	Henricks <i>et al.</i> , 2018 : diminution de l'activité DPD de 20 % en moyenne chez 35 hétérozygotes pour HapB3 (37) Nie <i>et al.</i> , 2017 : diminution de l'activité DPD de 35 % en moyenne chez 56 hétérozygotes pour HapB3 (66) Henricks <i>et al.</i> , 2017 : diminution de l'activité DPD de 21 et 58 % chez 2 homozygotes pour HapB3² (14) Meulendijks <i>et al.</i> , 2016D : diminution de l'activité DPD d'environ 50 % par rapport à la médiane des valeurs normales (4,1 et 5,4 nmol/h/mg vs 5,9 à 14,0 nmol/h/mg) chez 2 homozygotes pour HapB3³ (69)	Haplotype B3 : activité enzymatique diminuée de 25 %. KNMP, 2017 ; CPIC, 2018 et GPCO-UNICANCER-RNPGx, 2018] HapB3/HapB3 : diminution de 50 % de la posologie standard. *1/HapB3 : diminution de 25 % de la posologie standard.

² Dans cette étude, le patient avec une diminution de 21 % de l'activité DPD a bien toléré le traitement aux doses standards.

³ Sous posologie standard, différentes toxicités (neutropénie, diarrhée, fatigue...) de grade 1 ou 2 sont survenues. Un 3^e patient HZ HapB3/HapB3 a bien toléré le traitement aux doses standards (activité DPD non disponible).

FP : fluoropyrimidines, Fq : fréquence, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Tableau 17. Génomotypage des principaux variants *DPYD* : utilité clinique, adaptations posologiques

Référence bibliographique Type d'étude Méthodologie	Variant(s) / Patients Toxicités / Cancer(s) / Traitement	Protocole d'adaptations posologiques Résultats
Deenen <i>et al.</i>, 2016 (13) Étude prospective multicentrique interventionnelle Recherche du variant <i>DPYD</i> *2A avant traitement par FP > adaptation de dose initiale en cas de présence du variant > réajustement ultérieur Cohorte historique : patients porteurs de *2A ayant reçu les doses initiales standards de FP dans des cohortes publiées Patients de l'étude : comparaison de l'incidence des toxicités entre les patients porteurs de *2A avec adaptation posologique et les non porteurs	Variant : <i>DPYD</i> *2A Patients Patients de l'étude, porteurs du variant *2A, avec adaptation posologique (patients "dose ajustée") : 18 hétérozygotes pour *2A (18 Hz *2A) Patients de l'étude, non porteurs du variant *2A, sans adaptation posologique : 1 613 Cohorte historique de patients, porteurs du variant *2A, ayant reçu les doses initiales standards (patients "dose standard") : 48 hétérozygotes pour *2A (48 Hz *2A) Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cancers : plusieurs localisations Traitement : FP seules ou en association	Diminution ≥ 50 % de la dose standard pendant les deux 1 ^e cycles puis réajustement en fonction de la tolérance au traitement (modalités de réajustement à la discrétion de l'oncologue). Dose médiane reçue par les 18 Hz *2A "dose ajustée" : 48 % des doses standards. Amplitude des doses après réajustement : entre 17 et 91 % des doses standards. Incidence des toxicités sévères significativement plus faible chez les 18 Hz *2A "dose ajustée" en comparaison des 48 Hz *2A "dose standard" de la cohorte historique : 28 % (IC95 % : 10-53 %) <i>versus</i> 73 % (IC95 % : 58-85 %), p < 0,001. Incidence des décès chez les 18 Hz *2A "dose ajustée" et chez les 48 Hz *2A "dose standard" de la cohorte historique : 0 % (0/18) <i>versus</i> 10 % (5/48). Incidence des toxicités sévères similaire chez les 18 Hz *2A "dose ajustée" et chez les 1 613 patients non porteurs du variant *2A de l'étude : 28 % <i>versus</i> 23 %, p = 0,64. Exposition pharmacocinétique "dose-normalisée" à la capécitabine et à certains de ses métabolites chez 16 Hz *2A "dose ajustée" proche de celle évaluée dans deux populations "normales" de 11 et 14 patients émanant de deux études (Reignier <i>et al.</i> , 1998 et Twelves <i>et al.</i> , 1999). Néanmoins, exposition au 5FU deux fois supérieure chez les 16 Hz *2A avec une AUC deux fois plus élevée.
Lunenburg <i>et al.</i>, 2016B (70) Étude rétrospective monocentrique Bilan de la recherche prospective de différents variants <i>DPYD</i> réalisée en routine en amont d'un traitement par FP	Variant : *2A, *13, c.2846A>T, HapB3 Patients 275 patients génotypés 5 hétérozygotes pour *2A 8 hétérozygotes pour HapB3 1 patient *2A / c.2846A>T Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cancers : plusieurs localisations Traitement : FP seules ou en association	Pour les 5 hétérozygotes pour *2A : diminution de 50 % de la dose standard recommandée par le laboratoire. Pour les 8 hétérozygotes pour HapB3 : diminution de 25 % de la dose standard recommandée par le laboratoire. Pour le patient *2A / c.2846A>T : mesure de l'activité DPD dans les PBMC recommandée par le laboratoire mais problèmes d'analyses et de délais et choix de diminuer la dose standard de 50 %. Finalement, des recommandations d'adaptation posologique ont été proposées aux cliniciens pour 11 patients (4 hétérozygotes pour *2A et 7 hétérozygotes pour HapB3). Elles ont été suivies pour 8 patients et aucun n'a développé de toxicité de grade ≥ 3 au cours du 1 ^{er} cycle. Une augmentation de la dose a alors été décidée pour 4 de ces patients et des toxicités de grade ≥ 3 sont survenues chez 2 d'entre eux.
Le panel de variants recherchés a évolué au fil du temps : *2A puis ajout de *13 et c.2846A>T puis HapB3.		

Référence bibliographique Type d'étude Méthodologie	Variant(s) / Patients Toxicités / Cancer(s) / Traitement	Protocole d'adaptations posologiques Résultats
Henricks <i>et al.</i>, 2018 (37) Étude prospective multicentrique interventionnelle Recherche des variants <i>DPYD</i>*2A, c.2846A>T, <i>DPYD</i>*13 et HapB3 avant traitement par FP > adaptation de dose initiale en cas de présence du variant > réajustement ultérieur Cohorte historique : patients porteurs de *2A ayant reçu les doses initiales standards de FP dans des cohortes publiées Patients de l'étude : comparaison de l'incidence des toxicités entre les patients porteurs d'un variant avec adaptation posologique et les non porteurs	Variant : <i>DPYD</i>*2A, c.2846A>T, <i>DPYD</i> *13 et HapB3 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cancers : plusieurs localisations Traitement : FP seules ou en association	En cohérence avec les résultats déjà apportés par Deenen <i>et al.</i>, diminution du risque de toxicités sévères chez les patients porteurs du variant <i>DPYD</i>*2A ayant reçu une dose initiale ajustée de fluoropyrimidine (de l'ordre de - 50 %, conformément à la RBP du KNMP) en comparaison de la cohorte historique de patients porteurs de variants <i>DPYD</i> ayant reçu une dose standard (dérivée de la méta-analyse de Meulendijks <i>et al.</i> de 2015) (RR = 1,31 [0,63-2,73] <i>versus</i> 2,87 [2,14-3,86]). À l'inverse, malgré l'ajustement posologique chez des patients porteurs du variant c.2846A>T ou HapB3, risque de toxicités sévères similaire à celui de la cohorte historique (RR = 2,00 [1,19-3,34] <i>versus</i> 3,11 [2,25-4,28] pour c.2846A>T et RR = 1,69 [1,18-2,42] <i>versus</i> 1,72 [1,22-2,42] pour HapB3) et incidence de survenue de ces toxicités supérieure à celle des patients de l'étude non porteurs de ces variants (47 % pour c.2846A>T et 39 % pour HapB3 <i>versus</i> 23 %) ³⁵. Pour <i>DPYD</i>*13, établissement d'un RR de toxicités sévères entre les patients de l'étude et ceux de la cohorte historique impossible car un seul patient de l'étude est porteur de ce variant. Incidence des toxicités sévères rapportée significativement supérieure chez les patients porteurs d'un variant <i>DPYD</i> ayant reçu une dose initiale ajustée de fluoropyrimidines en comparaison des patients de l'étude non porteurs de l'un des quatre variants ayant reçu une dose standard de fluoropyrimidines (33/85 [39 %] <i>versus</i> 231/1018 [23 %] ; p=0,0013). La prise en compte de l'ensemble des résultats de l'étude amène les auteurs à conclure que la réduction de 50 % de la dose initiale de fluoropyrimidine est pertinente chez les porteurs des variants *2A ou *13 mais non optimale chez les porteurs du variant c.2846A>T et HapB3

