

REF 7900001
Kit de 16 tests

Cell Search®

**Circulating Tumor Cell Kit
(épithélial)**

IVD

janssen 

APPLICATION

Pour usage *in vitro*.

Le kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit est conçu pour l'énumération des cellules tumorales circulantes (CTC) d'origine épithéliale (CD45-, EpCAM+ et cytokeratines 8, 18+ et/ou 19+) dans le sang total.

La présence de CTC dans le sang périphérique, détectée à l'aide du kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit, est associée à une diminution de la survie sans progression et à une diminution de la survie globale chez les patients traités pour un cancer métastatique du sein, colorectal ou de la prostate*. Le test doit être utilisé pour faciliter la surveillance des patients atteints d'un cancer métastatique du sein, colorectal ou de la prostate. Des analyses en série des CTC doivent être utilisées en association avec d'autres méthodes cliniques afin de surveiller le cancer métastatique du sein, colorectal et de la prostate. L'évaluation des CTC à tout moment au cours de la maladie permet d'établir le pronostic pour le patient, ainsi que de prévoir la survie sans progression et la survie globale.

**Les patients souffrant d'un cancer de la prostate métastatique de cette étude ont été définis comme ayant eu deux augmentations consécutives du marqueur de sérum PSA dépassant un niveau de référence, malgré une gestion hormonale standard. On a généralement décrit ces patients comme souffrant d'un cancer de la prostate indépendant de l'androgène, résistant aux hormones ou résistant à la castration.*

RÉSUMÉ ET PRINCIPE DU TEST

Il y a métastase cancéreuse lorsque des cellules provenant de la tumeur primaire ou métastatique passent dans le sang et commencent à croître en des emplacements du corps distants de la tumeur primaire. Les carcinomes sont dérivés de cellules épithéliales qu'on ne trouve normalement pas dans le sang.¹ Le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System a été conçu pour standardiser et automatiser le protocole de préparation des échantillons pour une utilisation avec le kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (CELLSEARCH® CTC Kit). L'analyse et l'énumération des CTC sont réalisées sur l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®, un microscope à fluorescence semi-automatisé. Le dosage n'énumère que les cellules exprimant la molécule d'adhésion des cellules épithéliales (EpCAM) et les cytokeratines (CK) 8, 18 et/ou 19.

PRINCIPES DU DOSAGE

Le kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit contient un réactif de capture par ferrofluide et des réactifs immunofluorescents. Le réactif ferrofluide est constitué de particules dotées d'un noyau magnétique entouré d'une couche polymère revêtue d'anticorps ciblant l'antigène EpCAM pour capturer les CTC. Après capture immunomagnétique et enrichissement, des réactifs fluorescents sont ajoutés pour l'identification et l'énumération des CTC. Les réactifs fluorescents comprennent les suivants : anti-CK-Phycoerythrine (PE) spécifique de la protéine intracellulaire cytokératine (caractéristique des cellules épithéliales), DAPI, qui colore le noyau cellulaire, et anti-CD45-Allophycocyanine (APC), spécifique des leucocytes.

Le mélange réactif/échantillon est distribué par le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System dans une cartouche qui est insérée dans un support de cartouche MAGNEST®. Le champ magnétique élevé du support de cartouche MAGNEST® attire les cellules épithéliales marquées magnétiquement à la surface de la cartouche. L'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II® lit automatiquement toute la surface de la cartouche, acquiert les images et affiche les événements pour l'utilisateur lorsqu'une fluorescence CK-PE et DAPI est présente au même endroit. Les images sont présentées à l'utilisateur sous forme de galerie pour la classification finale. Un événement est classifié comme cellule tumorale lorsque ses caractéristiques morphologiques concordent avec celles d'une cellule tumorale et lorsqu'il présente le phénotype EpCAM+, CK+, DAPI+ et CD45-.

MATÉRIELS FOURNIS

- Feuille technique
- **3,0 mL de ferrofluide Anti-EpCAM** : contient une suspension de 0,022% de particules magnétiques conjuguées à un anticorps monoclonal de souris spécifique du marqueur de surface cellulaire EpCAM présent sur les cellules épithéliales dans un tampon contenant 0,03% de sérum-albumine bovine (BSA) et 0,05% d'agent de conservation ProClin® 300 (bouchon marron).
- **3,0 mL de réactif de coloration** : contient 0,0006% d'anticorps monoclonaux de souris spécifiques des cytokeratines, conjugués à la phycoerythrine (PE), 0,0012% d'anticorps monoclonal de souris anti-CD45 conjugués à l'allophycocyanine (APC) dans un tampon contenant 0,5% de BSA et 0,1% d'azide de sodium (bouchon blanc).
- **3,0 mL de colorant d'acide nucléique** : contient 0,005% de 4', 6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) et 0,05% de ProClin® 300 (bouchon bleu).
- **3,0 mL de réactif d'amplification de capture** : contient 0,02% de réactif breveté pour agrégation contrôlée par ferrofluide, 0,5% de BSA et 0,1% d'azide de sodium dans un tampon (bouchon transparent).
- **3,0 mL de réactif de perméabilisation** : contient 0,011% de réactif de perméabilisation breveté et 0,1% d'azide de sodium dans un tampon (bouchon vert).
- **3,0 mL de fixateur** : contient 25% d'agents fixateurs brevetés, 0,1% de BSA et 0,1% d'azide de sodium dans un tampon (bouchon rouge).

- **2 flacons de 110 mL de tampon de dilution** : contient un tampon avec 0,1% d'azide de sodium.
- **16 tubes centrifuges coniques CELLSEARCH® (15 mL) et bouchons de tubes coniques**
- **16 cartouches et bouchons de cartouche**

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Tubes CellSave Preservative Tubes (référence catalogue 7900005)
- Système CELLTRACKS® AUTOPREP® System (référence catalogue 9541)
- Analyseur CELLTRACKS ANALYZER II® (référence catalogue 9555)
- Kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (référence catalogue 7900003)
- de tampon CELLTRACKS® AUTOPREP® Instrument Buffer (référence catalogue 7901003)
- Centrifugeuse à rotor du type rotation horizontale (à savoir à godets pivotants) pouvant centrifuger à 800 x g
- Portoirs de tubes à essai
- Micropipetteurs et embouts calibrés
- Mixeur vortex

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Pour usage *in vitro*.
2. Lire le présent feuillet technique dans son intégralité avant de doser des échantillons.
3. Attention : Prélever le sang exclusivement dans un tube CellSave Preservative Tube. Les CTC sont fragiles et doivent être préservées pour assurer une analyse précise.
4. Attention : Tout le personnel doit prendre les précautions d'usage et utiliser un équipement de sécurité de laboratoire (à savoir lunettes de protection, blouse de laboratoire, gants).
5. Attention : Une contamination microbienne des réactifs peut générer des résultats erronés et doit donc être évitée.
6. **Avertissement** : Tous les échantillons biologiques, les cartouches et autre matériel entrant en contact avec le ou les échantillons sont considérés comme présentant un risque biologique. Il convient de les manipuler comme des produits potentiellement infectieux. Traiter et éliminer les déchets en appliquant les précautions adaptées et conformément aux réglementations locales, régionales et gouvernementales. Ne jamais pipeter à la bouche.
7. **Avertissement** : Certains des réactifs contiennent de l'azide de sodium en tant qu'agent de conservation. En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. Tenir hors de portée des enfants. Tenir à distance de la nourriture et des boissons. Porter des vêtements de protection adaptés. En cas de contact avec des acides, un gaz très toxique est libéré. Les composés azide doivent être éliminés avec beaucoup d'eau afin d'éviter tout dépôt dans les conduites de plomb ou de cuivre où peuvent se créer des conditions favorables aux explosions. Mises en garde de risque et sécurité R22 (Produit nocif en cas d'ingestion) et S28 (Après contact avec la peau, laver abondamment au savon).
8. **Avertissement** : Certains des réactifs contiennent du ProClin® 300 en tant qu'agent de conservation. Les symptômes de surexposition au ProClin® 300 peuvent inclure une irritation de la peau et/ou des yeux ainsi que des muqueuses et des voies respiratoires supérieures.
9. L'utilisateur doit suivre une formation pour pouvoir réaliser ce protocole de test.

CONSERVATION ET MANIPULATION DU RÉACTIF

- Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C avant ouverture.
- Après ouverture, les réactifs contenus dans la cartouche de réactifs doivent être conservés au maximum 30 jours entre 2 et 8 °C. Pour la conservation, les réactifs ouverts **doivent** être rebouchés avec leur bouchon de couleur unique à l'aide des couleurs indiquées sur les étiquettes des plateaux de réactifs. Ceci permet d'éviter toute contamination croisée des réactifs.
- REMARQUE : Après ouverture, le flacon de tampon de dilution, qui ne fait pas partie du kit de réactifs, peut être stocké à température ambiante pendant 30 jours maximum.
- Protéger les réactifs contre toute chaleur supérieure à 35 °C. Ne pas congeler.
- Ramener à température ambiante (15 à 30 °C) avant utilisation.

- Inspecter visuellement la cartouche de réactifs pour vérifier si les réactifs sont correctement positionnés. S'assurer que chaque réactif se trouve à l'emplacement approprié en faisant correspondre son bouchon de couleur unique avec les couleurs indiquées sur l'étiquette. Se référer à la photo pour connaître le bon emplacement. En cas de mauvais placement des réactifs ou en présence de deux bouteilles, ne pas utiliser la cartouche de réactifs et demander aux services clientèle et technique de procéder à son remplacement.



- Protéger les réactifs contre une exposition à la lumière du soleil.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption portée sur le récipient de réactif ou sur l'emballage du kit, à condition d'être conservés correctement. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Les composants des kits sont fabriqués et testés en tant que lots. **Ne pas** mélanger des réactifs de différents kits.

PROTOCOLE DE TEST

Prélèvement et préparation des échantillons

Prélèvement du sang total dans les tubes CellSave Preservative Tubes

1. Prélever les échantillons initiaux avant de débuter un traitement. Les échantillons suivants peuvent être prélevés après le début d'un traitement, habituellement à 3 voire 4 semaines d'intervalle, pour suivre le nombre de CTC au cours du traitement. Si le patient suit un traitement par doxorubicine, laisser s'écouler au moins 7 jours après administration d'une dose de doxorubicine pour effectuer un prélèvement sanguin.
2. Prélever le sang total de manière aseptique par ponction veineuse ou par une voie veineuse, exclusivement dans un tube CellSave Preservative Tube.
3. Remplir le tube jusqu'à arrêt de l'écoulement sanguin pour assurer l'établissement d'un bon ratio échantillon sur anti-coagulant et agent de conservation. Mélanger immédiatement en retournant doucement le tube huit fois. Le retournement du tube empêche la coagulation. Un mélange inadéquat ou tardif peut entraîner des résultats de test inexacts.
4. Les échantillons de sang peuvent être conservés ou transportés dans les tubes CellSave Preservative Tube. Consulter le feuillet technique des tubes CellSave Preservative Tube concernant la procédure, le stockage et les instructions de manipulation. Ne pas réfrigérer les échantillons.

ATTENTION : Examiner visuellement chaque échantillon avant traitement sur le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System pour vérifier l'absence de coagulation. Jeter les échantillons coagulés.

Traitement par le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System

1. Mélanger le sang dans un tube CellSave Preservative Tube en renversant manuellement cinq fois. Retirez ensuite le bouchon en caoutchouc.
2. Au moyen d'une nouvelle pipette, transférer 7,5 mL de sang du tube CellSave Preservative Tube dans un tube à centrifugeuse conique CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tube de 15 mL portant une étiquette correspondante, fourni avec le kit CELLSEARCH® CTC Kit.
3. A l'aide d'une nouvelle pipette, ajouter 6,5 mL de tampon pour dilution.
4. Boucher le tube CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tube et mélanger en le retournant cinq fois.
5. Centrifuger l'échantillon à 800 × g pendant 10 minutes avec le frein en position off (arrêt) sur une centrifugeuse à godets pivotants. Les 10 minutes définies comme le temps de centrifugation n'incluent pas le laps de temps nécessaire pour atteindre 800 × g. Mettre le frein de la centrifugeuse en position off (arrêt) ou, si la centrifugeuse est équipée d'une fonction de freinage variable, régler l'intensité de freinage au plus bas possible. Centrifuger à température ambiante sur une centrifugeuse à température ambiante. Après la centrifugation des échantillons, examiner visuellement la séparation du plasma et des globules rouges dans chaque tube d'échantillon.
6. Traiter sur le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System **dans l'heure** suivant la préparation de l'échantillon décrite ci-dessus. Pour plus d'informations, voir le Guide de l'utilisateur du système CELLTRACKS® AUTOPREP® System.

Analyse sur analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®

Le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System transvase l'échantillon traité dans une cartouche prête à être analysée sur l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®. La cartouche remplie dans le support de cartouche MAGNEST® doit incuber dans l'obscurité pendant au moins 20 minutes et elle doit être analysée dans les 24 heures. Pour plus d'instructions concernant l'analyse des échantillons et l'examen des données, voir le Guide de l'utilisateur de l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un contrôle CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell (CTC) Control doit être dosé chaque jour où des tests sont réalisés sur des échantillons de patient ou lors de l'utilisation d'un nouveau lot du kit CELLSEARCH® CTC Kit. Consulter le feuillet technique et les valeurs de référence du kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats sont exprimés sous la forme du nombre de CTC par 7,5 mL de sang.

Cancer du sein métastatique (MBC)

Un nombre de CTC supérieur ou égal à **5** par 7,5 mL de sang à tout moment au cours de la maladie est associé à un mauvais pronostic et prédit une survie sans progression et une survie globale plus courtes.

Cancer colorectal métastatique (MCRC)

Un nombre de CTC supérieur ou égal à **3** par 7,5 mL de sang à tout moment au cours de la maladie est associé à un mauvais pronostic et prédit une survie sans progression et une survie globale plus courtes.

Cancer de la prostate métastatique(MPC)

Un nombre de CTC supérieur ou égal à **5** par 7,5 mL de sang à tout moment au cours de la maladie est associé à un mauvais pronostic et prédit une survie sans progression et une survie globale plus courtes.

Précaution

Un échantillon CTC contenant **5000 CTC ou plus** pour 7,5 mL de sang peut contaminer par rémanence les échantillons traités ensuite sur le CELLTRACKS® AUTOPREP® System, y compris le lot suivant. Si des cellules contaminent par rémanence les échantillons analysés ensuite, le nombre de cellules CTC de ces échantillons peut être erroné et apparaître supérieur au nombre de cellules CTC réel du patient. **Pour plus d'informations, voir le Guide de l'utilisateur du système CELLTRACKS® AUTOPREP®.**

LIMITES DE LA MÉTHODE

- Il convient d'utiliser les résultats CELLSEARCH® conjointement à toutes les informations cliniques obtenues grâce à des tests de diagnostic (imagerie, tests biologiques), grâce à l'examen clinique et à l'anamnèse complète, conformément aux protocoles adéquats de prise en charge des patients.
- Cette étude *pronostique* ne démontre pas qu'une ligne de traitement en cours est plus ou moins efficace qu'un autre traitement ou qu'aucun traitement.
- Les résultats du test CELLSEARCH® et les résultats de l'imagerie médicale ne sont pas équivalents en ce qui concerne l'évaluation de la transition des patients d'une maladie non évolutive à une maladie évolutive.
- Si le patient suit un traitement par doxorubicine, laisser s'écouler au moins 7 jours après administration d'une dose de ce traitement pour effectuer un prélèvement sanguin. Les résultats d'un test CELLSEARCH® doivent être interprétés prudemment s'il a été réalisé sur des échantillons prélevés moins de 7 jours après administration de doxorubicine.
- Les CTC n'exprimant pas la molécule EpCAM ne sont pas détectées par le test CELLSEARCH®.
- Les CTC exprimant la molécule EpCAM mais pas les cytokératines 8, 18 et 19 ne sont pas détectées par le test CELLSEARCH®.
- Substances provoquant une interférence :
Des échantillons de sang surchargés avec des cellules SK-BR-3 ont été exposés à des substances pouvant provoquer une interférence puis comparés à des contrôles non traités. Des niveaux toxiques (5 fois l'indice thérapeutique) des agents anti-cancéreux, médicaments en vente libre et autres substances exogènes suivants ont été testés : cyclophosphamide, Mitomycin C®, Procrit®, biotine, 5-fluoro-uracile, méthotrexate, citrate de tamoxifène, paclitaxel, Arimidex®, acétaminophène, acide acétylsalicylique, caféine, dextrométhorphan, Aredia®, anticorps humain anti-souris (HAMA) de type 1, HAMA de type 2, Herceptin® et ibuprofène. Aucune différence significative n'a été détectée pour les nombres de cellules SK-BR-3, ce qui indique que ces substances n'ont provoqué aucune interférence avec le kit CELLSEARCH® CTC Kit.

Les échantillons surchargés avec des niveaux toxiques de doxorubicine ont entraîné une coloration aberrante des leucocytes, apparaissant comme cellules doublement positives pour la cytokératine et pour CD45, du fait que la doxorubicine est un composant fluorescent incorporé dans les cellules nucléées. Lorsqu'il est présent, le schéma de coloration avec toutes les cellules positives pour CD45 et pour la cytokératine est très net et facilement identifié par l'utilisateur comme profil de coloration d'interférence. Si le sang est prélevé une fois achevée la période de sevrage thérapeutique de 7 jours recommandée après perfusion de doxorubicine, il est peu probable que cette interférence soit observée en pratique clinique, étant donné les niveaux thérapeutiques contrôlés et la clairance médicamenteuse rapide.