FP : fluoropyrimidines, Hz : hétérozygote, HZ : homozygote

³⁵ Significativité statistique non renseignée pour l'ensemble des résultats de cette étude ici présentés.

Tableau 18. Génotypage du gène *DPYD* et activité enzymatique dans les populations non caucasiennes (recherche bibliographique non exhaustive)

Référence bibliographique	Population étudiée (nombre, origine ethnique)	Méthode	Principaux résultats
Mattison <i>et al.</i>, 2006 (17)	Volontaires sains : 149 sujets afro-américains 109 sujets caucasiens	Évaluation du déficit en DPD par deux méthodes : [2- ¹³ C]-uracil breath test Mesure de l'activité DPD dans les PBMC	Diminution significative de l'activité DPD chez les sujets afro-américains en comparaison des sujets caucasiens mais avec un fort recoupement : 0,26 +/- 0,07 nmol/min/mg <i>versus</i> 0,29 +/- 0,07 nmol/min/mg, p = 0,002. Prévalence des déficits en DPD entre 2 et 3 fois plus élevée chez les sujets afro-américains que chez les sujets caucasiens mais différence non significative : 8,0 % [12/149] <i>versus</i> 2,8 % [3/109], p = 0,07.
Offer <i>et al.</i>, 2013B (71)	Volontaires sains : 94 sujets afro-américains 81 sujets caucasiens	Génotypage : séquençage des 23 exons <i>DPYD</i> et probablement des régions flanquantes introniques Mesure de l'activité DPD dans les PBMC	Détection de 30 variants : 16 au sein des exons (11 non synonymes et 5 synonymes) et 14 au sein des introns. 6 SNP retrouvés uniquement chez les sujets afro-américains et 3 uniquement chez les sujets caucasiens. Activité DPD diminuée de 10 % en moyenne chez les sujets afro-américains en comparaison des sujets caucasiens : p = 0,011. Diminution significative de 46 % de l'activité DPD chez les porteurs du variant Y186C, présent uniquement chez les sujets afro-américains (6,4 %) : p = 0,00029. 26 % des sujets afro-américains avec activité DPD diminuée sont porteurs de ce variant. Augmentation de l'activité DPD de 27 % chez les porteurs homozygotes de C29R en comparaison des sujets non porteurs du variant : p = 0,013 (exclusion des patients porteurs du variant Y186C de la cohorte afro-américaine).
Elraiyah <i>et al.</i>, 2017 (32)	Volontaires sains : 548 sujets somaliens 40 sujets kenyans	Génotypage : séquençage des 23 exons <i>DPYD</i> + UTR Mesure d'activité DPD sur modèle cellulaire <i>in vitro</i> Modélisation 3D de la protéine variante	Identification de 12 nouveaux variants non synonymes chez ces patients d'Afrique de l'Est dont 7 diminuent l'activité DPD <i>in vitro</i> Aucun des variants *2A, *13 et c.2846A>T identifiés chez ces patients
Hishinuma <i>et al.</i>, 2018 (30)	1 070 sujets japonais	Mesure d'activité DPD sur modèle cellulaire <i>in vitro</i> pour 21 variants identifiés Analyse pharmacocinétique	Diminution significative de la clairance intrinsèque (CL _{int}) du 5FU de 50 à 98 % pour 10 variants : T298M, V313L, V335M, A380V, V434L, V515I, R592W, T768K, H807R, V826M. Variant G926V : activité enzymatique indétectable aux plus hautes concentrations de 5FU (20 µM). Variant H25R : augmentation d'activité d'environ 50 %.

Tableau 19. Approches phénotypiques (uracilémie, UH2/U, U/UH2) pour prédire les toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine : associations/corrélations, seuils, performances

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Gamelin et al., 1999 (35) Étude observationnelle prospective	Patients : 81 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 2 Cycle : 1 puis ajustement éventuel du traitement en fonction des résultats du phénotypage Cancer : CCR avancé Traitement : 5FU en perfusion (de 9h à 17h pour éviter l'influence du rythme circadien de DPD) + acide folinique en bolus Mesures : U, UH2/U, 5FU Techniques : HPLC UV Pré-analytique : prélèvements à heure fixe, centrifugation immédiate à +4°C, congélation à -20°C	U : clairance plasmatique du 5FU, toxicités et seuil Mauvaise corrélation entre l'U et la clairance plasmatique du 5FU : $r = -0,39$. Pas de seuil d'U identifié pour prédire une toxicité sous 5FU. UH2/U : clairance plasmatique du 5FU, toxicités et seuil Corrélation significative entre le ratio UH2/U et les niveaux plasmatiques de 5FU ($r = 0,58$, $p < 0,001$) et la clairance plasmatique du 5FU ($r = 0,639$, $p < 0,001$). Corrélation moins bonne entre des ratios UH2/U élevés et la clairance plasmatique du 5FU. 23 % des patients identifiés avec un ratio UH2/U < 1,8 : 9 patients avec un ratio UH2/U ≤ 1,1 parmi lesquels 7 ont eu un ajustement de traitement et, <i>a priori</i>, 10 patients avec un ratio 1,1 < UH2/U < 1,8 parmi lesquels 4 ont eu un ajustement de traitement (données peu précises). Sur la base de cette expérience, seuil UH2/U = 1,8. UH2/U > 1,8 : patients non déficitaires, UH2/U < 1,8 : patients déficitaires.
Boisdron-Celle et al., 2007 (12) Étude observationnelle prospective	Patients : 252 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2 Cancer : CCR avancé ou traitement adjuvant par 5FU + acide folinique Traitement : 5FU + acide folinique, en bolus ou en perfusion Mesures : U + détection des variants *2A, c.2846A>T, *7, *12, *9B, *10, -1590T>C (promoteur) puis UH2/U pour confirmer le déficit en DPD et déterminer la dose optimale de 5FU Techniques : HPLC, pyroséquençage Pré-analytique : centrifugation immédiate à +4°C, cryopréservation à -70°C	U : clairance plasmatique du 5FU, toxicités, seuil et performances Corrélation significative et négative entre l'U et la clairance plasmatique du 5FU pour les deux traitements : $r = -0,221$, $p = 0,006$ pour le 5FU en bolus ; $r = -0,219$, $p = 0,05$ pour le 5FU en perfusion. Association significative entre U et risque de toxicité au 5FU avec augmentation d'U corrélée avec le grade de toxicité. Sur la base d'une courbe ROC, seuil U = 15 ng/ml. U < 15 ng/ml : patients non déficitaires, U > 15 ng/ml : patients déficitaires partiels. Sur la base de l'expérience de l'équipe (aucune référence), seuil U = 100 ng/ml. 15 < U < 100 ng/ml : patients déficitaires partiels, U > 100 ng/ml : patients déficitaires profonds. Aucune toxicité pour 3 patients U > 40ng/ml et nombreux patients 16 < U < 40 ng/ml. Performances de l'U pour prédire une toxicité sévère (prévalence fixée à 20 %) : Se = 88 %, Sp = 69 %, VPP = 42 %, VPN = 96 %. UH2/U : clairance plasmatique du 5FU, toxicités, seuil et performances Pas de corrélation significative entre le ratio UH2/U et la clairance plasmatique du 5FU. Association significative entre UH2/U et risque de toxicité au 5FU avec diminution d'UH2/U corrélée avec le grade de toxicité. Sur la base d'une courbe ROC, seuil UH2/U = 6. UH2/U > 6 : patients non déficitaires, UH2/U < 6 : patients déficitaires. Nombreux patients avec ratio UH2/U < 6 ne développant aucune toxicité. Performances d'UH2/U pour prédire une toxicité sévère (prévalence fixée à 20 %) : Se = 82 %, Sp = 78 %, VPP = 49 %, VPN = 95 %.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Yang <i>et al.</i>, 2011 (57) Étude prospective non contrôlée (phénotypage DPD et proposition adaptation de dose avant traitement)	Patients : 65 (avec adaptation de dose) comparés à 74 (groupe historique, sans adaptation de dose, modalités de sélection des patients non précisées) Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 et toxicités de grade 2 inhabituellement tardives Cycles : 1 ^{ère} ligne de chimiothérapie Cancer : cancer tête et cou Traitement : 5FU seul ou en association (97 %), traitement antérieur par 5FU autorisé Mesure : U/UH2 puis proposition d'adaptation de dose avant traitement en fonction du résultat Techniques : HPLC UV Pré-analytique : prélèvement entre 8h et 9h du matin, centrifugation, cryopréservation à -80°C	U/UH2 : toxicités et seuil U/UH2 < 2 : absence de déficit, 2 < U/UH2 < 3 : déficit modéré, 3 < U/UH2 < 5 : déficit sévère, U/UH2 > 5 : déficit très sévère (modalités de choix de ces seuils non détaillées). 48 % des patients avec adaptation de dose (31/65) identifiés comme modérément (2 < U/UH2 < 3, 28 %) ou sévèrement (U/UH2 > 3, 20 %) déficitaires en DPD. À noter que ce taux est très supérieur à ceux retrouvés dans les études Launay <i>et al.</i> , 2016 et Launay <i>et al.</i> , 2017. Proposition par le laboratoire de diminution de la dose initiale entre 10 et 50 % chez les patients avec U/UH2 > 2. 9 % des patients avec adaptation de dose (6/65) ont développé des toxicités sévères contre 22 % pour les patients sans adaptation de dose (16/74). Différence à la limite de la significativité entre les deux groupes : p = 0,046. Pas de décès toxique chez les patients avec adaptation de dose, un décès chez les patients sans adaptation de dose.
Milano <i>et al.</i>, 2013 (58) Étude observationnelle prospective (<i>abstract</i>)	Patients : 286 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2 Cancer : cancer du sein Traitement : capécitabine en monothérapie (88 %) Mesures : U Techniques : HPLC	U : toxicités U plus élevée chez les patients développant une toxicité sévère (médiane = 12,7 ng/ml) par rapport à ceux n'en développant pas (médiane = 10,2 ng/ml). Cependant, sur la base d'une courbe ROC, différence trop faible ne permettant pas d'utiliser l'U pour prédire une toxicité (p = 0,014) et fort recouvrement des valeurs d'U entre les patients développant une toxicité sévère (9 < U < 17 ng/ml) et ceux n'en développant pas (8 < U < 13 ng/ml). Décès toxique d'un patient porteur hétérozygote du variant <i>DPYD</i> c.2846A>T avec une U de 17 ng/ml. À noter Cet <i>abstract</i> semble présenter les résultats préliminaires de l'étude ultérieure (Etienne-Grimaldi <i>et al.</i> , 2017A).

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◀

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Sistonen et al., 2014 (39) Étude observationnelle prospective	Patients : 26 patients + 320 volontaires sains Cycles : 1 ou 2 Cancer : cancer gastro-intestinal Traitement : 5FU en perfusion Mesures : U avant traitement puis 15, 45, 60 et 120 min après le début du traitement, UH2/U Techniques : HPLC MS/MS, séquençage Pré-analytique : prélèvements à intervalles fixes, placés immédiatement à +4°C, centrifugés dans l'heure et congelés à -20°C	UH2/U vs U Corrélation négative exponentielle entre le ratio UH2/U et l'U chez les patients et les volontaires sains. Augmentation de la valeur et de la variabilité des ratios UH2/U pour les faibles valeurs de U. UH2/U : toxicités Ratio UH2/U significativement plus élevé avant traitement que durant la perfusion de 5FU (15, 45, 60 et 120 min) chez les patients. Meilleure corrélation entre le ratio UH2/U et l'exposition au 5FU à chaque point de mesure durant le traitement qu'avant traitement, suggérant que le ratio UH2/U reflète l'état non saturé de l'enzyme DPD à de faibles concentrations de U et qu'il prédit mieux l'activité DPD à de hautes concentrations de substrat. Avant traitement, la majeure part des différences interindividuelles du ratio UH2/U serait attribuable à la concentration de U plutôt qu'à l'activité DPD. Conclusion Mesuré avant traitement, le ratio UH2/U est un mauvais prédicteur d'une activité altérée de DPD et d'une toxicité aux FP.
Launay et al., 2016 (6) Étude prospective non contrôlée (phénotypage DPD et proposition adaptation de dose avant traitement)	Patients : 59 Toxicités : toxicités sévères précoces, toxicités sévères tardives (+42j après la 1 ^e administration) Cycles : NP Cancers : cancers digestifs Traitement : 5FU seul ou en association Mesures : UH2/U Techniques : HPLC UV Pré-analytique : NP	UH2/U : toxicités et seuil UH2/U > 4 : absence de déficit, proposition de dose initiale standard 2 < UH2/U < 4 : déficit modéré, proposition de diminution de dose de 15 % 1 < UH2/U < 2 : déficit intermédiaire, proposition de diminution de dose de 30 % 0,5 < UH2/U < 1 : déficit profond, proposition de diminution de dose de 50 % UH2/U < 0,5 : déficit complet, proposition de contre-indication aux FP. 25 % des patients identifiés comme déficitaires en DPD (15/59) (rappel [YANG2011] : 48 %) : 2 < UH2/U < 4 = 13,6 % (8 patients), 1 < UH2/U < 2 = 10,2 % (6 patients), UH2/U < 1 = 1,7 % (1 patient). Aucun patient UH2/U < 4 avec adaptation de dose n'a développé des toxicités sévères précoces (0/15) contre 5 % pour les patients non déficitaires (2/44). Adaptation de traitement possible que le patient soit déficitaire ou non en fonction de différents facteurs : âge, état de santé, comorbidités...
van Kuilenburg et al., 2016 (22) Étude observationnelle prospective	Patients : 1 patient + 100 volontaires sains Mesures : U, U/UH2 + séquençage des 23 exons DPYD et des régions flanquantes introniques Techniques : HPLC, séquençage	U/UH2 vs U : activité DPD dans les PBMC Corrélation significative et négative entre l'U et l'activité DPD dans les PBMC : r = -0,23, p = 0,023. Absence de corrélation entre le ratio U/UH2 et l'activité DPD dans les PBMC : r = -0,10, p = 0,485.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◀