Une interférence potentielle liée à une lipémie a été étudiée par ajout d'Intralipid aux échantillons à une concentration de 2,6% correspondant à plus de 1000 mg/dL de triglycérides. Les échantillons ont été lysés pour simuler une hémolyse complète. Ont également été étudiés la bilirubine, à un niveau de 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 et l'hématocrite de 18-60%. La lipémie, l'hémolyse, l'ictère et un large intervalle de valeurs d'hématocrite n'interfèrent pas pour le test CELLSEARCH®. HAMA 1 et HAMA 2 ne provoquent pas non plus d'interférence ; ainsi, le test CELLSEARCH® peut être pratiqué avec succès pour les sujets recevant des Ig de souris par voie parentérale.

VALEURS ATTENDUES

Volontaires sains, tumeur du sein non maligne, autre atteinte non maligne

Des analyses de CTC en point unique ont été réalisées sur des groupes de contrôle de 145 volontaires sains, 101 femmes présentant une tumeur du sein non maligne et 99 femmes présentant d'autres atteintes non malignes. Les cellules épithéliales ne doivent pas être présentes dans le sang périphérique de sujets sains. Sur les 345 échantillons prélevés sur les volontaires sains et les femmes présentant une atteinte non maligne, un seul comptait plus de 5 CTC/7,5 mL. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Sujets de contrôle

Catégorie	N	Moy. de CTC	ET	Nombre de patients avec ≥ 5 CTC	Min.*	Max.*
Sain	145	0,1	0,2	0	0	1
Tumeur du sein non maligne	101	0,2	1,2	1	0	12
Autre atteinte non maligne	99	0,1	0,4	0	0	3

* Ligne directrice NCCLS C28-A²³

Volontaires sains, tumeur colorectale non maligne

Le sang a été prélevé sur des hommes et des femmes en bonne santé de 35 ans ou plus, inscrits dans trois centres américains. Dans le cadre de cette étude, deux tubes de sang ont été prélevés sur chaque sujet pour évaluer le nombre de CTC. Au total, une ou deux aliquotes de sang distinctes de 7,5 mL ont été traitées pour déterminer le nombre de CTC chez 150 sujets pouvant être évalués. Les résultats de CTC des deux tubes n'ont été disponibles que pour certains sujets évaluables. Le nombre moyen de cellules tumorales circulantes était de 0,0 pour les deux groupes de sujets, les écarts types allant de 0,1 à 0,2. Sur 284 échantillons au total provenant de volontaires sains (hommes et femmes), aucun sujet n'a présenté plus de 3 CTC/7,5 mL. Les résultats sont illustrés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Résultats du dosage des cellules tumorales circulantes CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Assay chez les sujets de contrôle

Sain Contrôles	Tous les contrôles			Hommes seulement			Femmes seulement		
	Tube 1	Tube 2	Total	Tube 1	Tube 2	Total	Tube 1	Tube 2	Total
N	149	135	284	68	64	132	81	71	152
Intervalle CTC	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Nombre moyen de CTC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ET CTC	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
N (%) ≥ 1 CTC	2 (1%)	4 (3%)	6 (2%)	1 (1%)	1 (2%)	2 (2%)	1 (1%)	3 (4%)	4 (3%)
N (%) ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

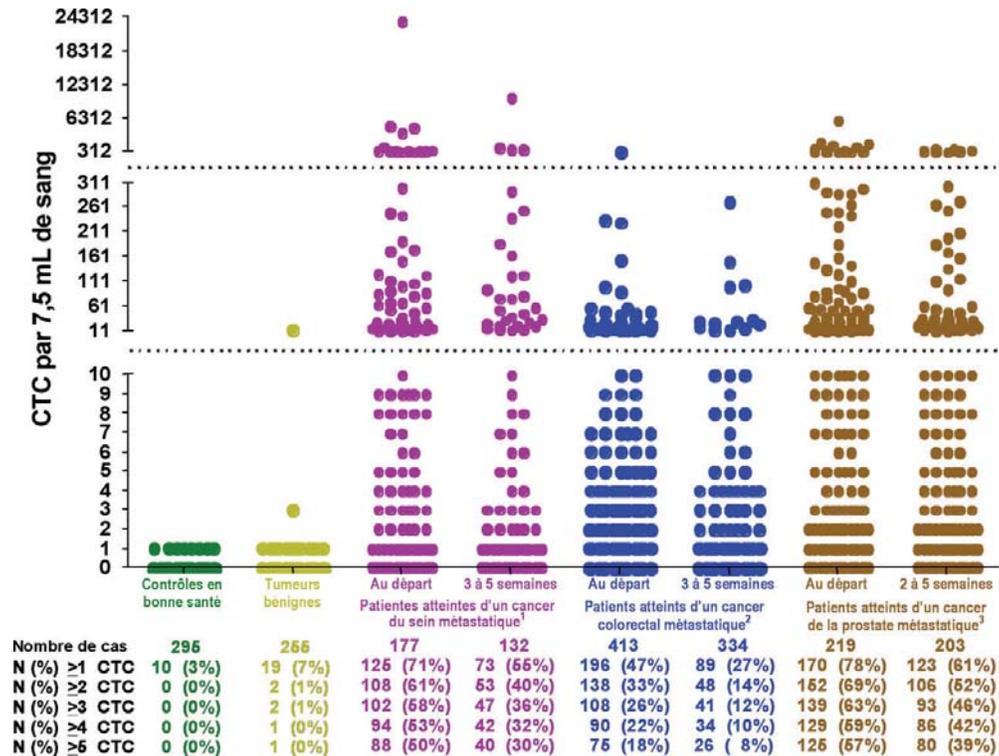
Environ trente mL de sang (pour augmenter la probabilité de détecter des cellules) ont été prélevés dans quatre tubes CellSave distincts (7,5 mL minimum par tube) sur des patients subissant une coloscopie ou une intervention chirurgicale pour une tumeur bénigne. Jusqu'à quatre échantillons sanguins de 7,5 mL ont été analysés pour chaque sujet avant la procédure. Les résultats sont présentés ci-dessous, dans le **Tableau 3**. Les résultats de CTC des quatre tubes n'ont été disponibles que pour certains sujets évaluables. Aucun patient souffrant d'une tumeur colorectale bénigne n'a présenté plus d'une seule cellule tumorale circulante pour 7,5 mL de sang.

Tableau 3 : Résultats du dosage des cellules tumorales circulantes CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Assay chez les sujets atteints d'une tumeur colorectale bénigne

Tumeur bénigne	Prélèvement sanguin avant la procédure				
	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Total
N	55	55	53	47	210
Intervalle	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Moyenne	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
ET	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2
% ≥ 1 CTC	3 (5%)	1 (2%)	2 (4%)	4 (9%)	10 (5%)
% ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

La **Figure 1** illustre la fréquence des CTC chez les sujets sains et chez ceux atteints d'une tumeur bénigne (contrôles) d'une part et chez les patients atteints de cancer métastatique du sein, colorectal et de la prostate d'autre part, avant le début du traitement et environ 1 mois après le début du traitement.

Figure 1 : Fréquence des CTC chez les sujets de contrôle (sujets ne présentant pas de cancer) et les patients atteints d'un cancer métastatique du sein¹ (MBC), colorectal² (MCRC) ou de la prostate³ (MPC) avant le début d'une nouvelle ligne de traitement (première intention) et entre environ 2-5 semaines après le début du traitement.



¹ Informations sur la population de référence pour les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique - Tableau 1 du feuillet technique clinique.

² Informations sur la population de référence pour les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique - Tableau 12 du feuillet technique clinique.

³ Informations sur la population de référence pour les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique – Tableau 22 du feuillet technique clinique.

PERFORMANCES

Récupération

Des échantillons sanguins provenant d'un seul donneur sain ont été « poolés » et cinq des six aliquotes de 7,5 mL ont été surchargés avec environ 1300, 325, 81, 20 et 5 cellules de cancer du sein cultivées (SK-BR-3). Le sixième tube était du sang « poolé » non surchargé, servant de point zéro. Ces échantillons ont été traités sur le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System avec le kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit et le nombre de cellules CTC a été déterminé sur l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®. Cette expérience a été répétée avec quatre autres donneurs. Le nombre de cellules observées a été comparé aux résultats attendus. Les résultats sont précisés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Estimations de détection en pourcentage.

Nombre attendu de cellules tumorales	Moyenne observée Nombre de cellules tumorales	Intervalle de récupération en pourcentage
1300	1215	91 à 95%
325	308	82 à 101%
81	85	80 à 136%
20	22	95 à 140%
5	7	120 à 200%

Une analyse de régression linéaire a été réalisée pour déterminer la corrélation globale, ou des moindres carrés, pour la comparaison entre le nombre de cellules observé et le nombre attendu pour la totalité des données. L'équation de régression, pour ces 30 échantillons, était $Y = 0,93x + 3,87$, avec $R^2 = 0,999$ ($R = 0,999$). Les résultats de cette étude indiquent que, en moyenne et sur l'intervalle CTC testé, la récupération est de 93%, d'après l'analyse de régression.

Étant donné la réponse linéaire du nombre de cellules tumorales, la pente du tracé observé par rapport au tracé attendu devrait être de 1,0. Cependant, la pente obtenue est de 0,93. Ceci est dû au fait que le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System avec le kit CELLSEARCH® CTC Kit implique la capture et le marquage fluorescent de cellules, puis leur détection et leur énumération par l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®. La perte de cellules pourrait donc être attribuée à l'une des possibilités suivantes ; 1) la récupération de 93% seulement des cellules tumorales utilisées pour surcharger 7,5 mL de sang par le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System, 2) la détection de 93% seulement des cellules tumorales présentes dans la chambre d'échantillon par l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II® ou 3) une association des deux sources d'erreur précédentes.

Linéarité/gamme reportable

Une autre manière d'examiner les données précédentes consiste à les analyser par dilutions en série pour évaluer la linéarité du test. Nous avons éliminé la variable de confusion du pourcentage de récupération en utilisant la valeur observée de l'échantillon d'origine dans les dilutions en série (c.-à-d. le premier tube) divisée par les facteurs de dilution pour déterminer les valeurs attendues pour les dilutions en série de chaque échantillon de patient. La régression de tous ces nombres de cellules tumorales observées contre les nombres de cellules tumorales attendues a donné une pente de 1,007, une ordonnée à l'origine de 3,0 et $R^2 = 0,990$ ($R = 0,995$). Ainsi, après retrait du pourcentage de récupération (perte cellulaire) des valeurs CTC de chacun des échantillons d'origine, l'analyse des données a démontré que la détection des CTC était linéaire pour la gamme reportable de 0 à 1238 cellules tumorales.

Limites de détection

Il est possible de détecter une CTC dans 7,5 mL de sang avec l'analyseur CELLTRACKS ANALYZER II®, ce qui donne une limite de détection d'une CTC dans une cartouche. La régression linéaire montre qu'en moyenne 93% des CTC présentes dans un échantillon de sang de 7,5 mL sont récupérées avec le système CELLTRACKS® AUTOPREP® System (voir paragraphe **Récupération**). La perte d'environ 7% des CTC dans l'échantillon n'est pas suffisante pour réduire la limite de détection d'1 CTC.

Reproductibilité :

a. Reproductibilité du système avec le contrôle CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control

Trois échantillons distincts de CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control ont été préparés et traités chaque jour pendant plus de trente jours, selon la version longue du protocole EP5-A2 du NCCLS. Chaque flacon d'échantillon à usage unique contient deux populations de cellules issues d'une lignée cellulaire préalablement colorées avec deux fluorochromes différents, une population à concentration basse et une population à concentration élevée. Les statistiques résumées pour les cellules contrôle fort et faible sont présentées ci-dessous.

Tableau 5 : Résumé des analyses de précision

	Faible	Fort
N	99	99
Nombre moyen de cellules	48	969
%CV de l'écart type pour la précision totale (E_T)	18%	5%

b. Reproductibilité du système avec échantillons de patient Cancer du sein métastatique (MBC)

Au total, 163 échantillons de sang ont été prélevés en double chez 47 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique au cours de l'étude clinique. Ces échantillons ont été traités sur plusieurs sites pour déterminer la reproductibilité des mesures des CTC. L'équation de la régression pour la comparaison de ces 163 échantillons testés en double était $Y = 0,98x + 0,67$, $R^2 = 0,99$. La **Figure 2** présente un diagramme de dispersion des résultats CTC testés en doubles dans le sang de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique regroupés sur une échelle logarithmique, le seuil de 5 CTC étant indiqué par des lignes pointillées.

Figure 2 : Reproductibilité du nombre de CTC dans des échantillons provenant de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique testés en double (n=163) avec une moyenne < 5 CTC ou ≥ 5 CTC par 7,5 mL de sang.

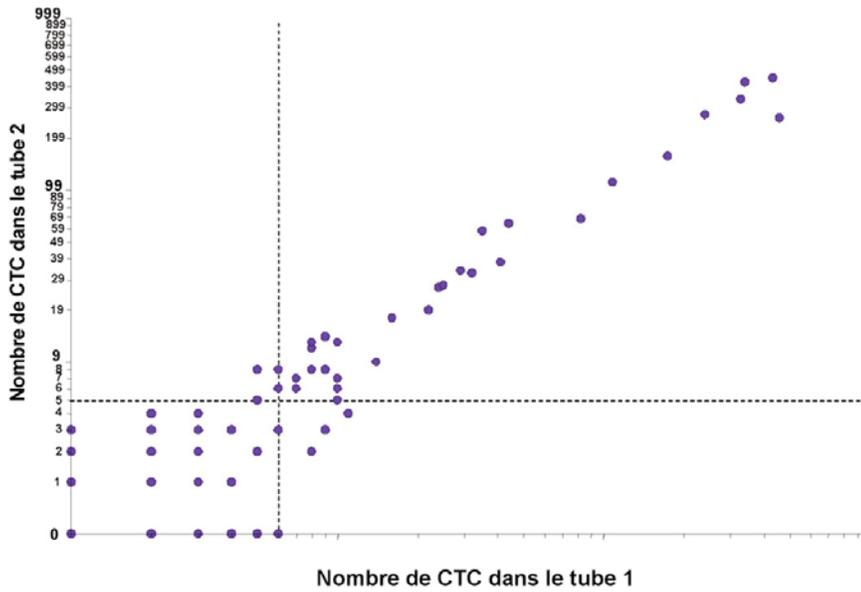


Figure 2 Remarque : plusieurs points peuvent se superposer. Par exemple, sur ce tracé, il y a 50 cas (31%) où les deux tubes avaient 0 CTC, 18 cas (11%) où le tube 1 avait 0 CT et le tube 2, 1 CTC et 18 autres cas (11%) où le tube 1 avait 1 CTC et le tube 2, aucune.

Cancer colorectal métastatique (MCRC)

Au total, 1 627 échantillons de sang ont été prélevés en double chez 430 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique au cours de l'étude clinique. Ces échantillons ont été traités sur plusieurs sites pour déterminer la reproductibilité des mesures des CTC. L'équation de la régression pour la comparaison de ces 1627 échantillons testés en double était $Y = 0,98x + 0,18$, $R^2 = 0,96$. La **Figure 3** présente un diagramme de dispersion des résultats CTC testés en doubles dans le sang de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique regroupés sur une échelle logarithmique, le seuil de 3 CTC étant indiqué par des lignes pointillées.

Figure 3 : Reproductibilité du nombre de CTC dans des échantillons de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique testés en double (n=1 627) avec une moyenne < 3 CTC ou ≥ 3 CTC par 7,5 mL de sang.

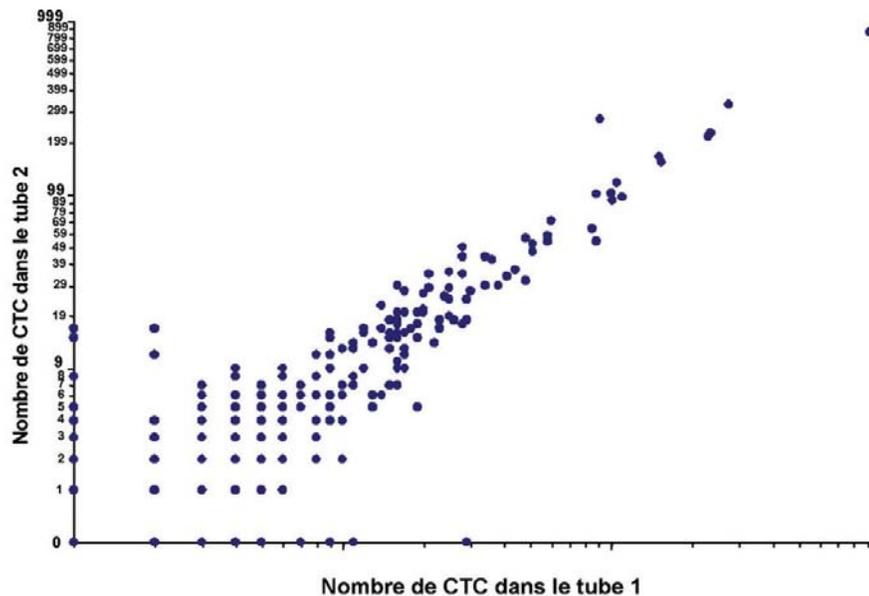


Figure 3 Remarque : plusieurs points peuvent se superposer. Par exemple, sur ce tracé, il y a 975 cas (60%) où les deux tubes avaient 0 CTC, 116 cas (7%) où le tube 1 avait 0 CT et le tube 2, 1 CTC et 109 autres cas (7%) où le tube 1 avait 1 CTC et le tube 2, aucune.