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Meulendijks <i>et al.</i>, 2016A (15) Étude prospective-rétrospective	Patients : 507 (non porteurs du variant <i>DPYD</i> *2A) Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2 Cancers : NP Traitement : capécitabine seule ou en association Mesures : U Technique : NP	U : toxicités Association significative entre l'augmentation de l'U (par 10 ng/ml) et le risque de toxicité de grade ≥ 3 : OR = 2,41 (IC95 % : 1,31-4,44), p = 0,0046. Tendance vers une augmentation du risque de toxicité gastro-intestinale sévère sous FP pour les patients d'origine africaine en comparaison avec des patients d'autres ethnies : OR = 3,55 (IC95 % : 0,95-13,20), p = 0,0593 (calcul sur un effectif de 113 patients chez lesquels une toxicité gastro-intestinale sévère est survenue).
Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, 2017A (40) Étude observationnelle prospective	Patients : 230 Toxicités : toxicités gastro-intestinales, hématologiques, neurologiques, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2, jusqu'à 21j après la fin du cycle 2 Cancer : cancer du sein avancé Traitement : capécitabine seule ou en association, traitement adjuvant antérieur par FP autorisé Mesures : U, UH2/U Technique : HPLC UV Pré-analytique : prélèvement entre 8h et 11h du matin, conservation dans la glace, centrifugation à +4°C, cryopréservation à -80°C	Pré-analytique et analytique Mesures de U et UH2/U réalisées dans 3 laboratoires. CQE mis en place sur 52 échantillons. Valeurs moyennes retrouvées avec un écart de +/- 15 %. 1 contrôle U à + 22 %, 3 contrôles UH2/U à - 25, - 19 et + 19 %. Différence significative d'U et d'UH2/U pour un centre investigateur suggérant un non-respect des conditions pré-analytiques impactant les mesures. Données exclues. UH2/U : toxicités Pas de différence significative entre les ratios UH2/U des patients développant ou non une toxicité de grade 3-4. Absence de corrélation entre le ratio UH2/U et le risque de toxicité. U : toxicités, seuil et performances Pas de différence significative d'U entre les patients développant ou non une toxicité de grade 3-4. Association significative entre U ≥ 16 ng/ml et risque de toxicité de grade 4 (RR = 20,6, p = 0,021). Absence de toxicités de grade 3-4 chez 5 patients avec une U ≥ 24 ng/ml. Performances de l'U (U ≥ 16 ng/ml) pour prédire une toxicité sévère précoce de grade 4 : Se = 66,7 %, Sp = 92 %, VPP = 11,1 %, VPN = 99,5 % . Corrélation <i>a priori</i> basée sur les résultats de 3 patients : U = 16,7 ng/ml (patient décédé), 12,9 ng/ml (toxicité de grade 4), et 22,0 ng/ml (toxicité de grade 4).

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◄

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Launay <i>et al.</i>, 2017 (10) Étude prospective non contrôlée (phénotypage DPD et proposition adaptation de dose avant traitement)	Patients : 218 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : NP Cancer : cancer tête et cou Traitement : 5FU seul ou en association, traitement antérieur par 5FU autorisé Mesures : UH2/U Techniques : HPLC UV Pré-analytique : NP	UH2/U : toxicités et seuil UH2/U > 4 : absence de déficit, proposition de dose initiale standard 3 < UH2/U < 4 : zone grise, pas d'ajustement systématique de dose 2 < UH2/U < 3 : déficit modéré, proposition de diminution de dose de 20 % 1 < UH2/U < 2 : déficit intermédiaire, proposition de diminution de dose de 30 % 0,5 < UH2/U < 1 : déficit profond, proposition de diminution de dose de 50 % UH2/U < 0,5 : déficit complet, proposition de contre-indication aux FP Seuils intermédiaires non totalement identiques à ceux présentés au sein de la publication Launay <i>et al.</i> , 2016. 9 % (20/220) et 1 % (34/220) des patients identifiés comme déficitaires en DPD avec, respectivement, des ratios UH2/U < 3 et compris entre 3 et 4 (Yang <i>et al.</i> , 2011 : 48 %). Pas d'adaptation de traitement systématique chez les patients 3 < UH2/U < 4. 11 % des patients UH2/U < 3 avec adaptation de dose ont développé des toxicités globales sévères (2/18, 2 patients exclus car adaptation de traitement non confirmée) contre 13 % pour les patients non déficitaires sans adaptation de dose (26/200). Pas de différence significative entre les deux groupes : p = 0,7875. Adaptation de traitement chez 20 % des patients non déficitaires (40/201) du fait d'une suspicion possible de toxicité non liée à DPD (âge, état de santé, comorbidités...).
Meulendijks <i>et al.</i>, 2017A (38) Étude prospective-rétrospective	Patients : 550 patients (non porteurs du variant DPYD*2A) + 20 volontaires sains Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycle : 1 Cancer : plusieurs localisations Traitement : capécitabine +/- autre traitement (87 %), 5FU (13 %) Mesures : U, DHU/U, activité DPD dans les PBMC Technique : HPLC MS/MS Groupes de patients : 1. U > 16 ng/ml (percentiles 98-100, n = 17) 2. U = 13,9-16 ng/ml (95-97, n = 17) 3. U = 13-13,8 ng/ml (92-94, n = 16) 4. U < 13 ng/ml (0-91, n = 500)	DHU/U vs U : activité DPD dans les PBMC Corrélation significative entre l'U et l'activité DPD dans les PBMC chez les 20 volontaires sains : r = -0,51, p = 0,023 Par rapport au ratio DHU/U, l'U est mieux corrélée à l'activité DPD dans les PBMC et est supérieure pour prédire une toxicité sévère. U : toxicités et performances Risque de toxicité globale sévère aux FP significativement augmenté pour les patients des groupes 1 (OR = 8,2, p = 0,0004) et 2 (OR = 5,3, p = 0,0087) par rapport aux patients du groupe 4. Augmentation linéaire du risque de toxicité globale sévère corrélée à l'augmentation d'U de 8 et 20 ng/ml. 0,4 % de décès toxiques pour les patients du groupe 4 (2/500) <i>versus</i> 11 % pour les patients du groupe 1 (2/18, p = 0,0011). Augmentation de l'OR de 2,75 lorsque l'U augmente de 10 ng/ml. Performances de l'U (U $\geq 13,9$ ng/ml) pour prédire une toxicité sévère précoce : Se = 18 % , Sp = 95 % , VPP = 35 % , VPN = 90 % . Conclusion Augmentation du risque de toxicité sévère, respectivement significative et probable, pour les patients des groupes 1 (U ≥ 16 ng/ml) et 2 (U = 13,9-16ng/ml).

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◀

Tableau 20. Approche combinée (génotypage [G] + phénotypage [P]) pour prédire les toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine : corrélations [G] et [P], performances [G+P]

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Boisdron-Celle et al., 2007 (12) Étude observationnelle prospective	Patients : 209 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2 Cancer : CCR avancé ou traitement adjuvant par 5FU + acide folinique Traitement : 5FU + acide folinique, en bolus ou en perfusion Mesures : U + détection des variants *2A, c.2846A>T, *7, *12, *9B, *10, -1590T>C (promoteur) puis UH2/U pour confirmer le déficit en DPD et déterminer la dose optimale de 5FU Techniques : HPLC, pyroséquençage Pré-analytique : centrifugation immédiate à +4°C, cryopréservation à -70°C	[G+P] : corrélations Corrélation significative entre UH2/U et <i>DPYD</i>*2A ($p < 0,001$) et entre UH2/U et c.2846A>T ($p = 0,001$). Association non significative entre U et <i>DPYD</i>*2A ($p = 0,36$) et entre U et c.2846A>T ($p = 0,07$). [G+P] : performances [G] : Se = 47 %, Sp = 99 %, VPP = 75 % (prévalence 10 %) ou 87 % (prévalence 20 %), VPN = 94 % (prévalence 10 %) ou 88 % (prévalence 20 %) [U] : Se = 88 %, Sp = 69 %, VPP = 24 % ou 42 %, VPN = 98 % ou 96 % [UH2/U] : Se = 82 %, Sp = 78 %, VPP = 30 % ou 49 %, VPN = 98 % ou 95 % [G+U], [G+UH2/U] ou [G+U+UH2/U] : performances de ces combinaisons similaires à celles du [G] seul, avec Se : entre 41 et 47 %, Sp : autour de 98 %, VPP : de l'ordre de 75 % (prévalence 10 %) ou 90 % (prévalence 20 %), VPN : de l'ordre de 94 % ou 88 %.
Sistonen et al., 2014 (39) Étude observationnelle prospective	Patients : 26 patients + 320 volontaires sains Traitement : 5FU en perfusion Mesures : U avant traitement puis 15, 45, 60 et 120 min après le début du traitement, UH2/U Séquençage des 23 exons <i>DPYD</i> et des régions flanquantes introniques pour les 26 patients Séquençage des variants *2A, c.2846A>T, *13, HapB3, c.234-123G>C, c.496A>G, c.775A>G et des exons 2, 8, 11 et 13 pour les 320 volontaires sains Techniques : HPLC MS/MS, séquençage Pré-analytique : prélèvements à intervalles fixes, [G] : tube conservé +4°C, [P] : tube placé immédiatement à +4°C, centrifugé dans l'heure et congelé à -20°C	[G+P] : corrélations Corrélation significative mais faible entre UH2/U et variants <i>DPYD</i> combinés *2A, c.2846A>T, *13 et HapB3 ($R^2 = 0,021$, $p = 0,010$), entre UH2/U et HapB3 ($R^2 = 0,013$, $p = 0,044$). Diminution significative du ratio UH2/U entre porteurs des variants <i>DPYD</i> *2A, c.2846A>T, *13 ou HapB3 et non porteurs mais recouvrement important. [G+P] : conclusion Mesuré avant traitement, contribution négligeable des variants <i>DPYD</i> aux différences interindividuelles du ratio UH2/U.

Référence bibliographique Type d'étude	Patients / Toxicités / Cycle(s) / Cancer(s) / Traitement / Test(s) de phénotypage étudié(s)	Performances et autres résultats (au regard de la toxicité globale de grade ≥ 3)
Etienne-Grimaldi <i>et al.</i>, 2017A (40) Étude observationnelle prospective	Patients : 205 Toxicités : toxicités gastro-intestinales, hématologiques, neurologiques, grade ≥ 3 Cycles : 1 ou 2, jusqu'à 21j après la fin du cycle 2 Cancer : cancer du sein avancé Traitement : capécitabine seule ou en association, traitement adjuvant antérieur par FP autorisé Mesures : U, UH2/U + séquençage des 23 exons <i>DPYD</i> et des régions flanquantes introniques Techniques : HPLC UV, séquençage, test fonctionnel <i>in silico</i> avec le logiciel UMD-Predictor Pré-analytique : : prélèvement entre 8h et 11h du matin, conservation dans la glace, centrifugation à +4°C, cryopréservation à -80°C	[G+P] : corrélations Parmi l'ensemble des variants identifiés (incluant *2A, *13, c.2846A>T, HapB3), seuls *2A et c.2846A>T sont associés significativement à un ratio UH2/U bas (6-8) tandis que seul c.2846A>T est associé significativement à une U élevée (16 ng/ml). [G+P] : performances [G] (*2A, c.2846A>T, *13) : Se = 17 %, VPP = 71 % [P] (U ≥ 16 ng/ml) : Se = 13 %, VPP = 17 % En comparaison avec le [G] seul des variants *2A, c.2846A>T, *13, pas d'amélioration de la prédiction de toxicités de grade ≥ 3 en combinant [G] et [P] (U ≥ 16 ng/ml) : Se = 21 %, VPP = 24 % Les meilleures performances sont obtenues avec la recherche des variants délétères *2A, c.2846A>T, *13, complétés par les variants S492L, R592W, D342G, F100L (déficients selon test fonctionnel <i>in silico</i>) : Se = 27 %, VPP = 73 %
Meulendijks <i>et al.</i>, 2017A (38) Étude prospective-rétrospective	Patients : 550 Toxicités : toute toxicité, grade ≥ 3 Cycle : 1 Cancer : plusieurs localisations Traitement : capécitabine +/- autre traitement (87 %), 5FU (13 %) Mesures : U, DHU/U, activité DPD dans les PBMC + c.2846A>T, *13, HapB3, c.1601G>A, TYMS 5'-UTR VNTR, TYMS 3'-UTR 6-bp ins/del Technique : HPLC MS/MS, séquençage	[G+P] : corrélations Corrélation significative entre variants <i>DPYD</i> combinés et U (p = 0,009), entre c.2846A>T et U (+82 %, p < 0,001), entre *13 et U (+41 %, p = 0,024). Association non significative entre HapB3 et U (+12 %, p = 0,105). [G+P] : performances [G] (c.2846A>T, *13, HapB3) : Se = 6 %, Sp = 95 %, VPP = 13 %, VPN = 88 % [P] (U ≥ 13,9 ng/ml) : Se = 18 %, Sp = 95 %, VPP = 35 %, VPN = 90 % En comparaison avec le [G] seul des variants c.2846A>T, *13 et HapB3 (absence de <i>DPYD</i> *2A), amélioration de la prédiction de toxicités de grade ≥ 3 en combinant [G] et [P] (U ≥ 13,9 ng/ml), : Se = 22 %, Sp = 91 %, VPP = 24 %, VPN = 90 % En comparaison avec [P] seul (U ≥ 13,9 ng/ml), pas d'amélioration de la prédiction de toxicités de grade ≥ 3 en combinant [G] et [P]. <i>Les patients *2A ont été exclus car, selon les auteurs, ils avaient été génotypés prospectivement et, sur la base de la présence du variant *2A, avaient reçu des posologies diminuées de FP.</i>