La variation du nombre de CTC d'un tube d'échantillon sanguin à l'autre de patients souffant d'un cancer métastatique du sein et colorectal est présentée dans les **Figure 2 et 3**. La répartition des événements rares (tels que des cellules tumorales) dans un volume donné est aléatoire et indépendante du type de cellule ou de tumeur. La loi de Poisson (une méthode mathématique utilisée pour les systèmes de modélisation où la probabilité qu'un événement survienne est très faible, mais où le nombre d'opportunités qu'un tel événement se produise est très important⁵) la caractérise de manière optimale. Pour les tubes ayant très peu de CTC prostatiques, il est raisonnable de s'attendre à une variation des résultats similaire à celle indiquée dans les **Figure 2 et 3**. Les deux précédentes

études menées sur des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique et des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ont montré des résultats quasi-identiques, aucune comparaison d'un tube à l'autre du nombre de CTC dans les échantillons sanguins de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique n'a été réalisée pendant l'essai clinique sur la prostate à l'aide de CELLSEARCH® CTC. Cependant, les résultats d'une étude indépendante utilisant la technologie CELLSEARCH® et menée au Memorial Sloan-Kettering Cancer Center n'a démontré aucune variation systématique entre les sites ou entre les tubes quant au nombre de CTC dans un intervalle allant de 0 à 1192 CTC par tube chez les patients souffrant d'un cancer de la prostate métastatique⁴.

RÉFÉRENCES

1. Cancer Biology, 3rd edition, Ray Ruddon 1995
2. NCCLS Approved Guideline EP5-A, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices".
3. NCCLS Approved Guideline C28-A2, "How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory".
4. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak P, Doyle GV, Terstappen LWMM, Lilja H, Heller G, Fleisher M et Scher HI. "Circulating Tumor Cell Analysis in Patients with Progressive Castration-Resistant Prostate Cancer", *Clinical Cancer Research*, Vol. 13 N°7 : 2023-2029, (2007).
5. Tibbe A.G.J, Miller C.M et Terstappen LWMM "Statistical Considerations for Enumeration of Circulating Tumor Cells", *Cytometry Part A* 71a : 154-162 (2007).

REF 7900001
Kit de 16 tests



**Circulating Tumor Cell Kit
(épithélial)**

RÉSULTATS DES ESSAIS CLINIQUES

Table des matières

1 Patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique (MBC)	6
1.1 Fréquences des CTC.....	6
1.2 Analyse de la survie sans progression (PFS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	7
1.2.1 PFS avec résultats CTC de départ.....	7
1.2.2 PFS en utilisant les résultats CTC de suivi.....	7
1.2.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de la PFS.....	8
1.3 Analyse de la survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	9
1.3.1 Analyse de l'OS utilisant les résultats CTC initiaux.....	9
1.3.2 OS en utilisant les résultats CTC de suivi.....	10
1.3.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de l'OS.....	10
1.3.4 Analyse de la régression de Cox univariée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	11
1.3.5 Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	12
1.4 Utilisation des CTC pour surveiller le statut clinique du cancer du sein métastatique.....	14
1.4.1 Lien entre la survie, les CTC et l'évaluation de la maladie par imagerie médicale.....	14
1.4.2 CTC.....	14
1.4.3 Imagerie médicale.....	15
1.4.4 Lien entre la survie et l'imagerie médicale et les CTC.....	15
1.4.5 Concordances entre les CTC et la surveillance radiologique.....	17
1.4.6 Les CTC comme complément de l'imagerie médicale.....	19
1.5 Valeurs p non ajustées pour les tests d'hypothèse multiples.....	19
1.5.1 CTC.....	19
1.5.2 Imagerie médicale.....	19
2 Patients atteints d'un cancer colorectal métastatique (MCRC)	20
2.1 Fréquences des CTC.....	21
2.2 Analyse de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	22
2.2.1 PFS avec résultats CTC de départ.....	22
2.2.2 PFS en utilisant les résultats CTC de suivi.....	22
2.2.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de la PFS.....	23
2.3 Analyse de la survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	24
2.3.1 Analyse de l'OS utilisant les résultats CTC initiaux.....	24
2.3.2 OS en utilisant les résultats CTC de suivi.....	25
2.3.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de l'OS.....	26
2.3.4 Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	27
2.3.5 Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	27
2.4 Utilisation des CTC pour surveiller l'état clinique du cancer colorectal métastatique.....	28
2.4.1 Lien entre la survie, les CTC et l'évaluation de la maladie par imagerie médicale.....	28
2.4.2 CTC.....	29
2.4.3 Imagerie médicale.....	29
2.4.4 Lien entre la survie et l'imagerie médicale et les CTC.....	29
2.4.5 Concordances entre les CTC et la surveillance radiologique chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	31
2.4.6 Les CTC comme complément de l'imagerie médicale.....	33

3 Patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique (MPC)	34
3.1 Fréquences des CTC.....	35
3.2 Analyse de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	35
3.2.1 PFS avec résultats CTC de départ.....	35
3.2.2 PFS en utilisant les résultats CTC de suivi.....	36
3.2.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de la PFS.....	37
3.3 Analyse de la survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	38
3.3.1 Analyse de l'OS utilisant les résultats CTC initiaux.....	38
3.3.2 OS en utilisant les résultats CTC de suivi.....	38
3.3.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de l'OS.....	39
3.3.4 Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	40
3.3.5 Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	41
3.4 Utilisation des CTC pour surveiller l'état clinique des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	42
3.4.1 Lien entre la survie, les CTC et l'évaluation de la maladie par PSA.....	42
3.4.2 Concordance entre les CTC et les changements de PSA chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	44
3.4.3 Nombre de CTC et réduction du PSA associés pour prévoir l'OS chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	46
Liste des tableaux	
Tableau 1 : Données démographiques de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	6
Tableau 2 : Survie sans progression (PFS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC < 5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps.....	8
Tableau 3 : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC < 5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps.....	10
Tableau 4 : Analyse de la régression de Cox univariée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	12
Tableau 5 : Analyse de la régression de Cox multivariée sur la survie sans progression chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	13
Tableau 6 : Analyse de la régression de Cox multivariée sur la survie globale chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	14
Tableau 7 : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant eu une évaluation des CTC environ un mois après le début du traitement et moins d'un mois avant ou après l'évaluation radiologique.....	16
Tableau 8 : Comparaison « patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale.....	18
Tableau 9 : Comparaison « observation de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale.....	18
Tableau 10 : Comparaison « patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale.....	18
Tableau 11 : Variabilité des évaluations radiologiques et des évaluations des CTC chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	20
Tableau 12 : Données démographiques de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	21
Tableau 13 : Exclusion des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique des analyses de survie sans progression et de survie globale.....	21
Tableau 14 : Survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC <3 ou ≥ 3 à différents points dans le temps.....	23
Tableau 15 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC <3 ou ≥ 3 à différents points dans le temps.....	26

Tableau 16 : Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	27
Tableau 17 : Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	28
Tableau 18 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant connu une évaluation des CTC environ un mois après le début du traitement et moins d'un mois avant ou après l'évaluation radiologique.....	30
Tableau 19 : Comparaison entre « patients atteints d'un cancer colorectal métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale.....	32
Tableau 20 : Comparaison des « observations de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique » entre les CTC et l'imagerie médicale.....	32
Tableau 21 : Comparaison entre « patients atteints d'un cancer colorectal métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale.....	33
Tableau 22 : Données démographiques de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	34
Tableau 23 : Exclusions des analyses de PFS et d'OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	35
Tableau 24 : Survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps.....	37
Tableau 25 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps.....	39
Tableau 26 : Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	41
Tableau 27 : Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	42
Tableau 28 : Comparaison de l'OS médiane entre les groupes de réduction des CTC et du PSA Favorable et Défavorable.....	44
Tableau 29 : Comparaison « patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique » des CTC et d'une réduction du PSA de 30% à 2-5 semaines.....	45
Tableau 30 : Comparaison « patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique » des CTC et d'une réduction du PSA de 30% à 13-20 semaines.....	45
Tableau 31 : Comparaison « observation de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique » des CTC et d'une réduction du PSA de 30%.....	45
Liste des figures	
Figure 1 : PFS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC au départ <5 ou ≥5 (N=177).....	7
Figure 2 : PFS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC < 5 ou ≥5 CTC lors des différents suivis.....	8
Figure 3 : Une diminution du nombre de CTC au-dessous de 5 après le début du traitement permet de prévoir une PFS plus longue chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	9
Figure 4 : OS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC au départ < 5 ou ≥5 (N=177).....	9
Figure 5 : OS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC < 5 ou ≥5 lors des différents suivis.....	10
Figure 6 : Une réduction du nombre de CTC à un niveau inférieur à 5 après le début du traitement est prédictive d'une survie globale plus longue alors que l'augmentation du nombre de CTC à 5 ou plus est prédictive d'une survie globale plus courte chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.....	11
Figure 7 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant une maladie non évolutive (MNE) ou une maladie évolutive (ME) lors de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi (N=138).....	16
Figure 8 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC < 5 ou ≥5 lors du 1er suivi après le début du traitement (N=138).....	17

Figure 9 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC < 5 ou $\geq 5 \pm 1$ mois avant ou après l'étude de l'imagerie médicale du premier suivi (N=134)	17
Figure 10 : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique des groupes 1, 2, 3 et 4 à l'aide de l'évaluation des CTC lors du 1er suivi après le début du traitement (n=138) et du statut de la maladie déterminé lors de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi	19
Figure 11 : PFS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC au départ < 3 ou ≥ 3 (N=413)	22
Figure 12 : PFS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC <3 ou ≥ 3 CTC lors des différents suivis	23
Figure 13 : Une diminution du nombre de CTC au-dessous de 3 après le début du traitement permet de prévoir une PFS plus longue chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.....	24
Figure 14 : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC au départ < 3 ou ≥ 3 (N=413)	25
Figure 15 : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC < 3 ou ≥ 3 lors des différents suivis.....	25
Figure 16 : Une réduction du nombre de CTC à un niveau inférieur à 3 après le début du traitement est prédictive d'une survie globale plus longue alors que l'augmentation du nombre de CTC à 3 ou plus est prédictive d'une survie globale plus courte chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.	26
Figure 17 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et ayant une MNE ou une ME lors de la 1ère étude d'imagerie de suivi (N=402)	30
Figure 18 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et ayant moins de 3 ou au moins 3 CTC lors du 1er suivi après le début du traitement (N=320)	31
Figure 19 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et ayant moins de 3 ou au moins 3 CTC ± 1 mois avant ou après la 1ère étude d'imagerie de suivi ou le décès (N=364)	31
Figure 20 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique des groupes 1, 2, 3 et 4 à l'aide de l'évaluation des CTC 3 à 5 semaines après le début du traitement (n=320) et du statut de la maladie déterminé lors de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi	33
Figure 21 : PFS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC au départ < 5 ou ≥ 5 (N=219)	36
Figure 22 : PFS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC < 5 ou ≥ 5 CTC lors des différents suivis	36
Figure 23 : Une diminution du nombre de CTC au-dessous de 5 après le début du traitement permet de prévoir une PFS plus longue chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique	37
Figure 24 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC au départ < 5 ou ≥ 5 (N=219)	38
Figure 25 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC < 5 ou ≥ 5 lors des différents suivis.....	39
Figure 26 : Une réduction du nombre de CTC à un niveau inférieur à 5 après le début du traitement est prédictive d'une survie globale plus longue alors que l'augmentation du nombre de CTC à 5 ou plus est prédictive d'une survie globale plus courte chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.....	40
Figure 27 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 2-5 semaines après le début du traitement	43
Figure 28 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 6 à 8 semaines après le début du traitement	43
Figure 29 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 9 à 12 semaines après le début du traitement	43
Figure 30 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 13 à 20 semaines après le début du traitement	44
Figure 31 : Le nombre de CTC et les changements de PSA associés pour prévoir l'OS 2 à 5 semaines (panel A), 6 à 8 semaines (panel B), 9 à 12 semaines (panel C) et 13 à 20 semaines (panel D) après le début du traitement.....	46

1 Patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique (MBC)

Un essai clinique multicentrique prospectif a été mené afin de déterminer si le nombre de CTC permettait de prédire l'évolution de la maladie et la survie. Des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique présentant une maladie mesurable (N=177) et commençant une nouvelle ligne de traitement ont été recrutées. Les données cliniques ont été analysées sur la base d'une intention de traiter. Les données démographiques des patientes sont présentées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Données démographiques de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

Catégorie		Patientes N=177
Âge au début de l'essai (au départ)	Moyenne ± écart type Médiane	58 ± 13 58
	Description des catégories	Nombre de sujets (% par rapport au total)
Stade	1	26 (15%)
	2	92 (52%)
	3	26 (15%)
	4	20 (11%)
	Inconnu	13 (7%)
Origine ethnique	Caucasienne	153 (86%)
	Africaine	14 (8%)
	Hispanique	7 (4%)
	Inconnu	3 (2%)
Score ECOG au départ	0	82 (46%)
	1	72 (41%)
	2	18 (10%)
	Inconnu	5 (3%)
Site de la maladie	Viscères	152 (86%)
	Os	153 (86%)
ER/PR	+	121 (68%)
	-	54 (31%)
	Inconnu	2 (1%)
HER2	0	91 (51%)
	1+	12 (7%)
	2+	18 (10%)
	3+	27 (15%)
	Inconnu	29 (17%)
Ligne de traitement	1ère ligne	82 (46%)
	2ème ligne	26 (15%)
	≥ 3ème ligne	67 (38%)
	Inconnu	2 (1%)
Type de traitement	Chimio (Ch)	74 (42%)
	Endocrinien (En)	45 (25%)
	Ciblé (Ci)	9 (5%)
	Ch/En	10 (6%)
	Ch/Ci	23 (13%)
	En/Ci	7 (4%)
	Ch/En/Ci	2 (1%)
	Divers	2 (1%)
	Inconnu	5 (3%)

Le nombre de CTC initial a été déterminé avant le début d'une nouvelle ligne de traitement. Les nombres de CTC de suivi ont été déterminés après le début du traitement, à approximativement 3 à 4 semaines d'intervalle. Pour les analyses avant traitement, la survie sans progression (PFS) a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de départ jusqu'au diagnostic de progression par CT Scan et/ou l'apparition de signes et symptômes cliniques, et la survie globale (OS) a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de départ jusqu'au moment du décès. Pour les analyses de suivi, la PFS a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de suivi jusqu'au diagnostic de progression ou jusqu'au décès, et l'OS a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de suivi jusqu'au décès.

1.1 Fréquences des CTC

Les résultats de CTC obtenus à partir des prélèvements sanguins de suivi 3-5 semaines, 6-8 semaines, 9- 12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement ont été classés comme étant favorables (<5 CTC) ou défavorables (≥ 5 CTC). Si plusieurs résultats de CTC ont été obtenus pendant l'intervalle de temps désigné pour le suivi, le plus éloigné du prélèvement sanguin de départ a été utilisé.

Vingt trois des 177 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique n'ont pas été évaluées lors du premier suivi. Sur ces 23 patientes, dix sont décédées avant obtention d'un prélèvement sanguin de suivi, neuf ont présenté une progression avant un prélèvement sanguin de suivi et quatre ont été perdues de vue. Notamment, chacune des dix patientes décédées présentait un nombre de CTC allant de supérieur à ≥ 5 à un nombre extrêmement élevé au départ (nombre de CTC de 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1 143, 4 648 et 23 618). Parmi les 154 patientes disponibles pour le suivi, 132, 99, 129 et 85 patientes ont eu un prélèvement sanguin 3-5, 6-8, 9-14 et 15-20 semaines après le début du traitement, respectivement.

Tableau 3 récapitule le nombre total et le pourcentage de patientes ayant un nombre de CTC défavorable au cours de l'essai clinique en termes de survie globale qui diffèrent des nombres et des pourcentages de patientes en survie sans progression, indiqués dans le **Tableau 2**. La différence du nombre de patientes à chaque point dans le temps *entre* les deux tableaux est due à la progression de certaines patientes avant le prélèvement sanguin. La différence de nombre de patientes *dans* les tableaux est due au nombre de patientes ayant subi des prélèvements sanguins et ayant obtenu les résultats de CTC à chaque point dans le temps.