FP : fluoropyrimidines, NP : non précisé, U : uracilmémie, Se : sensibilité, Sp : spécificité, VPP/VPN : valeur prédictive positive/négative.

| RECOMMANDATIONS & RÉFÉRENTIELS |

► Recherche de déficit en DPD en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines ◀

ANNEXE 5. LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1. Autorisations de mise sur le marché (AMM) et indications thérapeutiques des fluoropyrimidines en France	16
Tableau 2. Incidences estimées des toxicités sévères sous fluoropyrimidines	18
Tableau 3. Principaux variants <i>DPYD</i> recherchés et fréquences estimées/calculées dans les populations d'origine caucasienne.....	22
Tableau 4. Principaux éléments des RBP émises par les sociétés savantes/consortiums spécialisés en pharmacologie.....	29
Tableau 5. Critères de sélection ayant permis la constitution du corpus bibliographique	32
Tableau 6. Association des quatre principaux variants <i>DPYD</i> avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3) et performances prédictives de la recherche de ces variants.....	38
Tableau 7. Association du ratio UH2/U avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3)	45
Tableau 8. Valeurs seuils utilisées pour l'interprétation du rapport UH2/U dans la littérature	46
Tableau 9. Valeurs seuils utilisées pour l'interprétation du rapport UH2/U dans trois laboratoires où exercent certains membres du groupe de travail	47
Tableau 10. Association de la mesure de l'uracilémie avec la survenue de toxicités sévères sous fluoropyrimidines (grade ≥ 3).....	48
Tableau 11. Association entre le variant <i>DPYD</i> *2A (*2A) et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine.....	77
Tableau 12. Association entre le variant <i>DPYD</i> *13 (*13) et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine.....	79
Tableau 13. Association entre le variant <i>DPYD</i> c.2846A>T et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine	80
Tableau 14. Association entre le variant HapB3 et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine.....	81
Tableau 15. Association entre les variants combinés <i>DPYD</i> *2A (*2A), c.2846A>T, <i>DPYD</i> *13 (*13) et/ou HapB3 et la survenue de toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine	82
Tableau 16. Génotypage des principaux variants <i>DPYD</i> : impact fonctionnel présumé, activité enzymatique, adaptations posologiques.....	83
Tableau 17. Génotypage des principaux variants <i>DPYD</i> : utilité clinique, adaptations posologiques.....	85
Tableau 18. Génotypage du gène <i>DPYD</i> et activité enzymatique dans les populations non caucasiennes (recherche bibliographique non exhaustive)	87
Tableau 19. Approches phénotypiques (uracilémie, UH2/U, U/UH2) pour prédire les toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine : associations/corrélations, seuils, performances	88
Tableau 20. Approche combinée (génotypage [G] + phénotypage [P]) pour prédire les toxicités de grade ≥ 3 sous fluoropyrimidine : corrélations [G] et [P], performances [G+P].....	93
Figure 1. Voies cataboliques des pyrimidines	20
Figure 2. Dans le cadre de l'enquête INCa-HAS menée auprès de sept laboratoires français, description et répartition des 38 862 patients ayant bénéficié d'une mesure d'uracilémie	58

ANNEXE 6. LISTE DES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Centre Antoine Lacassagne. Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency screening to avoid severe fluoropyrimidine-related toxicities: Meta-analyses and assessment of current practices in France. FUSAFE. Nice: Centre Antoine Lacassagne; 2014.
2. Lorient MA, Ciccolini J, Thomas F, Barin-Le-Guellec C, Royer B, Milano G, *et al.* Dépistage du déficit en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de fluoropyrimidines : mise au point et recommandations nationales du GPCO-Unicancer et du RNPx. *Bulletin du cancer* 2018;105(4):397-407.
3. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Morel A. Dépistage des patients déficitaires en dihydropyrimidine déhydrogénase avant traitement par fluoropyrimidines. *Thérapie* 2007;62(2):99-103.
4. Cancer Research UK. DPD deficiency and fluorouracil. Oxford: CRUK; 2017. <http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/chemotherapy/side-effects/dpd-deficiency-and-fluorouracil>
5. Hamzic S, Amstutz U, Larijader CR. Come a long way, still a ways to go: from predicting and preventing fluoropyrimidine toxicity to increased efficacy? *Pharmacogenomics* 2018;19(8):689-92.
6. Launay M, Dahan L, Duval M, Rodallec A, Milano G, Duluc M, *et al.* Beating the odds: efficacy and toxicity of dihydropyrimidine dehydrogenase-driven adaptive dosing of 5-FU in patients with digestive cancer. *British journal of clinical pharmacology* 2016;81(1):124-30.
7. Lunenburg C, Henricks LM, Guchelaar HJ, Swen JJ, Deenen MJ, Schellens JHM, *et al.* Prospective DPYD genotyping to reduce the risk of fluoropyrimidine-induced severe toxicity: Ready for prime time. *Eur J Cancer* 2016;54:40-8.
8. Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS, Deenen MJ, Froehlich TK, Amstutz U, *et al.* Clinical relevance of DPYD variants c.1679T>G, c.1236G>A/HapB3, and c.1601G>A as predictors of severe fluoropyrimidine-associated toxicity: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2015;16(16):1639-50.
9. Terrazzino S, Cargnin S, Del Re M, Danesi R, Canonico PL, Genazzani AA. DPYD IVS14+1G>A and 2846A>T genotyping for the prediction of severe fluoropyrimidine-related toxicity: a meta-analysis. *Pharmacogenomics* 2013;14(11):1255-72.
10. Launay M, Ciccolini J, Fournel C, Blanquicett C, Dupuis C, Fakhry N, *et al.* Upfront DPD Deficiency Detection to Secure 5-FU Administration: Part 2-Application to Head-and-Neck Cancer Patients. *Clinical Cancer Drugs* 2017(4):122-8.
11. Boisdron-Celle M, Capitain O, Faroux R, Borg C, Metges JP, Galais MP, *et al.* Prevention of 5-fluorouracil-induced early severe toxicity by pretherapeutic dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency screening: Assessment of a multiparametric approach. *Semin Oncol* 2017;44(1):13-23.
12. Boisdron-Celle M, Remaud G, Traore S, Poirier AL, Gamelin L, Morel A, *et al.* 5-Fluorouracil-related severe toxicity: a comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Cancer Lett* 2007;249(2):271-82.
13. Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A, Sechterberger MK, Severens JL, Boot H, *et al.* Upfront Genotyping of DPYD*2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *J Clin Oncol* 2016;34(3):227-34.
14. Henricks LM, Opdam FL, Beijnen JH, Cats A, Schellens JHM. DPYD genotype-guided dose individualization to improve patient safety of fluoropyrimidine therapy: call for a drug label update. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 2017;28(12):2915-22.
15. Meulendijks D, van Hasselt JGC, Huitema ADR, van Tinteren H, Deenen MJ, Beijnen JH, *et al.* Renal function, body surface area, and age are associated with risk of early-onset fluoropyrimidine-associated toxicity in patients treated with capecitabine-based anticancer regimens in daily clinical care. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 2016;54:120-30.
16. Unicancer, Réseau national de pharmacogénétique, Etienne MC, Pignon JP. PHRC FUSAFE. Résultats préliminaires Villejuif: Institut Gustave Roussy; 2018. <https://www.gustaveroussy.fr/fr/meta-analyse-et-autres-cancers>
17. Mattison LK, Fourie J, Desmond RA, Modak A, Saif MW, Diasio RB. Increased prevalence of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in African-Americans compared with Caucasians. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2006;12(18):5491-5.

18. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention. Recommendations from the EGAPP Working Group: can UGT1A1 genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan? *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2009;11(1):15-20.
19. U.S. Food and Drug Administration. Vistogard® (uridine triacetate) oral granules [En ligne] 2015. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/208159s000lbl.pdf
20. Boisdron-Celle M, Guérin-Meyer V, Capitain O. 5-fluorouracile : MSI, pharmacocinétique, DPD, TYMS et MTHFR. Dans: Bouché O, Laurent-Puig P, ed. *Médecine personnalisée en cancérologie digestive. Vers un traitement à la carte*. Paris: Springer- Verlag; 2013. p. 75-92.
21. Launay M. Développement d'une stratégie pour la sécurisation des chimiothérapies anticancéreuses : application au ciblage posologique du 5-Fluoro-Uracile Marseille: Université d'Aix-Marseille; 2017.
22. van Kuilenburg A, Meijer J, Tanck MWT, Dobritzsch D, Zoetekouw L, Dekkers LL, *et al.* Phenotypic and clinical implications of variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene. *Biochimica et biophysica acta* 2016;1862(4):754-62.
23. Henricks LM, Lunenburg CA, Meulendijks D, Gelderblom H, Cats A, Swen JJ, *et al.* Translating DPYD genotype into DPD phenotype: using the DPYD gene activity score. *Pharmacogenomics* 2015;16(11):1277-86.
24. Meulendijks D, Cats A, Beijnen JH, Schellens JH. Improving safety of fluoropyrimidine chemotherapy by individualizing treatment based on dihydropyrimidine dehydrogenase activity - Ready for clinical practice? *Cancer Treat Rev* 2016;50:23-34.
25. Mercier C, Ciccolini J. Profiling dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in patients with cancer undergoing 5-fluorouracil/capecitabine therapy. *Clin Colorectal Cancer* 2006;6(4):288-96.
26. Morel A, Boisdron-Celle M, Fey L, Soulie P, Craipeau MC, Traore S, *et al.* Clinical relevance of different dihydropyrimidine dehydrogenase gene single nucleotide polymorphisms on 5-fluorouracil tolerance. *Mol Cancer Ther* 2006;5(11):2895-904.
27. Offer SM, Wegner NJ, Fossum C, Wang K, Diasio RB. Phenotypic profiling of DPYD variations relevant to 5-fluorouracil sensitivity using real-time cellular analysis and in vitro measurement of enzyme activity. *Cancer Res* 2013;73(6):1958-68.
28. Offer SM, Fossum CC, Wegner NJ, Stuflesser AJ, Butterfield GL, Diasio RB. Comparative functional analysis of DPYD variants of potential clinical relevance to dihydropyrimidine dehydrogenase activity. *Cancer Res* 2014;74(9):2545-54.
29. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, Barbarino J, Schellens JHM, Swen JJ, *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther* 2018;103(2):210-6.
30. Hishinuma E, Narita Y, Saito S, Maekawa M, Akai F, Nakanishi Y, *et al.* Functional characterization of 21 allelic variants of dihydropyrimidine dehydrogenase identified in 1,070 Japanese individuals. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2018.
31. Caudle KE, Thorn CF, Klein TE, Swen JJ, McLeod HL, Diasio RB, *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94(6):640-5.
32. Elraiyah T, Jerde CR, Shrestha S, Wu R, Nie Q, Giam NH, *et al.* Novel Deleterious Dihydropyrimidine Dehydrogenase Variants May Contribute to 5-Fluorouracil Sensitivity in an East African Population. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2017;101(3):382-90.
33. Institut national d'excellence en santé et en services sociaux. Génompage de la mutation DPYD*2A du gène de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPYD) par PCR en temps réel (référence – 2016.02.001). Québec: INESSS; 2017. https://www.INESSS.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse_biomedicale/Fevrier_2017/01-Genotypage_mutation_DPYD-2A.pdf
34. Fleming RA, Milano G, Thyss A, Etienne MC, Renée N, Schneider M, *et al.* Correlation between dihydropyrimidine dehydrogenase activity in peripheral mononuclear cells and systemic clearance of fluorouracil in cancer patients. *Cancer Res* 1992;52(10):2899-902.
35. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Guerin-Meyer V, Delva R, Lortholary A, Genevieve F, *et al.* Correlation between uracil and dihydrouracil plasma ratio, fluorouracil (5-FU) pharmacokinetic parameters, and tolerance in patients with advanced colorectal cancer: A potential interest for predicting 5-FU toxicity and determining optimal 5-FU dosage. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 1999;17(4):1105.

36. Bocci G, Barbara C, Vannozi F, Di Paolo A, Melosi A, Barsanti G, *et al.* A pharmacokinetic-based test to prevent severe 5-fluorouracil toxicity. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80(4):384-95.
37. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM, Meulendijks D, Frederix GWJ, Kienhuis E, *et al.* DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *The Lancet Oncology* 2018.
38. Meulendijks D, Henricks LM, Jacobs BAW, Aliev A, Deenen MJ, de Vries N, *et al.* Pretreatment serum uracil concentration as a predictor of severe and fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. *British journal of cancer* 2017;116(11):1415-24.
39. Sistonen J, Buchel B, Froehlich TK, Kummer D, Fontana S, Joerger M, *et al.* Predicting 5-fluorouracil toxicity: DPD genotype and 5,6-dihydrouracil:uracil ratio. *Pharmacogenomics* 2014;15(13):1653-66.
40. Etienne-Grimaldi MC, Boyer JC, Beroud C, Mbatchi L, van Kuilenburg A, Bobin-Dubigeon C, *et al.* New advances in DPYD genotype and risk of severe toxicity under capecitabine. *PloS one* 2017;12(5):e0175998.
41. Henricks LM, Siemerink EJM, Rosing H, Meijer J, Goorden SMI, Polstra AM, *et al.* Capecitabine-based treatment of a patient with a novel DPYD genotype and complete dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *International journal of cancer* 2018;142(2):424-30.
42. European Medicines Agency. Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC). Minutes of the meeting on 9-12 January 2017. London: EMA; 2017.
43. European Medicines Agency. Xeloda. Résumé des caractéristiques du produit : EMA; 2018. http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000316/WC500058151.pdf
44. KNMP. General background text Pharmacogenetics. Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD). Den Haag: KNMP; 2017. <https://www.knmp.nl/downloads/g-standaard/farmacogenetica/english-background-information/DPD.pdf/view>
45. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, *et al.* ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016;27(8):1386-422.
46. Nationale Comprehensive Cancer Network. Colon cancer. Version 2.2018. Fort Washington: NCCN; 2018.
47. Fédération francophone de cancérologie digestive, Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer, Groupe coopérateur multidisciplinaire en oncologie, Société française de chirurgie digestive, Société française de radiothérapie oncologique, Société française d'endoscopie digestive, *et al.* Cancer du côlon non métastatique. Dans: *Thésaurus National de Cancérologie Digestive*. Paris: SNFGE; 2018.
48. Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee AH, Mulder H, *et al.* Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther* 2011;89(5):662-73.
49. Etienne-Grimaldi MC, Le Guellec CB, Boyer JC, Chatelut E, Evrard A, Lorient MA, *et al.* Prevention of 5-fluorouracil-induced early severe toxicity by pre-therapeutic dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency screening: The multiparametric approach is not convincing. *Semin Oncol* 2017;44(2):159-60.
50. Meulendijks D, Rozeman EA, Cats A, Sikorska K, Joerger M, Deenen MJ, *et al.* Pharmacogenetic variants associated with outcome in patients with advanced gastric cancer treated with fluoropyrimidine and platinum-based triplet combinations: a pooled analysis of three prospective studies. *Pharmacogenomics J* 2017;17(5):441-51.
51. Nationale Comprehensive Cancer Network. Head and neck cancers. Version 1.2018. Fort Washington: NCCN; 2018.
52. Nationale Comprehensive Cancer Network. Rectal cancer. Version 1.2018. Fort Washington: NCCN; 2018.
53. Lunenburg C, Henricks LM, Dreussi E, Peters FP, Fiocco M, Meulendijks D, *et al.* Standard fluoropyrimidine dosages in chemoradiation therapy result in an increased risk of severe toxicity in DPYD variant allele carriers. *European journal of cancer* (Oxford, England : 1990) 2018.
54. Rosmarin D, Palles C, Church D, Domingo E, Jones A, Johnstone E, *et al.* Genetic markers of toxicity from capecitabine and other fluorouracil-based regimens: investigation in the QUASAR2 study, systematic review, and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2014;32(10):1031-9.
55. Toffoli G, Giodini L, Buonadonna A, Berretta M, De Paoli A, Scalone S, *et al.* Clinical validity of a DPYD-based pharmacogenetic test to predict severe toxicity to fluoropyrimidines. *International journal of cancer* 2015;137(12):2971-80.
56. Lee AM, Shi Q, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, Berenberg JL, *et al.* Association between DPYD c.1129-5923 C>G/hapB3 and severe toxicity to 5-fluorouracil-based chemotherapy in stage III colon cancer patients: NCCTG N0147 (Alliance). *Pharmacogenetics and genomics* 2016;26(3):133-7.