1.2 Analyse de la survie sans progression (PFS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

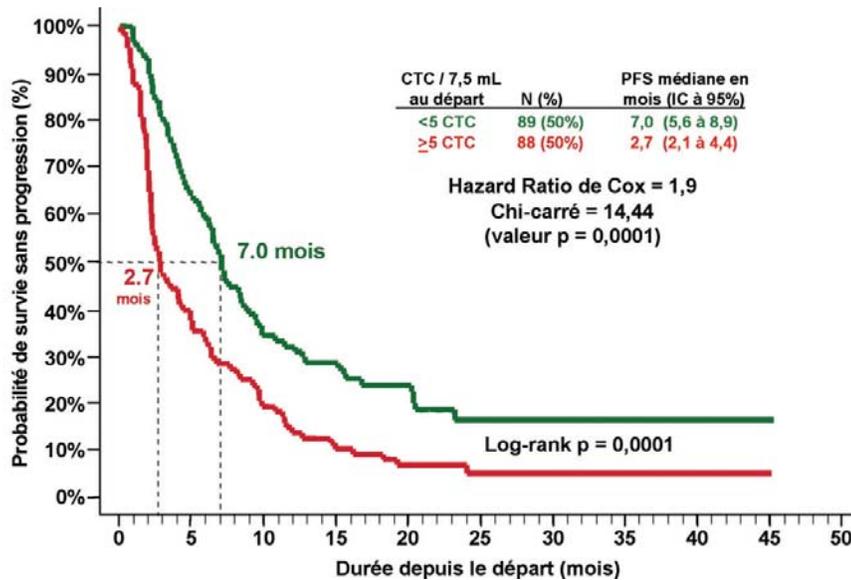
1.2.1 PFS avec résultats CTC de départ

Un test CTC initial a été effectué pour les 177 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patientes ont été réparties dans deux groupes selon leur nombre de CTC initial :

- Le groupe Favorable (N=89), représenté en **vert**, comprenait les patientes comptant <5 CTC.
- Le groupe Défavorable (N=88), représenté en **rouge**, comprenait les patientes comptant ≥ 5 CTC.

La PFS médiane était significativement plus longue dans le groupe Favorable que dans le groupe Défavorable (respectivement 7,0 contre 2,7 mois) Ces résultats sont illustrés dans la **Figure 1**.

Figure 1 : PFS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC au départ <5 ou ≥ 5 (N=177).



1.2.2 PFS en utilisant les résultats CTC de suivi

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ont été réparties dans deux groupes selon leur nombre de CTC lors de chacun des divers prélèvements sanguins de suivi. Les deux groupes de patientes sont présentés à la **Figure 2** pour la PFS à chaque prélèvement sanguin de suivi après le début du traitement. Les durées de PFS ont été calculées à partir de chaque prélèvement sanguin et toutes les patientes présentant des signes de progression avant un prélèvement sanguin particulier ont été exclues de l'analyse de ce prélèvement sanguin de suivi, ainsi que de tous les autres prélèvements sanguins de suivi suivants. La **Figure 2** illustre la capacité des CTC de patientes comptant <5 CTC et ≥ 5 CTC 3-5 semaines, 6-8 semaines, 9-14 semaines et 15-20 semaines après le début du traitement à prédire la durée avant une progression clinique chez 177 patientes souffrant d'un cancer du sein métastatique.

- Le groupe Favorable, représenté en **vert olive, bleu, pourpre** et **cyan**, comprenait les patientes comptant <5 CTC,
- Le groupe Défavorable, représenté en **marron, noir, gris** et **orange**, comprenait les patientes comptant ≥ 5 CTC.

Figure 2 : PFS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC <5 ou ≥ 5 CTC lors des différents suivis

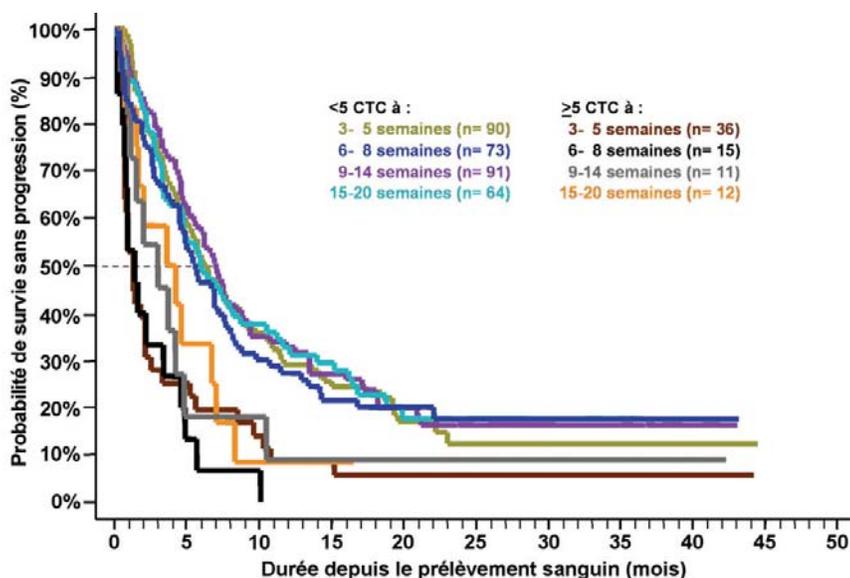


Tableau 2 résume les résultats de l'analyse de la PFS à l'aide des niveaux de CTC et d'un seuil de ≥ 5 CTC/7,5 mL lors de chaque prélèvement sanguin.

Tableau 2 : Survie sans progression (PFS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps

1 Période d'échantillonnage après le début du traitement	2 N	3 ≥ 5 CTC	4 PFS médiane en mois (IC à 95%)		6 Log-rank valeur p
			<5 CTC		
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
Au départ	177	88 (50%)	7,0 (5,6 à 8,9)	2,7 (2,1 à 4,4)	0,0001
3-5 semaines	126	36 (29%)	6,1 (4,7 à 8,6)	1,3 (0,7 à 2,1)	<0,0001
6-8 semaines	88	15 (17%)	5,6 (4,5 à 7,6)	1,4 (0,6 à 3,4)	0,0001
9-14 semaines	102	11 (11%)	7,0 (5,1 à 8,8)	3,0 (0,9 à 4,8)	0,0251
15-20 semaines	76	12 (16%)	5,9 (3,8 à 8,7)	3,6 (0,7 à 7,0)	0,0610

Comme illustré par la Figure 2 et au Tableau 2, les patientes ayant un nombre de CTC élevé (≥ 5 CTC/7,5 mL de sang total) à n'importe quel point dans le temps, la probabilité d'une évolution rapide était beaucoup plus élevée que pour celles qui avaient <5 CTC. La colonne 4 du Tableau 2 montre que les durées de la PFS médiane des patientes ayant <5 CTC allaient de 5,6 à 7,0 mois et étaient beaucoup plus longues que les durées de PFS médiane des patientes ayant 5 CTC ou plus, qui allaient de 1,3 à 3,6 mois (colonne 5).

1.2.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de la PFS

Les durées de PFS globales ont été calculées depuis le prélèvement sanguin initial. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (Figure 3), les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ont été réparties en quatre groupes selon leur nombre de CTC au départ, 3-5 semaines, 6-8 semaines, 9-14 semaines et 15-20 semaines après le début du traitement :

- Groupe 1 (courbe verte), 83 patientes (47%) avec <5 CTC lors de tous les prélèvements sanguins. Cinq (6%) de ces patientes n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, alors que deux (2%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; toutes comptaient 5 CTC ou moins ;
- Groupe 2 (courbe bleue), 38 patientes (21%) avec ≥ 5 CTC avant le début du traitement, mais dont le nombre de CTC avait chuté en-dessous de 5 lors de leur dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 3 (courbe orange), 17 patientes (10%) comptant <5 CTC lors d'un prélèvement précoce (au départ, à 3-5 semaines et/ou à 6-8 semaines), mais dont le nombre avait augmenté à ≥ 5 CTC lors du dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 4 (courbe rouge), 39 patientes (22%) avec 5 CTC ou plus lors de tous les prélèvements sanguins. Dix (26%) de ces patientes n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ.

Figure 3 : Une diminution du nombre de CTC au-dessous de 5 après le début du traitement permet de prévoir une PFS plus longue chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

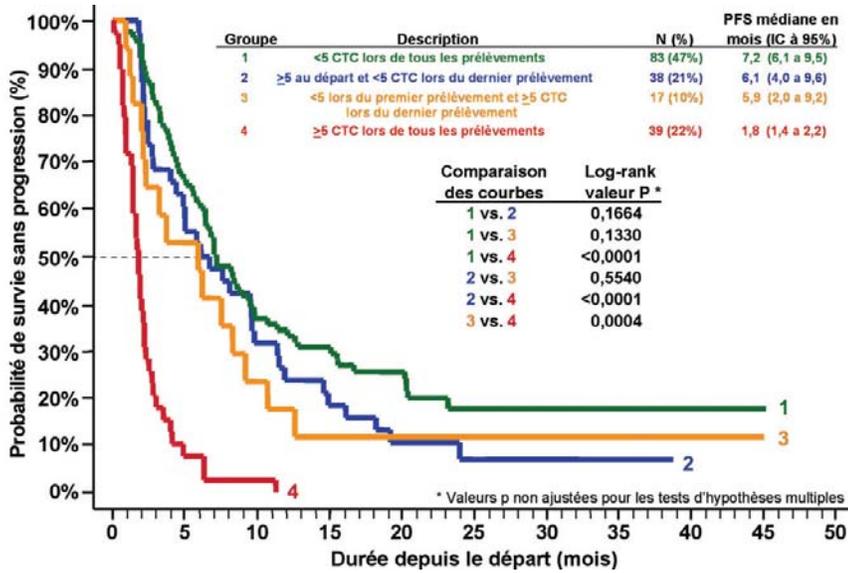


Figure 3 montre que les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique et comptant ≥ 5 CTC à tous les points de temps (**groupe 4**) avaient la PFS médiane la plus courte, très éloignée de celle du **groupe 3**, du **groupe 2** et du **groupe 1**. Les différences entre les courbes des autres groupes de cette figure n'étaient pas significatives.

1.3 Analyse de la survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

1.3.1 Analyse de l'OS utilisant les résultats CTC initiaux

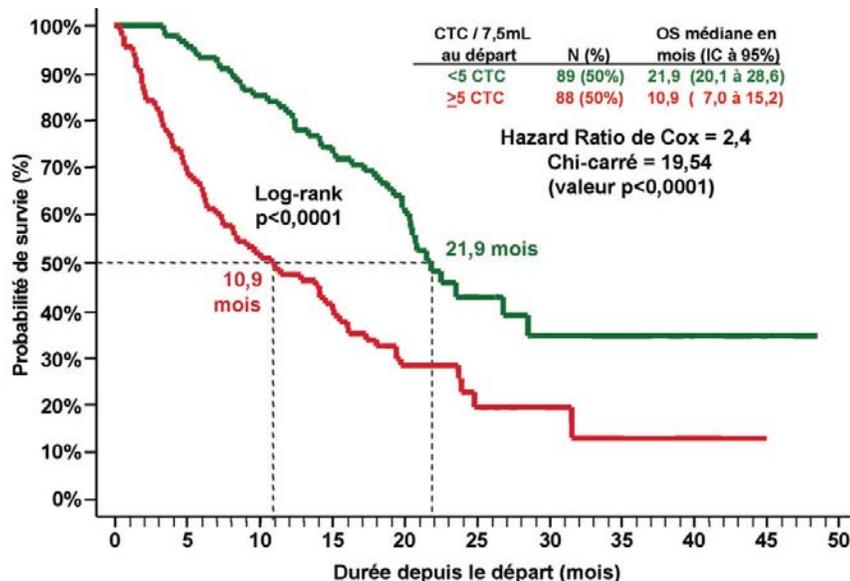
109 (62%) des 177 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique sont décédées, avec une durée moyenne du suivi pour les 68 (38%) patientes toujours en vie de 22,7 + 9,4 mois (médiane = 21,1 ; intervalle = 4,4 à 48,6). Lors de ces analyses, 44 (49%) des 89 patientes du groupe Favorable (<5 CTC au départ) contre 65 (74%) des 88 patientes du groupe Défavorable (≥ 5 CTC au départ) sont décédées.

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patientes ont été réparties dans deux groupes selon leur nombre de CTC initial :

- Le groupe Favorable (N=89), représenté en **vert**, comprenait les patientes comptant <5 CTC.
- Le groupe Défavorable (N=88), représenté en **rouge**, comprenait les patientes comptant ≥ 5 CTC.

L'OS médiane était significativement plus longue dans le groupe Favorable par rapport au groupe Défavorable (respectivement 21,9 par rapport à 10,9 mois) Ces résultats sont illustrés par la **Figure 4**.

Figure 4 : OS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC au départ <5 ou ≥ 5 (N=177).



1.3.2 OS en utilisant les résultats CTC de suivi

Les analyses de Kaplan-Meier des deux groupes de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique, à chacun des différents temps de prélèvement sanguin de suivi après le début du traitement, sont illustrés par la **Figure 5**. Cette figure illustre la capacité des CTC chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique comptant <5 CTC et ≥ 5 CTC, 3-5 semaines, 6-8 semaines, 9-14 semaines et 15-20 semaines après le début du traitement à prédire la durée avant décès de 177 patientes souffrant d'un cancer du sein métastatique. Les durées d'OS ont été calculées à partir du temps de chaque prélèvement sanguin.

- Le groupe Favorable, représenté en **vert olive, bleu, pourpre et cyan**, comprenait les patientes comptant moins de 5 CTC,
- Le groupe Défavorable, représenté en **marron, noir, gris et orange**, comprenait les patientes comptant ≥ 5 CTC.

Figure 5 : OS des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique avec des CTC <5 ou ≥ 5 lors des différents suivis

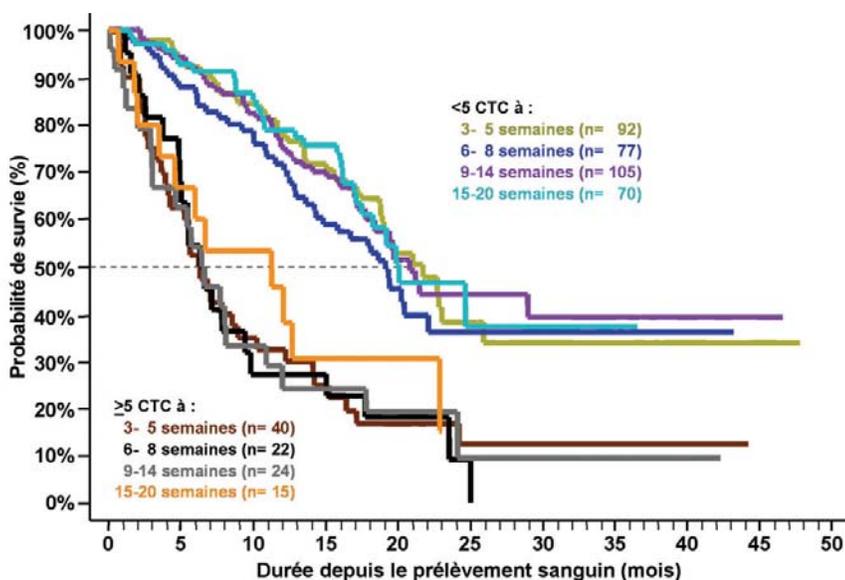


Tableau 3 résume les résultats de l'analyse de l'OS à l'aide du nombre de CTC et d'un seuil de ≥ 5 CTC/7,5 mL lors de chaque prélèvement sanguin.

Tableau 3 : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps

Période d'échantillonnage après le début du traitement	N	≥ 5 CTC	OS médiane en mois (IC à 95%)		Log-rank valeur p
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
			1	2	
Au départ	177	88 (50%)	21,9 (20,1 à 28,6)	10,9 (7,0 à 15,2)	<0,0001
3-5 semaines	132	40 (30%)	21,7 (18,8 à 25,9)	6,2 (4,1 à 8,9)	<0,0001
6-8 semaines	99	22 (22%)	19,1 (14,2 à 22,1)	6,3 (4,8 à 9,8)	0,0001
9-14 semaines	129	24 (19%)	20,8 (17,8 à ≥ 45)	6,4 (3,0 à 10,9)	<0,0001
15-20 semaines	85	15 (18%)	20,1 (17,1 à ≥ 35)	11,3 (2,0 à 22,9)	0,0021

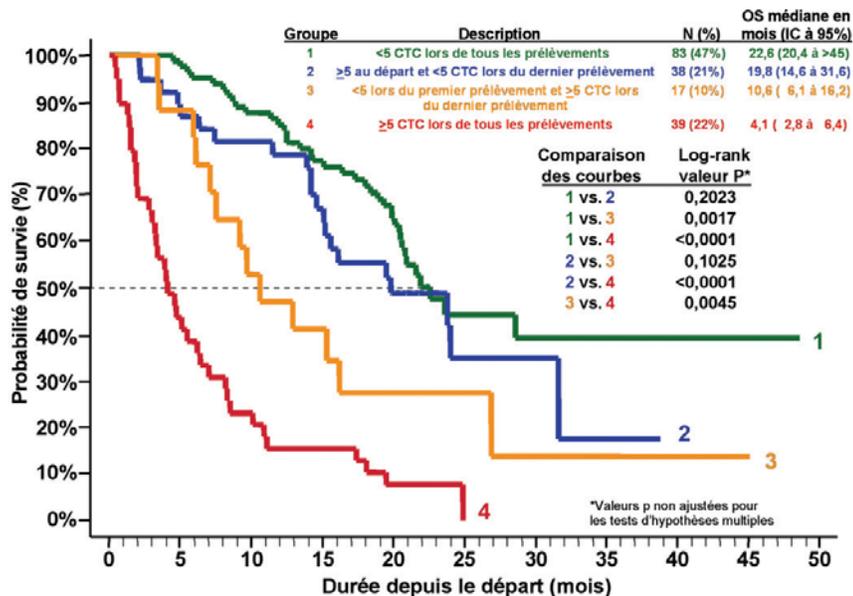
1.3.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de l'OS

Les durées d'OS écoulées ont été calculées depuis le prélèvement sanguin initial. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (**Figure 6**), les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ont été réparties en quatre groupes selon leur nombre de CTC au départ, 3-5 semaines, 6-8 semaines, 9-14 semaines et 15-20 semaines après le début du traitement :

- Groupe 1 (courbe **verte**), 83 patientes (47%) avec <5 CTC lors de tous les prélèvements sanguins. Cinq (6%) de ces patientes n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, alors que deux (2%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; toutes comptaient ≥ 5 CTC ;
- Groupe 2 (courbe **bleue**), 38 patientes (21%) avec ≥ 5 CTC avant le début du traitement, mais dont le nombre de CTC avait chuté en-dessous de 5 lors de leur dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 3 (courbe **orange**), 17 patientes (10%) comptant <5 CTC lors d'un prélèvement précoce (au départ, à 3-5 semaines et/ou à 6-8 semaines), mais dont le nombre avait augmenté à ≥ 5 CTC lors du dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 4 (courbe **rouge**), 39 patientes (22%) avec ≥ 5 CTC lors de tous les prélèvements sanguins. Dix (26%) de ces patientes n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ.

La **Figure 6** montre que les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique qui dépassent le seuil de 5 CTC à tout moment après le début du traitement présentent un risque beaucoup plus élevé d'avoir une survie globale plus courte. Les patientes ayant ≥ 5 CTC à tous les points de temps (**groupe 4**) avaient l'OS médiane la plus courte, très éloignée de celle du **groupe 3**, du **groupe 2** et du **groupe 1**. La différence de survie médiane entre le **groupe 3** et le **groupe 1** était également significative et, bien que l'OS médiane du **groupe 3** ait été plus courte que celle du **groupe 2**, la différence n'était pas statistiquement significative. La **Figure 6** montre également que les patientes qui comptaient ≥ 5 CTC au départ, mais dont le nombre a éventuellement chuté à moins de 5 après le début du traitement, ont approximativement le même risque de décéder que celles dont les CTC n'ont jamais dépassé le seuil de 5 CTC.

Figure 6 : Une réduction du nombre de CTC à un niveau inférieur à 5 après le début du traitement est prédictive d'une survie globale plus longue alors que l'augmentation du nombre de CTC à 5 ou plus est prédictive d'une survie globale plus courte chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.



Comme illustré à la **Figure 6** et aux colonnes 4 et 5 du **Tableau 3**, pour les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC ≥ 5 à n'importe quel point dans le temps, la probabilité de décéder plus précocement était beaucoup plus élevée que pour celles ayant <5 CTC. Les durées de l'OS médiane des patientes ayant <5 CTC allaient de 19,1 à 21,9 mois et étaient substantiellement plus longues que les durées de l'OS médiane des patientes ayant ≥ 5 CTC, qui allaient de 6,2 à 11,3 mois.

1.3.4 Analyse de la régression de Cox univariée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

Les paramètres suivants ont été analysés en utilisant une analyse de régression univariée selon le modèle de Cox afin d'évaluer l'association avec la PFS et l'OS : âge de la patiente (continu), stade de la maladie lors du diagnostic (1-4), temps écoulé avant métastase (continu), statut ECOG avant le début d'une nouvelle ligne de traitement (0-2), statut ER/PR (+/-), statut HER2/neu (0-3+), ligne de traitement ($\geq 2^{\text{ème}}$ ou $1^{\text{ère}}$), type de traitement (chimio/autre ou hormonal/immuno), nombre de CTC de départ (≥ 5 ou <5 CTC/7,5 mL) et nombre de CTC lors du suivi 3-5 semaines, 9-14 semaines et 15-20 semaines après le début du traitement (≥ 5 ou <5 CTC/7,5 mL). Le **Tableau 4** présente les résultats de cette analyse ainsi que le hazard ratio (HR) de Cox et la valeur p associée (test Wald de statistique Z), et le nombre de patientes dans chaque évaluation.

Tableau 4 : Analyse de la régression de Cox univariée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

Paramètre	Catégories		Nombre de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique Patientes	Risque de PFS à partir du départ		Risque d'OS à partir du départ	
	Positif	Négatif		HR	valeur p	HR	valeur p
Âge lors du premier prélèvement sanguin	Âge en années		175	0,99	0,173	0,99	0,375
Stade lors du diagnostic primaire	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		164	0,97	0,723	1,00	0,969
ER/PR	Positif	Négatif	175	0,84	0,327	0,53	0,002
Her-2/neu	3+ vs. 2+ vs. 1+ vs. 0		148	0,91	0,207	0,93	0,422
Statut ECOG de départ	2 vs. 1 vs. 0		172	1,14	0,307	1,64	0,001
Temps écoulé avant métastase	Temps en années		175	0,97	0,048	0,95	0,018
Ligne de traitement	≥ 2eme	1er	175	1,55	0,007	1,91	0,001
Type de traitement	Chimio uniquement	H / C et/ou I	172	1,97	<0,001	2,22	<0,001
Nombre de CTC de départ	≥ 5	<5	177	1,85	<0,001	2,36	<0,001
Nombre de CTC à 3-5 semaines	≥ 5	<5	132	2,52	<0,001	3,30	<0,001
Nombre de CTC à 6-8 semaines	≥ 5	<5	99	3,57	<0,001	2,87	<0,001
Nombre de CTC à 9-14 semaines	≥ 5	<5	129	2,89	<0,001	3,64	<0,001
Nombre de CTC à 15-20 semaines	≥ 5	<5	85	1,86	0,041	2,85	0,004

H / C / et/ou I – Thérapie Hormonale ou Immunothérapie seule ou Combinaison d'une thérapie Hormonale et/ou d'une Chimio et/ou d'une Immunothérapie

1.3.5 Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

Des analyses de régression multivariées selon le modèle de Cox ont été effectuées sur des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique afin d'évaluer la puissance de prédiction indépendante du nombre de CTC par ajustement des effets des facteurs cliniques importants connus qui sont statistiquement significatifs dans les analyses univariées. Il a été observé que le nombre de CTC est un fort indice de prédiction de la PFS (**Tableau 5**) et de l'OS (**Tableau 6**).

Tableau 5 : Analyse de la régression de Cox multivariée sur la survie sans progression chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

Variable	N	Hazard Ratio	Valeur P
Nombre de CTC au départ (<5 vs ≥5)	172	1,69	0,001
Temps écoulé avant métastase (années)		0,98	0,154
Ligne de traitement (1ère vs. ≥ 2ème)		1,52	0,013
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,74	0,001
Nombre de CTC lors du suivi à 3-5 semaines (<5 vs ≥5)			
	132	2,32	<0,001
Temps écoulé avant métastase (années)		0,97	0,166
Ligne de traitement (1ère vs. ≥ 2ème)		1,68	0,008
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,50	0,060
Nombre de CTC lors du suivi à 6-8 semaines (<5 vs. ≥5)			
	99	2,92	<0,001
Temps écoulé avant métastase (années)		0,93	0,023
Ligne de traitement (1ère vs. ≥ 2ème)		1,36	0,175
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,90	0,005
Nombre de CTC lors du suivi à 9-14 semaines (<5 vs. ≥5)			
	129	2,23	0,002
Temps écoulé avant métastase (années)		0,97	0,170
Ligne de traitement (1ère vs. ≥ 2ème)		1,48	0,061
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,73	0,007
Nombre de CTC lors du suivi à 15-20 semaines (<5 vs. ≥5)			
	85	1,58	0,140
Temps écoulé avant métastase (années)		0,96	0,064
Ligne de traitement (1ère vs. ≥ 2ème)		1,80	0,018
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,66	0,049

Tableau 6 : Analyse de la régression de Cox multivariée sur la survie globale chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

Variable	N	Hazard Ratio	Valeur P
Nombre de CTC au départ (<5 vs ≥5)	170	2,62	<0,001
ER/PR (négatif vs positif)		0,57	0,016
Statut ECOG de départ (2 vs 1 vs 0)		1,58	0,001
Temps écoulé avant métastase (années)		0,97	0,078
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème)		2,33	<0,001
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,78	0,006
Nombre de CTC lors du suivi à 3-5 semaines (<5 vs ≥5)	130	3,78	<0,001
ER/PR (négatif vs positif)		0,51	0,020
Statut ECOG de départ (2 vs 1 vs 0)		1,69	0,001
Temps écoulé avant métastase (années)		0,96	0,142
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème)		2,30	0,001
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,72	0,026
Nombre de CTC lors du suivi à 6-8 semaines (<5 vs ≥5)	99	2,88	0,001
ER/PR (négatif vs positif)		0,58	0,062
Statut ECOG de départ (2 vs 1 vs 0)		1,32	0,173
Temps écoulé avant métastase (années)		0,94	0,135
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème)		2,51	0,001
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		2,33	0,003
Nombre de CTC lors du suivi à 9-14 semaines (<5 vs ≥5)	129	4,14	<0,001
ER/PR (négatif vs positif)		0,39	0,002
Statut ECOG de départ (2 vs 1 vs 0)		1,57	0,016
Temps écoulé avant métastase (années)		0,98	0,388
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème)		2,21	0,003
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		2,28	0,003
Nombre de CTC lors du suivi à 15-20 semaines (<5 vs ≥5)	85	3,44	0,006
ER/PR (négatif vs positif)		0,38	0,024
Statut ECOG de départ (2 vs 1 vs 0)		1,33	0,321
Temps écoulé avant métastase (années)		0,94	0,150
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème)		3,43	0,001
Type de traitement (hormonal/autre vs chimio uniquement)		1,67	0,166

1.4 Utilisation des CTC pour surveiller le statut clinique du cancer du sein métastatique

1.4.1 Lien entre la survie, les CTC et l'évaluation de la maladie par imagerie médicale

L'imagerie radiologique est un des outils principaux utilisés pour déterminer le statut de la maladie et la réponse thérapeutique chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. Afin d'établir le lien entre le statut clinique déterminé par imagerie médicale et les CTC, les CTC mesurées à deux repères de temps différents et les résultats de l'imagerie médicale ont été comparés 1) au critère de la vraie survie globale clinique et 2) l'un par rapport à l'autre.

1.4.2 CTC

Des données antérieures ont montré que les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC ≥ 5 par 7,5 mL de sang lors d'une des visites de suivi ultérieures ayant lieu après le début du traitement présentaient une probabilité plus élevée de maladie évolutive et de diminution de la survie globale par rapport aux patientes ayant <5 CTC par 7,5 mL de sang. Les résultats de CTC obtenus lors du premier suivi après le début du traitement, ainsi que ceux obtenus à \pm un mois de l'étude par imagerie médicale ont été classés comme <5 CTC et ≥ 5 CTC. Si plus d'une valeur de CTC a été obtenue à un \pm mois de l'étude par imagerie médicale, le résultat CTC obtenu le plus proche de la date de l'étude de l'imagerie médicale a été utilisé.

1.4.3 Imagerie médicale

Tous les sites d'imagerie médicale étaient en conformité avec les normes DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine). À l'aide d'images numériques standardisées, deux experts radiologues (lecteurs), travaillant individuellement et n'ayant accès à aucune information clinique, ont classifié chacune des évaluations de suivi de la maladie (231 études d'images au total) provenant de 138 patientes présentant une maladie mesurable : indéterminé (I), maladie stable (S), réponse partielle (RP) ou maladie évolutive (ME) selon les critères bidimensionnels de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Une maladie mesurable était définie comme la présence d'au moins une lésion ayant une longueur maximum ≥ 2 cm. Les lecteurs ont identifié jusqu'à huit lésions par patiente et par repère de temps en décrivant la longueur maximum de la lésion ainsi que sa largeur maximum (perpendiculaire à la longueur). Ces deux dimensions ont été multipliées et le « produit issu de la multiplication » a été rapporté. La somme des mesures pour les « produits issus de la multiplication » a été calculée, et la modification du pourcentage par rapport au repère de temps précédent a été déterminée. Bien que toutes les patientes présentaient une maladie mesurable, des lésions non mesurables (toujours détectables par radiologie) ont été incluses dans la détermination du statut des patientes comme indiqué dans les lignes directrices de l'OMS. Une maladie évolutive était définie comme une augmentation $>25\%$ de la somme de toutes les lésions ou l'apparition d'une nouvelle lésion mesurable ou non mesurable. Une réponse partielle était définie comme une diminution de la somme de toutes les lésions $\geq 50\%$ et aucune nouvelle lésion.

Les interprétations radiologiques des deux experts radiologues ont été classifiées comme suit :

- S et RP étaient tous deux considérés comme reflétant une maladie non évolutive (MNE)
- ME était considéré comme reflétant une maladie évolutive
- dans les situations où l'un des radiologues a rendu une classification Indéterminée (I) mais que l'autre radiologue a rendu une classification S, RP ou ME, la classification de ce dernier a été utilisée pour être comparée au nombre de CTC (n=11)
- lorsque les deux radiologues ont rendu une classification Indéterminée (I), les données n'ont alors pas été utilisées pour être comparées au nombre de CTC (n=3)
- un troisième radiologue indépendant a permis de résoudre les désaccords entre les deux lecteurs primaires concernant les résultats de type ME et MNE (n=27)
- dans les situations où lorsque le troisième radiologue indépendant a rendu une classification Indéterminée (I), les données n'ont pas été utilisées pour être comparées au nombre de CTC (n=2)
- lors d'études en série de l'imagerie médicale, les résultats radiologiques qui dataient de moins d'un mois et provenaient d'une observation précédente classifiée n'ont pas été utilisés (n=1).

1.4.4 Lien entre la survie et l'imagerie médicale et les CTC

Des analyses de Kaplan-Meier distinctes ont été réalisées afin de comparer la survie globale des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique dans les groupes Favorable (<5 CTC) et Défavorable (≥ 5 CTC) à l'aide des résultats des CTC à deux repères de temps différents et à l'aide de la première étude d'imagerie médicale de suivi. À l'aide des résultats des premières études de l'imagerie médicale de suivi réalisées $10,1 \pm 5,1$ semaines (médiane = 9,0 semaines) après le début du traitement (c.-à-d. le prélèvement sanguin de départ), la survie médiane de 96 (70%) patientes déterminées par imagerie médicale comme ayant une maladie non évolutive était de 23,8 mois (IC à 95% : 20,4 à 28,6) (**Figure 7, Tableau 7**). Pour les 42 (30%) patientes déterminées comme ayant une maladie évolutive par imagerie médicale, la survie médiane était de 12,9 mois (IC à 95% : 7,1 à 19,3).

Pour les CTC du premier prélèvement sanguin de suivi, réalisé $4,3 + 2,5$ semaines (médiane = 4,0 semaines) après le début du traitement, la survie médiane de 104 (75%) patientes ayant des résultats de CTC favorables (moins de 5 CTC) était de 21,9 mois (IC à 95% : 20,4 à 26,9) (**Figure 8, Tableau 7**). Trente quatre (34) patientes (25%) ayant des résultats de CTC défavorables (≥ 5 CTC) avaient une survie médiane de 8,3 mois (IC à 95% : 5,9 à 15,1).

Afin de déterminer si les évaluations des CTC réalisées à une date plus proche de l'imagerie médicale se traduisaient par des perspectives de survie similaires par rapport aux évaluations des CTC effectuées environ 4 semaines après le début du traitement, seules les patientes ayant eu des évaluations des CTC réalisées plus ou moins un mois avant ou après la première étude de l'imagerie médicale de suivi ($9,9 + 5,1$ semaines, médiane = 8,8 semaines, après le début du traitement) ont été analysées (**Figure 9, Tableau 7**). Cent trente quatre (134) des 138 patientes (97%) ont eu des évaluations des CTC moins d'un mois avant ou après la première étude de l'imagerie médicale de suivi. La survie médiane des 105 (78%) patientes avec des résultats de CTC favorables était de 21,9 mois (IC à 95% : 19,9 à 31,6). Pour les 29 (22%) patientes avec des résultats de CTC défavorables, la survie médiane était de 8,5 mois (IC à 95% : 5,5 à 15,1). Ces données montrent que les évaluations des CTC aux deux repères de temps procurent des résultats similaires à l'imagerie médicale effectuée environ 9 semaines après le début du traitement (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006).