57. Yang CG, Ciccolini J, Blesius A, Dahan L, Bagarry-Liegey D, Brunet C, *et al.* DPD-based adaptive dosing of 5-FU in patients with head and neck cancer: impact on treatment efficacy and toxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011;67(1):49-56.
58. Milano G, Ferrero JM, Thomas F, Bobin-Dubigeon C, Merlin JL, Pinguet F, *et al.* A French prospective pilot study to identify dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in breast cancer patients receiving capecitabine. *Cancer Research* 2013;73(24 SUPPL. 1).
59. Gamelin E, Morel A, Boisdron Celle M. In vitro diagnosis of increased sensitivity to 5-fluorouracil, useful for assessing toxicity and adjusting doses in cancer patients, by detecting specific gene mutations and measuring uracil plasma concentration. Brevet d'invention. Angers: Institut de Cancérologie de l'Ouest; 2006.
60. Boisdron Celle M, Metges JP, Capitain O, Faroux R, Stampfli C, Ferec M, *et al.* Primum non nocere: screening patients for fluoropyrimidine-related toxicity risk: the most effective method. P-216. Dans: European Society for Medical Oncology, ed. ESMO 20th World Congress on Gastrointestinal Cancer, 20-23 June 2018, Barcelona, Spain. 29: *Annals of oncology*; 2018.
61. Boisdron Celle M, Metges JP, Capitain O, Faroux R, Stampfli C, Ferec M, *et al.* Primum non nocere: screening patients for fluoropyrimidine-related toxicity risk: the most effective method [Poster]. *Annals of oncology* 2018;29(Suppl 5).
62. Jacobs BA, Deenen MJ, Pluim D, van Hasselt JG, Krahenbuhl MD, van Geel RM, *et al.* Pronounced between-subject and circadian variability in thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme activity in human volunteers. *British journal of clinical pharmacology* 2016;82(3):706-16.
63. Campbell JM, Bateman E, Peters M, Bowen JM, Keefe DM, Stephenson MD. Fluoropyrimidine and platinum toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Pharmacogenomics* 2016;17(4):435-51.
64. Leung HW, Chan AL. Association and prediction of severe 5-fluorouracil toxicity with dihydropyrimidine dehydrogenase gene polymorphisms: A meta-analysis. *Biomedical reports* 2015;3(6):879-83.
65. Li Q, Liu Y, Zhang HM, Huang YP, Wang TY, Li DS, *et al.* Influence of DPYD Genetic Polymorphisms on 5-Fluorouracil Toxicities in Patients with Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Gastroenterol Res Pract* 2014;2014:827989.
66. Nie Q, Shrestha S, Tapper EE, Trostad-Isaacson CS, Bouchonville KJ, Lee AM, *et al.* Quantitative Contribution of rs75017182 to Dihydropyrimidine Dehydrogenase mRNA Splicing and Enzyme Activity. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2017;102(4):662-70.
67. Collie-Duguid ES, Etienne MC, Milano G, McLeod HL. Known variant DPYD alleles do not explain DPD deficiency in cancer patients. *Pharmacogenetics* 2000;10(3):217-23.
68. van Kuilenburg AB, Meijer J, Mul AN, Meinsma R, Schmid V, Dobritzsch D, *et al.* Intragenic deletions and a deep intronic mutation affecting pre-mRNA splicing in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene as novel mechanisms causing 5-fluorouracil toxicity. *Human genetics* 2010;128(5):529-38.
69. Meulendijks D, Henricks LM, van Kuilenburg AB, Jacobs BA, Aliev A, Rozeman L, *et al.* Patients homozygous for DPYD c.1129-5923C>G/haplotype B3 have partial DPD deficiency and require a dose reduction when treated with fluoropyrimidines. *Cancer chemotherapy and pharmacology* 2016;78(4):875-80.
70. Lunenburg CA, van Staveren MC, Gelderblom H, Guchelaar HJ, Swen JJ. Evaluation of clinical implementation of prospective DPYD genotyping in 5-fluorouracil- or capecitabine-treated patients. *Pharmacogenomics* 2016;17(7):721-9.
71. Offer SM, Lee AM, Mattison LK, Fossum C, Wegner NJ, Diasio RB. A DPYD variant (Y186C) in individuals of african ancestry is associated with reduced DPD enzyme activity. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94(1):158-66.



52, avenue André Morizet
92100 Boulogne-Billancourt
France

Tel. +33 (1) 41 10 50 00
diffusion@institutcancer.fr

Édité par l'Institut national du cancer
Tous droits réservés - Siren 185 512 777
Conception : INCa
ISSN 2104-953X
ISBN : 978-2-37219-416-7
ISBN Net : 978-2-37219-417-4

DEPÔT LÉGAL DÉCEMBRE 2018



Pour plus d'informations
e-cancer.fr
has-sante.fr

Haute Autorité de santé
5, avenue du Stade de France
93218 Saint-Denis La Plaine Cedex
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00

Institut national du cancer
52, avenue André Morizet
92100 Boulogne-Billancourt
Tel. +33 (1) 41 10 50 00
diffusion@institutcancer.fr

REC05FU2018