Tableau 7 : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant eu une évaluation des CTC environ un mois après le début du traitement et moins d'un mois avant ou après l'évaluation radiologique

	N	Survie médiane et IC à 95% (mois)
Imagerie médicale	138	
Favorable (MNE)	96 (70%)	23,8 (20,4 – 28,6)
défavorable (ME)	42 (30%)	12,9 (7,1 – 19,3)
CTC lors du 1er suivi	138	
favorable (<5)	104 (75%)	21,9 (20,4 – 26,9)
défavorable (≥5)	34 (25%)	8,3 (5,9 – 15,1)
Nombre de CTC (± 1 mois avant ou après l'imagerie médicale)	134*	
favorable (<5)	105 (78%)	21,9 (19,9 – 31,6)
défavorable (≥5)	29 (22%)	8,5 (5,5 – 15,1)

*Des évaluations des CTC ont été réalisées chez 134 des 138 patientes moins d'1 mois avant ou après l'imagerie médicale.

Figure 7 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant une maladie non évolutive (MNE) ou une maladie évolutive (ME) lors de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi (N=138)

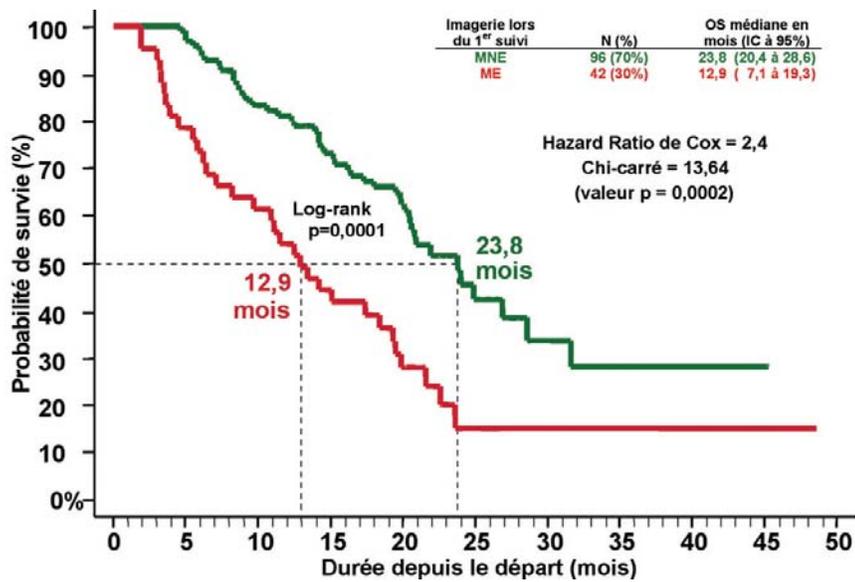


Figure 8 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 lors du 1er suivi après le début du traitement (N=138)

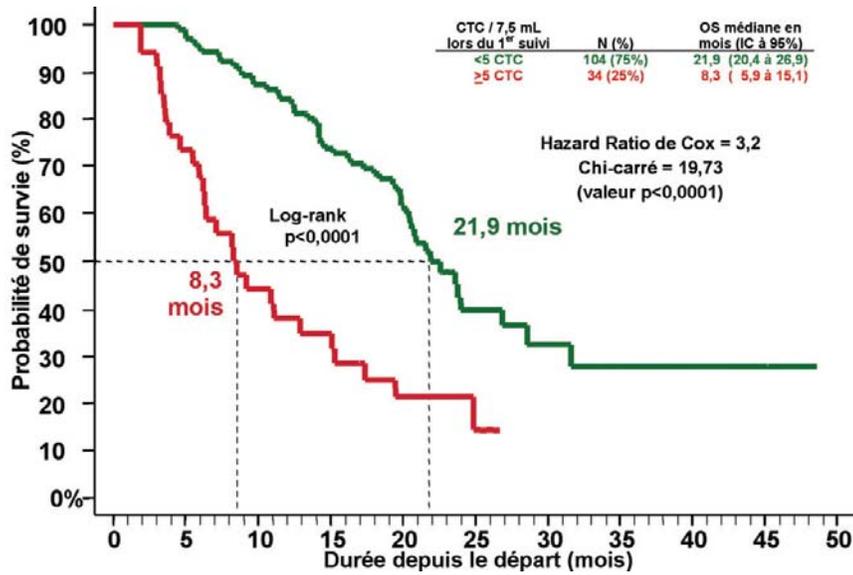
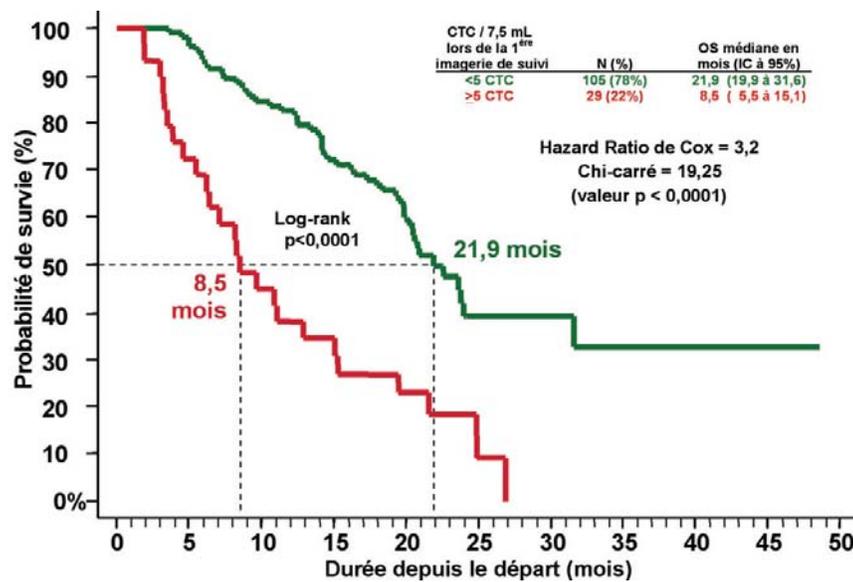


Figure 9 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 ± 1 mois avant ou après l'étude de l'imagerie médicale du premier suivi (N=134)



1.4.5 Concordances entre les CTC et la surveillance radiologique

Comme cela est indiqué ci-dessus, les études de l'imagerie médicale sont un composant majeur des normes actuelles en matière de soins en ce qui concerne la détermination de l'évolution de la maladie et de la réponse thérapeutique dans les cas de cancer du sein métastatique. Pour soutenir davantage l'efficacité des CTC dans la réalisation de ces évaluations cliniques (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006), les tableaux deux par deux des observations concordantes et discordantes entre les CTC et l'imagerie radiologique ont été établis en utilisant les critères précédemment décrits.

En n'utilisant que la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi, la réponse radiologique lors de cette visite a été comparée aux résultats de CTC obtenus moins d'un mois avant ou après l'étude de l'imagerie médicale. Au total 134 des 138 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique (97%) présentaient des résultats de CTC qui remplitaient ce critère. Le résultat de cette comparaison « patientes » entre les CTC et l'imagerie médicale est présenté au **Tableau 8**.

Tableau 8 : Comparaison « patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale

Réponse à la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi	Nombre de CTC moins d'1 mois avant ou après l'imagerie médicale		Total
	<5 CTC / 7,5 mL	≥ 5 CTC / 7,5 mL	
Maladie non évolutive	85	9	94
Maladie évolutive	20	20	40
Total	105	29	134

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	50%	34%	66%
% de concordance négative	90%	83%	96%
Valeur prédictive positive	69%	49%	85%
Valeur prédictive négative	81%	72%	88%
Concordance globale	78%	70%	85%
Rapport des cotes	9,4	3,4	26,8

En utilisant toutes les études de l'imagerie médicale de suivi réalisées après le début du traitement sur les 138 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique qui ont rendu des résultats de réponse radiologique utilisables (n=225), ces résultats ont alors été comparés aux résultats de CTC obtenus moins d'un mois avant ou après l'étude de l'imagerie médicale. Au total 219 des 225 (97%) études de l'imagerie médicale présentaient des résultats de CTC remplissant ce critère. Le résultat de cette comparaison « observations » entre les CTC et l'imagerie médicale est présenté au **Tableau 9**.

Tableau 9 : Comparaison « observation de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale

Réponse lors de toutes les études de l'imagerie médicale de suivi	Nombre de CTC moins d'1 mois avant ou après l'imagerie médicale		Total
	<5 CTC / 7,5 mL	≥ 5 CTC / 7,5 mL	
Maladie non évolutive	151	16	167
Maladie évolutive	30	22	52
Total	181	38	219

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	42%	29%	57%
% de concordance négative	90%	85%	94%
Valeur prédictive positive	58%	41%	74%
Valeur prédictive négative	83%	77%	89%
Concordance globale	79%	73%	84%
Rapport des cotes	6,9	3,0	15,8

Lors d'observations en série, seule une minorité des transitions pour les résultats de l'imagerie médicale entre une maladie non évolutive et une maladie évolutive coïncidait avec une transition correspondante des nombres de CTC compris entre <5 e ≥ 5 CTC par 7,5 mL.

La valeur pronostique des résultats de CTC à un repère de temps plus précoce étant équivalente à celle des résultats de CTC au moment de l'imagerie médicale (**Figure 8** et **Figure 9**), une comparaison « patientes » a été effectuée en utilisant les résultats provenant uniquement de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi, réalisée environ 9 semaines après le début du traitement et en utilisant les résultats de CTC obtenus lors du 1er suivi, réalisé environ 4 semaines après le début du traitement. Les résultats de CTC des 138 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique remplissaient ce critère. Le résultat de cette comparaison « patientes » entre les CTC à un moment plus précoce et l'imagerie médicale est présenté au **Tableau 10**.

Tableau 10 : Comparaison « patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale

Réponse à la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi	CTC lors du 1er suivi		Total
	<5 CTC / 7,5 mL	≥ 5 CTC / 7,5 mL	
Maladie non évolutive	84	12	96
Maladie évolutive	20	22	42
Total	104	34	138

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	52%	36%	68%
% de concordance négative	88%	79%	93%
Valeur prédictive positive	65%	46%	80%
Valeur prédictive négative	81%	72%	88%
Concordance globale	77%	69%	84%
Rapport des cotes	7,7	3,0	19,9

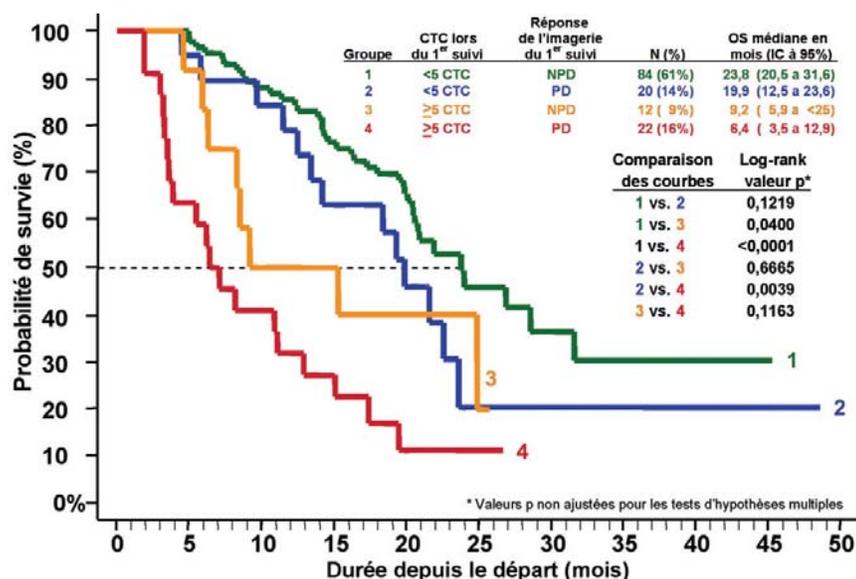
1.4.6 Les CTC comme complément de l'imagerie médicale

Alors que la concordance globale entre les CTC et l'imagerie médicale était bonne (environ 78%), il existait un désaccord chez environ 22% des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. Comme les informations provenant des évaluations des CTC sont destinées à être utilisées en association avec d'autres méthodes diagnostiques afin de prendre des décisions en matière de traitement, l'évaluation des CTC lors du 1er suivi (environ 4 semaines après le début du traitement) et l'imagerie médicale ont été comparées, dans les groupes suivants, à la survie globale (OS) afin de déterminer lequel des résultats discordants reflétait au mieux le pronostic de la patiente (**Figure 10**) :

- Groupe 1 (courbe verte), 84 (61%) patientes avec <5 CTC lors du 1er suivi et une MNE ;
- Groupe 2 (courbe bleue), 20 (14%) patientes avec <5 CTC lors du 1er suivi et une ME ;
- Groupe 3 (courbe orange), 12 (9%) patientes avec ≥ 5 CTC lors du 1er suivi et une MNE ;
- Groupe 4 (courbe rouge), 22 (16%) patientes avec ≥ 5 CTC lors du 1er suivi et une ME.

Dans cette étude, la détermination des CTC est un facteur de prédiction indépendant fort pour la survie globale. Les résultats de cette étude indiquent également que la combinaison des évaluations des CTC et des évaluations radiologiques fournit l'évaluation du pronostic la plus exacte.

Figure 10 : Survie globale (OS) des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique des groupes 1, 2, 3 et 4 à l'aide de l'évaluation des CTC lors du 1er suivi après le début du traitement (n=138) et du statut de la maladie déterminé lors de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi



1.5 Valeurs p non ajustées pour les tests d'hypothèse multiples

1.5.1 CTC

La variabilité inter-lecteurs pour l'énumération des CTC lors du premier prélèvement sanguin de suivi a été déterminée en comptant le nombre de fois que l'opérateur au site de test n'était pas en accord avec le laboratoire central en ce qui concerne la classification d'un échantillon, c'est-à-dire ≥ 5 CTC vs <5 CTC. Dans un sous-ensemble de 71 patientes, deux tubes de sang ont été prélevés et traités, et la classification ≥ 5 CTC vs <5 CTC pour chacun des deux tubes déterminée par le site ainsi que par le laboratoire central a été comparée.

1.5.2 Imagerie médicale

La variabilité inter-lecteurs a été déterminée en comparant les interprétations radiologiques des deux radiologues, classifiées comme maladie non évolutive (MNE) vs maladie évolutive (ME). La variabilité intra-lecteur a été calculée en comparant les interprétations radiologiques des deux radiologues dans un sous-ensemble de patientes, où chaque radiologue a déterminé la réponse lors de trois séances différentes, chaque séance étant séparée par un minimum d'une semaine. Des segments d'imagerie médicale provenant d'évaluations plus tardives chez ces 138

patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique et des évaluations des CTC avant le début du traitement et lors de suivis plus tardifs ont également été étudiés.

Tableau 11 : Variabilité des évaluations radiologiques et des évaluations des CTC chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique

	n	Radiologie MNE vs ME désaccord	n	CTC / 7,5 mL <5 vs ≥5 désaccord
<i>Inter-lecteurs</i>				
1er suivi	132	11,4%	138	0,7%
Tous les suivis	217	13,4%	695	1,0%
<i>Intra-lecteur</i>				
1er suivi				
Lecteur 1 (Radiologie)	24	25,0%	—	—
Lecteur 2 (Radiologie)	22	9,1%	—	—
Tous les suivis				
Lecteur 1 (Radiologie)	30	20,0%	—	—
Lecteur 2 (Radiologie)	28	10,7%	—	—
<i>CTC d'un tube à l'autre</i>				
1er suivi	—	—	71	5,6%
Tous les suivis	—	—	403	5,5%

Le Tableau 11 montre que la variabilité inter-lecteurs des déterminations radiologiques était significativement plus élevée à la fois dans l'évaluation de la maladie lors du premier suivi et dans les évaluations de suivi de la maladie ultérieures lorsqu'elle est comparée à la variabilité inter-lecteurs des énumérations des CTC dans les mêmes groupes (valeur P de Fisher : P <0,001).

Dans les cas où l'évaluation des CTC et l'évaluation radiologique sont discordantes, le nombre de CTC fournit l'évaluation pronostique la plus précise

2 Patients atteints d'un cancer colorectal métastatique (MCRC)

Un essai clinique multicentrique prospectif a été mené afin de déterminer si le nombre de CTC permettait de prédire l'évolution de la maladie et la survie. Des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique présentant une maladie mesurable (N=430) et commençant une nouvelle ligne de traitement ont été recrutés. Les données cliniques ont été analysées sur la base d'une intention de traiter. Les données démographiques des patients sont présentées dans le Tableau 12.

Le nombre de CTC initial a été déterminé avant le début d'une nouvelle ligne de traitement. Les nombres de CTC de suivi ont été déterminés après le début du traitement, à approximativement 3 à 4 semaines d'intervalle. Pour les analyses avant traitement, la survie sans progression (PFS) a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de départ jusqu'au diagnostic de progression par CT Scan et/ou l'apparition de signes et symptômes cliniques, et la survie globale (OS) a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de départ jusqu'au moment du décès. Pour les analyses de suivi, la PFS a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de suivi jusqu'au diagnostic de progression ou jusqu'au décès, et l'OS a été mesurée à partir du prélèvement sanguin de suivi jusqu'au décès.

Tableau 12 : Données démographiques de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Catégorie		N=430 patients
Âge de départ (en années)	Moyenne ± écart type (médiane)	63,0 ± 12,6 (64)
Années écoulées avant métastase	Moyenne ± écart type (médiane)	0,9 ± 1,4 (0,1)
	Description des catégories	Nombre de sujets (% par rapport au total)
Sexe	Femme	192 (45%)
	Homme	238 (55%)
Origine ethnique	Caucasienne	305 (71%)
	Africaine	44 (10%)
	Autre	12 (3%)
	Inconnu	69 (16%)
Score ECOG au départ	0	196 (46%)
	1	187 (43%)
	2	31 (7%)
	Inconnu	16 (4%)
Type de tumeur à Diagnostic primaire	Colon	292 (68%)
	Rectal	71 (17%)
	Colorectal	66 (15%)
	Inconnu	1 (0%)
Stade à Diagnostic primaire	1	12 (3%)
	2	45 (11%)
	3	118 (27%)
	4	232 (54%)
	Inconnu	23 (5%)
Métastase du foie	Non	117 (27%)
	Oui	313 (73%)
Ligne de traitement	1ère ligne	309 (72%)
	2ème ligne	95 (22%)
	3ème ligne	26 (6%)
Type de traitement	Bevacizumab	243 (56%)
	Irinotécan	103 (24%)
	Oxaliplatine	253 (59%)
	Inconnu	25 (6%)

2.1 Fréquences des CTC

Sur 430 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique, 9 ont eu un prélèvement sanguin au départ, mais aucun prélèvement sanguin de suivi. Sur ces 9 patients, quatre sont décédés avant d'avoir pu obtenir un prélèvement sanguin de suivi, deux ont interrompu leur traitement en raison de sa toxicité, un a subi une intervention chirurgicale pour retirer la tumeur mesurable, un patient a refusé tout traitement complémentaire et un autre a refusé tout autre prélèvement sanguin. Sur les patients restant, 362, 342, 321 et 211 ont eu des prélèvements sanguins de suivi respectivement 1-2 semaines, 3-5 semaines, 6-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement. La différence de nombre de patients chez qui l'on a étudié la PFS et l'OS à chaque repère de temps est due à la progression de certains patients avant le prélèvement sanguin, alors que la différence de nombre de patients à chaque repère de temps est due au nombre de patients ayant subi des prélèvements sanguins et pour qui des résultats de CTC évaluable ont été obtenus.

Le **Tableau 13** montre le nombre de patients à chaque point de temps exclus des analyses de PFS, d'OS ou de PFS et d'OS, ainsi que les motifs de leur exclusion.

Tableau 13 : Exclusion des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique des analyses de survie sans progression et de survie globale

Horaire du prélèvement sanguin	Motifs d'exclusion des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique des analyses :						Nombre total de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique évaluable :	
	PFS et OS				PFS uniquement	OS uniquement	PFS	OS
	Sang non prélevé	Sang prélevé 1-7 jours après l'administration du traitement	Pas de suivi après la date du prélèvement sanguin	Résultats de CTC non évaluable	Sang prélevé après la date de progression de la maladie	Pas de suivi après la date du prélèvement sanguin		
Au départ	1	11	0	5	0	0	413	413
1-2 semaines	68	0	0	5	1	0	356	357
3-5 semaines	88	0	1	8	4	0	329	333
6-12 semaines	109	0	4	7	26	0	284	310
13-20 semaines	219	0	9	8	14	1	180	193

Les résultats de CTC obtenus à partir des prélèvements sanguins de suivi 1-2 semaines, 3-5 semaines, 6-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement ont été classés comme favorables (<3 CTC) ou défavorables (≥ 3 CTC). Si plusieurs résultats de CTC ont été obtenus à certains repères de temps de suivi désignés, le plus éloigné du prélèvement sanguin de départ a été utilisé.

Tableau 15 récapitule le nombre total et le pourcentage de patients ayant un nombre de CTC défavorable au cours de l'essai clinique qui diffèrent des nombres et des pourcentages de patients en survie sans progression, indiqués dans le **Tableau 14**.

2.2 Analyse de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

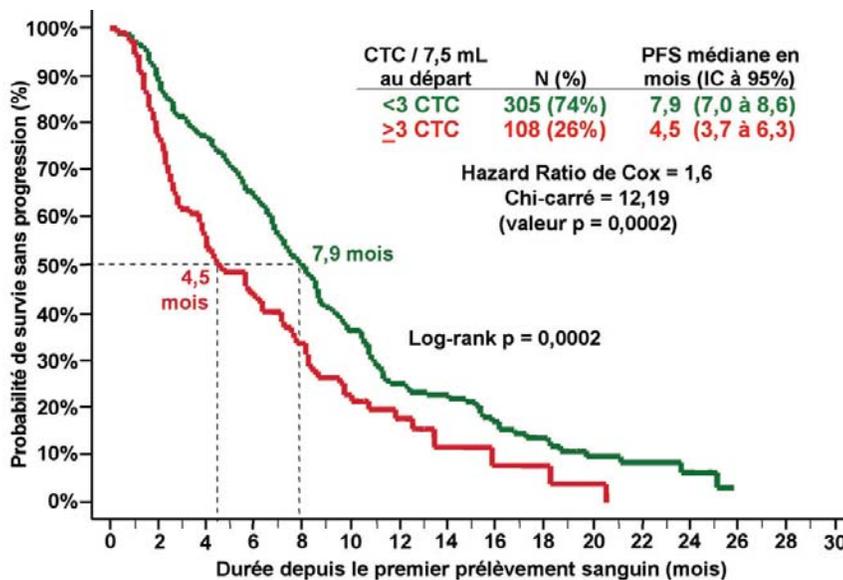
2.2.1 PFS avec résultats CTC de départ

Le nombre de CTC de départ a été disponible pour quatre cent treize (413) patients atteints d'un cancer colorectal métastatique sur 430. Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patients ont été répartis dans deux groupes selon leur nombre de CTC initial :

- Le groupe Favorable (N=305), représenté en **vert**, comprenait les patients comptant moins de 3 CTC.
- Le groupe Défavorable (N=108), représenté en **rouge**, comprenait les patients comptant ≥ 3 CTC.

La PFS médiane était significativement plus longue dans le groupe Favorable que dans le groupe Défavorable (respectivement 7,9 vs. 4,5 mois). Ces résultats sont illustrés à la **Figure 11** et au **Tableau 14**.

Figure 11 : PFS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC au départ <3 ou ≥ 3 (N=413).



2.2.2 PFS en utilisant les résultats CTC de suivi

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ont été répartis dans deux groupes selon leur nombre de CTC lors de chacun des divers prélèvements sanguins de suivi. Les deux groupes de patients sont présentés à la **Figure 12** pour la PFS à chaque prélèvement sanguin de suivi après le début du traitement. Les durées de PFS ont été calculées à partir de chaque prélèvement sanguin, et tous les patients présentant des signes de progression avant un prélèvement sanguin particulier ont été exclus de l'analyse de ce prélèvement sanguin de suivi, ainsi que de tous les autres prélèvements sanguins de suivi suivants. **Figure 12** illustre la capacité à prédire la PFS des CTC chez des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique comptant <3 CTC et ≥ 3 CTC, 1- 2 semaines, 3-5 semaines, 6-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement.

- Le groupe Favorable, représenté en **vert olive, bleu, pourpre et cyan**, comprenait les patients comptant moins de 3 CTC.
- Le groupe Défavorable, représenté en **marron, noir, gris et orange**, comprenait les patients comptant ≥ 3 CTC.

Figure 12 : PFS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC <3 ou ≥ 3 CTC lors des différents suivis

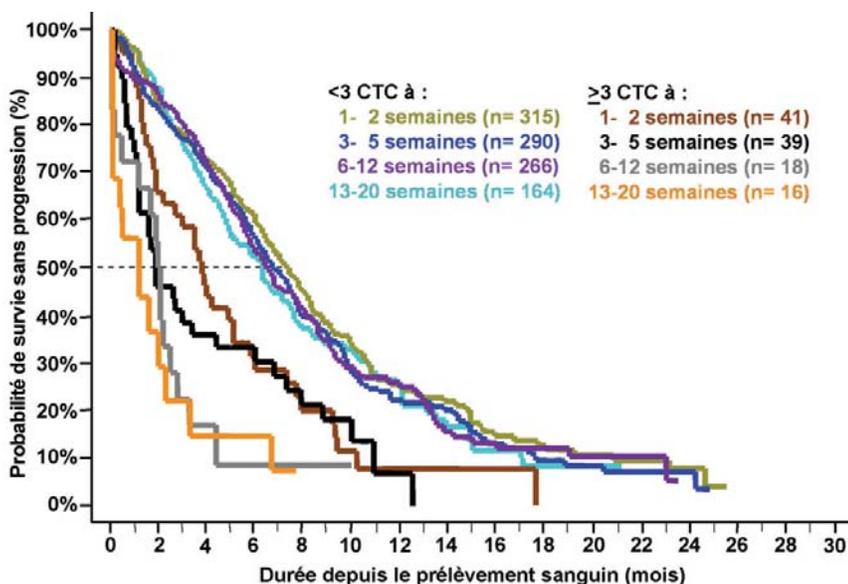


Tableau 14 résume les résultats de l'analyse de la PFS à l'aide des niveaux de CTC et d'un seuil de ≥ 3 CTC/7,5 mL lors de chaque prélèvement sanguin.

Tableau 14 : Survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC <3 ou ≥ 3 à différents points dans le temps

1	2	3	4		6
			PFS médiane en mois (IC à 95%)		
			<3 CTC	≥ 3 CTC	
Période d'échantillonnage après le début du traitement	N	≥ 3 CTC			Log-rank valeur p
Au départ	413	108 (26%)	7,9 (7,0 – 8,6)	4,5 (3,7 – 6,3)	0,0002
1-2 semaines	356	41 (12%)	7,3 (6,5 – 8,1)	3,8 (1,9 – 5,1)	<0,0001
3-5 semaines	329	39 (12%)	6,8 (6,1 – 7,6)	1,9 (1,2 – 4,4)	<0,0001
6-12 semaines	284	18 (6%)	6,5 (5,8 – 7,7)	2,0 (0,5 – 2,5)	<0,0001
13-20 semaines	180	16 (9%)	6,3 (4,9 – 7,4)	1,2 (0,1 – 2,3)	<0,0001

Comme illustré à la Figure 12 et au Tableau 14, pour les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC élevé (≥ 3 CTC/7,5 mL de sang total) à n'importe quel point dans le temps, la probabilité d'une progression rapide était beaucoup plus élevée que pour ceux qui avaient <3 CTC. La colonne 4 du Tableau 14 montre que les durées de la PFS médiane des patients ayant <3 CTC allaient de 6,3 à 7,0 mois et étaient beaucoup plus longues que les durées de la PFS médiane des patients ayant ≥ 3 CTC, qui allaient de 1,2 à 4,5 mois (colonne 5).

2.2.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de la PFS

Les durées de PFS globales ont été calculées depuis le prélèvement sanguin initial. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (Figure 13), les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ont été réparties en quatre groupes selon leur nombre de CTC au départ, 1-2 semaines, 3-5 semaines, 6-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement :

- Groupe 1 (courbe verte), 303 patients (70%) avec <3 CTC lors de tous les repères de temps. Sept (2%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, alors que huit (3%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous comptaient ≥ 3 CTC ;
- Groupe 2 (courbe bleue), 74 (17%) patients avec ≥ 3 CTC avant le début du traitement, mais dont le nombre de CTC a chuté à <3 lors de leur dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 3 (courbe orange), 29 (7%) patients comptant <3 CTC lors d'un prélèvement précoce (au départ, 1-2 semaines et/ou 3 à 5 semaines), mais dont le nombre a augmenté à ≥ 3 CTC lors du dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 4 (courbe rouge), 24 (6%) patients avec ≥ 3 CTC à chaque repère de temps. Trois (13%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, un (4%) a eu un prélèvement à 3-5 semaines seulement et un (4%) n'a eu qu'un prélèvement sanguin entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous avaient au <3 CTC.

Figure 13 : Une diminution du nombre de CTC au-dessous de 3 après le début du traitement permet de prévoir une PFS plus longue chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

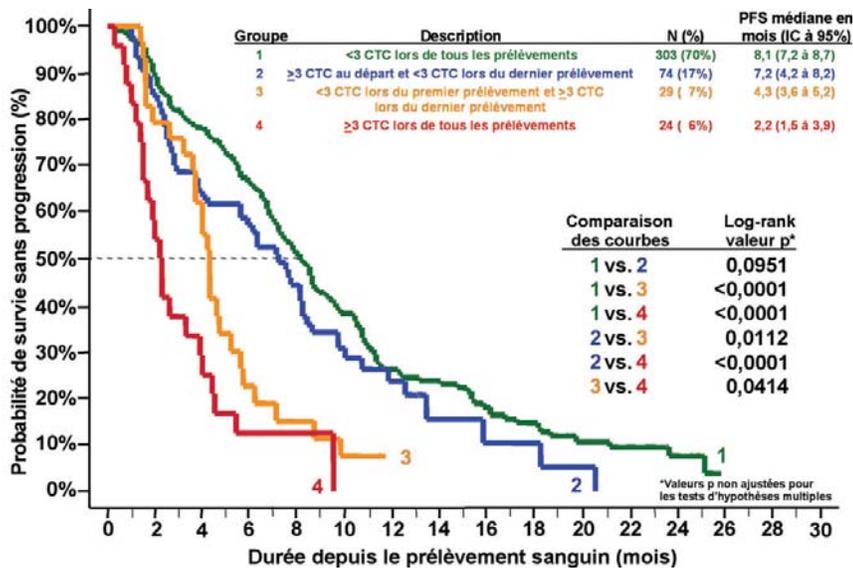


Figure 13 montre que les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et comptant ≥ 3 CTC à tous les points de temps (**groupe 4**) avaient la PFS médiane la plus courte, très éloignée de celle du **groupe 3**, du **groupe 2** et du **groupe 1**. La PFS médiane des patients qui présentaient une diminution du nombre de CTC après le début du traitement (**groupe 2**) était significativement plus longue que celle des patients qui présentaient une augmentation du nombre de CTC (**groupe 3**).

2.3 Analyse de la survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

2.3.1 Analyse de l'OS utilisant les résultats CTC initiaux

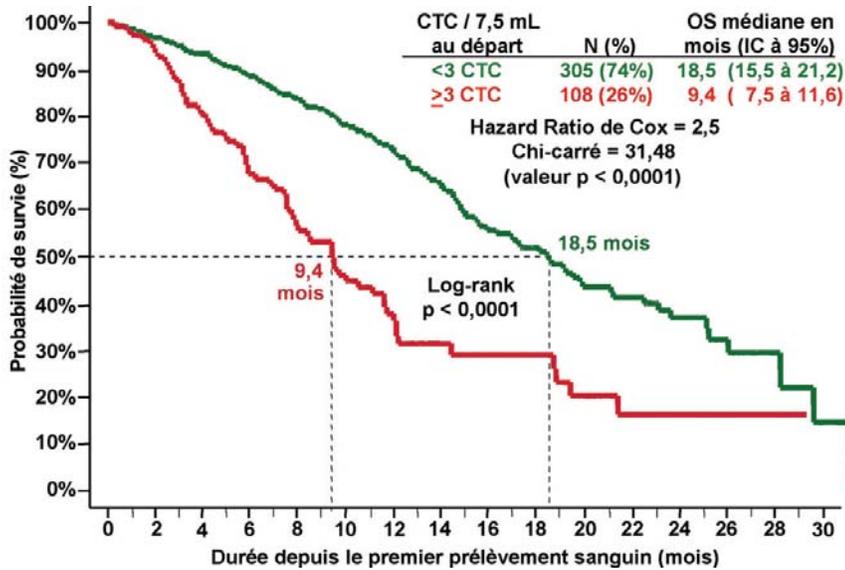
202 (47%) des 430 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique sont décédés, avec une durée moyenne du suivi pour les 228 (53%) patients toujours en vie de $12,6 \pm 6,5$ mois (médiane = 11,0 ; intervalle = 0,8 à 30,0). Lors de ces analyses, 124 (41%) des 305 patients du groupe Favorable (<3 CTC au départ) contre 68 (63%) des 108 patients du groupe Défavorable (3 CTC ou plus au départ) sont décédés.

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patients ont été répartis dans deux groupes selon leur nombre de CTC initial :

- Le groupe Favorable (N=305), représenté en **vert**, comprenait les patients comptant <3 CTC.
- Le groupe Défavorable (N=108), représenté en **rouge**, comprenait les patients comptant ≥ 3 CTC.

L'OS médiane était significativement plus longue dans le groupe Favorable par rapport au groupe Défavorable (respectivement 18,5 par rapport à 9,4 mois). Ces résultats sont illustrés par la **Figure 14**.

Figure 14 : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC au départ <3 ou ≥ 3 (N=413).



2.3.2 OS en utilisant les résultats CTC de suivi

Les analyses de Kaplan-Meier des deux groupes de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique, à chacun des différents prélèvements sanguins de suivi après le début du traitement, sont illustrés à la **Figure 15**. Cette figure illustre la capacité des CTC chez des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique comptant moins de 3 CTC et 3 CTC ou plus, 1 à 2 semaines, 3 à 5 semaines, 6 à 12 semaines et 13 à 20 semaines après le début du traitement à prédire la durée vers un décès de 421 patients souffrant d'un cancer colorectal métastatique. Les durées d'OS ont été calculées à partir du temps de chaque prélèvement sanguin.

- Le groupe Favorable, représenté en **vert olive, bleu, pourpre et cyan**, comprenait les patients comptant moins de 3 CTC.
- Le groupe Défavorable, représenté en **marron, noir, gris et orange**, comprenait les patients comptant ≥ 3 CTC.

Figure 15 : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique avec des CTC <3 ou ≥ 3 lors des différents suivis.

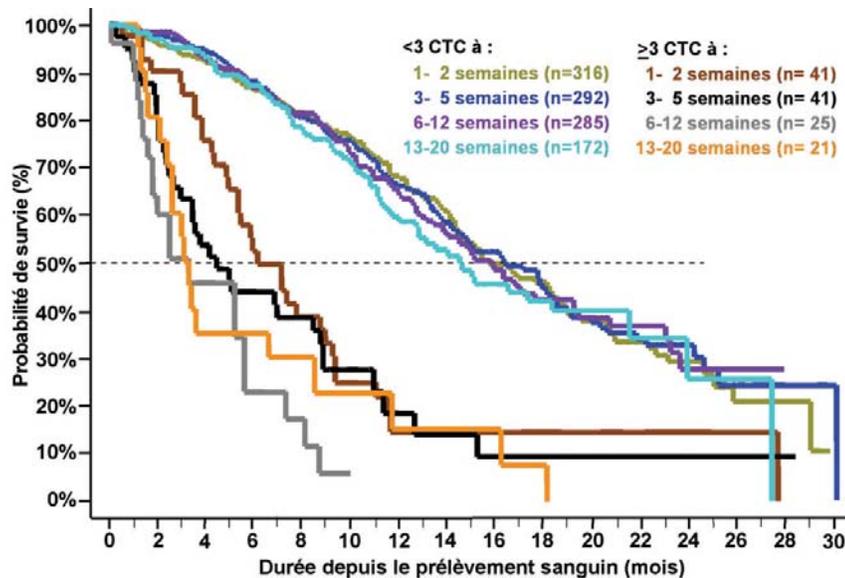


Tableau 15 résume les résultats de l'analyse de l'OS à l'aide du nombre de CTC et d'un seuil de ≥ 3 CTC/7,5 mL lors de chaque prélèvement sanguin.

Tableau 15 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC <3 ou ≥ 3 à différents points dans le temps

Période d'échantillonnage après le début du traitement	N	≥ 3 CTC	OS médiane en mois (IC à 95%)		Log-rank valeur p
			<3 CTC	≥ 3 CTC	
			Au départ	413	
1-2 semaines	357	41 (11%)	15,7 (14,3 – 18,4)	6,1 (4,9 – 8,9)	<0,0001
3-5 semaines	333	41 (12%)	16,4 (14,1 – 18,3)	4,4 (2,6 – 8,7)	<0,0001
6-12 semaines	310	25 (8%)	15,8 (13,8 – 19,2)	3,3 (1,8 – 5,6)	<0,0001
13-20 semaines	193	21 (11%)	14,6 (12,0 – 21,5)	3,3 (2,4 – 8,5)	<0,0001

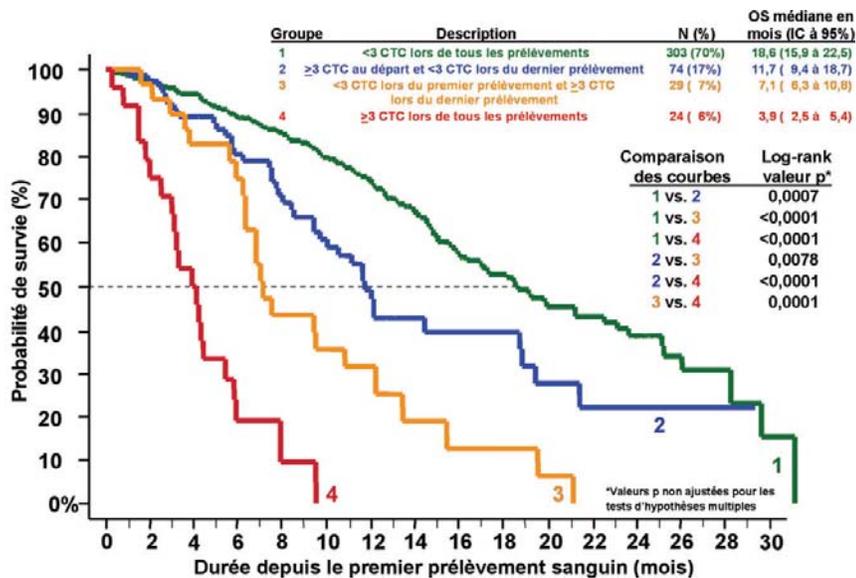
Comme illustré à la **Figure 15** et aux colonnes 4 et 5 du **Tableau 15**, pour les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC ≥ 3 à n'importe quel point dans le temps, la probabilité de décéder plus précocement était beaucoup plus élevée que pour ceux ayant moins de 3 CTC. Les durées de l'OS médiane des patients ayant <3 CTC allaient de 14,6 à 18,5 mois et étaient substantiellement plus longues que les durées de l'OS médiane des patients ayant ≥ 3 CTC, qui allaient de 3,3 à 9,4 mois.

2.3.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de l'OS

Les durées d'OS écoulées ont été calculées depuis le prélèvement sanguin initial. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (**Figure 16**), les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ont été répartis en quatre groupes selon leur nombre de CTC au départ, à 1-2 semaines, 3-5 semaines, 6-12 semaines et 13-20 semaines :

- Groupe 1 (courbe verte), 303 patients (70%) avec moins de 3 CTC lors de tous les repères de temps. Sept (2%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, alors que huit (3%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous comptaient ≥ 3 CTC ;
- Groupe 2 (courbe bleue), 74 (17%) patients avec ≥ 3 CTC avant le début du traitement, mais dont le nombre de CTC a chuté à moins de 3 lors de leur dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 3 (courbe orange), 29 (7%) patients comptant moins de 3 CTC lors d'un prélèvement précoce (au départ, 1-2 semaines et/ou 3-5 semaines), mais dont le nombre a augmenté à 3 CTC lors du dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 4 (courbe rouge), 24 (6%) patients avec ≥ 3 CTC lors de tous les prélèvements. Trois (13%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, un (4%) a eu un prélèvement à 3-5 semaines seulement et un (4%) n'a eu qu'un prélèvement sanguin entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous avaient au <3 CTC.

Figure 16 : Une réduction du nombre de CTC à un niveau inférieur à 3 après le début du traitement est prédictive d'une survie globale plus longue alors que l'augmentation du nombre de CTC à 3 ou plus est prédictive d'une survie globale plus courte chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.



La **Figure 16** montre que les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique qui dépassent le seuil de 3 CTC à tout moment après le début du traitement présentent un risque beaucoup plus élevé de décéder plus tôt. Les patients ayant ≥ 3 CTC à tous les points de temps (**groupe 4**) avaient l'OS médiane la plus courte, très éloignée de celle du **groupe 3**, du **groupe 2** et du **groupe 1**. Les patients ayant <3 CTC à tous les repères de temps (**groupe 1**) avaient l'OS médiane la plus longue, très éloignée de celle du **groupe 4**, du **groupe 3** et du **groupe 2**. La **Figure 16** montre

également que les patients qui présentaient une réduction du nombre de CTC (**groupe 2**) couraient un risque très inférieur de décès par rapport à ceux dont le nombre de CTC avait augmenté (**groupe 3**).

2.3.4 Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Les paramètres suivants ont été analysés en utilisant une analyse de régression univariée selon le modèle de Cox afin d'évaluer l'association avec la PFS et l'OS : sexe, stade de la maladie lors du diagnostic (1-4), temps écoulé avant métastase (continu), âge du patient (≥ 65 ou <65), site de la tumeur principale (colorectale, rectale ou du colon), statut ECOG avant le début d'une nouvelle ligne de traitement (0-2), ligne de traitement (1ère, 2ème ou 3ème), présence de métastases dans le foie (oui ou non), type de traitement (bevacizumab, irinotécan et/ou oxaliplatine inclus ou non), nombre de CTC au départ (≥ 3 ou <3 CTC/7,5 mL) et nombre de CTC lors des suivis 1-2 semaines, 3-5 semaines, 6-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement (≥ 3 ou <3 CTC/7,5 mL). Le **Tableau 16** présente les résultats de cette analyse, ainsi que le hazard ration (HR) de Cox, la valeur p associée (test Wald de statistique Z) et le nombre de patients dans chaque évaluation.

Tableau 16 : Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Paramètre	Catégories		Nombre de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique	Risque de PFS à partir du départ		Risque d'OS à partir du départ	
	Positif	Négatif		HR	valeur p	HR	valeur p
Sexe	Homme (1)	Femme (0)	430	1,01	0,944	1,23	0,156
Stade lors du diagnostic primaire	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		407	0,98	0,734	1,09	0,330
Temps écoulé avant métastase	Temps en années		428	1,00	0,901	0,92	0,121
Âge lors du premier prélèvement sanguin	≥ 65 ans	<65 ans	430	1,65	$<0,001$	1,82	$<0,001$
Site de la tumeur principale	Colorectal (2), Rectal (1) ou du colon (0)		429	1,03	0,733	1,02	0,866
Statut ECOG de départ	2 vs. 1 vs. 0		414	1,32	0,002	1,65	$<0,001$
Ligne de traitement	3 vs. 2 vs. 1		430	2,04	$<0,001$	1,63	$<0,001$
Métastases du foie	Oui	Non	430	0,86	0,225	1,23	0,198
Bevacizumab	Oui	Non	405	0,54	$<0,001$	0,62	0,001
Irinotécan	Oui	Non	405	1,51	0,001	1,39	0,029
Oxaliplatine	Oui	Non	405	0,53	$<0,001$	0,69	0,008
Nombre de CTC de départ	≥ 3	<3	413	1,59	$<0,001$	2,48	$<0,001$
Nombre de CTC à 1-2 semaines	≥ 3	<3	357	2,02	$<0,001$	3,23	$<0,001$
Nombre de CTC à 3-5 semaines	≥ 3	<3	334	2,19	$<0,001$	4,23	$<0,001$
Nombre de CTC à 6-12 semaines	≥ 3	<3	314	4,59	$<0,001$	10,88	$<0,001$
Nombre de CTC à 13-20 semaines	≥ 3	<3	203	5,07	$<0,001$	4,88	$<0,001$

2.3.5 Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Des analyses de régression multivariées selon le modèle de Cox ont été effectuées afin d'évaluer la puissance de prédiction indépendante du nombre de CTC par ajustement des effets des facteurs cliniques importants connus qui sont statistiquement significatifs dans les analyses univariées. Il a été observé que le nombre de CTC est un fort indice de prédiction de la PFS et de l'OS (**Tableau 17**).

Tableau 17 : Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Variable	N	Risque de PFS à partir du départ		Risque d'OS à partir du départ	
		Hazard Ratio	valeur p	Hazard Ratio	valeur p
Nombre de CTC au départ (<3 vs ≥3)	373	1,76	<0,001	2,46	<0,001
Âge au départ (<65 vs. ≥65)		1,47	0,002	1,84	<0,001
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,16	0,107	1,48	0,001
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème vs. 3ème)		1,59	<0,001	1,41	0,009
Bevacizumab (Non vs. Oui)		0,65	0,001	0,68	0,021
Irinotécan (Non vs. Oui)		0,76	0,156	1,25	0,363
Oxaliplatine (Non vs. Oui)		0,57	0,002	1,00	0,984
1-2 Week CTC (<3 vs. ≥3)	321	1,76	0,003	2,77	<0,001
Âge au départ (<65 vs. ≥65)		1,53	0,001	1,85	<0,001
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,26	0,025	1,54	0,001
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème vs. 3ème)		1,76	<0,001	1,62	0,001
Bevacizumab (Non vs. Oui)		0,66	0,003	0,77	0,156
Irinotécan (Non vs. Oui)		0,67	0,066	1,25	0,402
Oxaliplatine (Non vs. Oui)		0,53	0,002	0,97	0,904
3-5 Week CTC (<3 vs. ≥3)	302	2,35	<0,001	4,54	<0,001
Âge au départ (<65 vs. ≥65)		1,58	0,001	2,06	<0,001
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,16	0,149	1,33	0,032
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème vs. 3ème)		1,74	<0,001	1,65	0,001
Bevacizumab (Non vs. Oui)		0,68	0,007	0,86	0,410
Irinotécan (Non vs. Oui)		0,58	0,012	0,99	0,966
Oxaliplatine (Non vs. Oui)		0,47	<0,001	0,88	0,594
6-12 Week CTC (<3 vs. ≥3)	279	3,04	<0,001	9,43	<0,001
Âge au départ (<65 vs. ≥65)		1,43	0,013	1,73	0,005
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,30	0,027	1,53	0,004
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème vs. 3ème)		1,73	<0,001	1,20	0,282
Bevacizumab (Non vs. Oui)		0,61	0,001	0,82	0,337
Irinotécan (Non vs. Oui)		0,78	0,258	1,47	0,181
Oxaliplatine (Non vs. Oui)		0,62	0,020	1,35	0,278
Nombre de CTC à 13-20 semaines (<3 vs. ≥3)	186	4,50	<0,001	4,97	<0,001
Âge au départ (<65 vs. ≥65)		1,26	0,218	1,55	0,061
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,13	0,417	1,13	0,526
Ligne de traitement (1ère vs. 2ème vs. 3ème)		1,68	0,004	1,12	0,628
Bevacizumab (Non vs. Oui)		0,68	0,058	0,89	0,655
Irinotécan (Non vs. Oui)		0,73	0,311	1,20	0,636
Oxaliplatine (Non vs. Oui)		0,65	0,135	1,31	0,477

2.4 Utilisation des CTC pour surveiller l'état clinique du cancer colorectal métastatique

2.4.1 Lien entre la survie, les CTC et l'évaluation de la maladie par imagerie médicale

L'imagerie radiologique est un des outils principaux utilisés pour déterminer le statut de la maladie et la réponse thérapeutique chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique. Afin d'établir le lien entre le statut clinique déterminé par imagerie médicale et les CTC, les CTC mesurées à deux repères de temps différents et les résultats de l'imagerie médicale ont été comparés 1) au critère de la vraie survie globale clinique et 2) l'un par rapport à l'autre.

2.4.2 CTC

Des données antérieures ont montré que les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant un nombre de CTC ≥ 3 par 7,5 mL de sang lors d'une des visites de suivi ultérieures ayant lieu après le début du traitement présentaient une probabilité plus élevée de maladie évolutive et de diminution de la survie globale par rapport aux patients ayant <3 CTC par 7,5 mL de sang. Les résultats de CTC obtenus 3-5 semaines après le début du traitement, ainsi que ceux obtenus à \pm un mois de l'étude de l'imagerie médicale ont été classés comme Favorable (<3 CTC) et Défavorable (≥ 3 CTC). Si plus d'une valeur de CTC a été obtenue à un \pm mois de l'étude par imagerie médicale, le résultat CTC obtenu le plus proche de la date de l'étude de l'imagerie médicale a été utilisé.

2.4.3 Imagerie médicale

Chaque patient atteint d'un cancer colorectal métastatique devait avoir une tumeur mesurable, c'est-à-dire une lésion d'au moins 2 cm et un maximum de 10 de ces lésions. La méthode d'imagerie utilisée pour chaque patient a été déterminée par l'oncologue traitant pour rester en accord avec la norme actuelle en matière de soins. Un CT ou un IRM du thorax, de l'abdomen et du bassin a été réalisé. Il fallait que toutes les lésions observées au départ soient suivies selon la même méthode pour toutes les études d'imagerie suivantes. L'interprétation des images a été réalisée par un radiologue certifié du site participant à l'aide de critères RECIST unidimensionnels pour classer chaque évaluation de suivi de la tumeur comme réponse complète (CR), réponse partielle (PR), maladie stable (SD) ou maladie évolutive (ME).

Chaque patient a bénéficié de deux à 8 scanners. Ces études incluaient une image de départ, une image aux intervalles suivants de 2-3 mois (6-12 semaines) et une étude d'imagerie finale lorsque le patient quittait l'étude. Des copies des études d'imagerie de tous les patients ont été transférées au coordinateur de l'étude, sur chaque site clinique, pour qu'il les classe avec les données cliniques du patient.

Sur un total de 430 patients souffrant d'un cancer colorectal métastatique évaluable et ayant participé à l'étude, l'étude d'imagerie de suivi n'a pas été réalisée pour 28 d'entre eux (7%), 18 (4%) sont décédés avant de pouvoir réaliser une étude d'imagerie de suivi et 384 (89%) ont bénéficié d'une ou plusieurs études d'imagerie de suivi et ont été évalués selon les critères RECIST. Lors du 1er suivi des 384 patients ayant bénéficié d'une étude d'imagerie de suivi, 4 (1%) ont présenté une réponse complète, 117 (31%) ont eu une réponse partielle, la maladie était stable dans 186 (48%) cas et évolutive chez 77 (20%) patients. Dans le cadre de ces analyses, les patients qui sont décédés avant l'étude d'imagerie de suivi ont été classés dans maladie évolutive.

En réponse au traitement lors de la première évaluation de suivi de la maladie, le groupe Favorable était défini comme ceux qui présentaient une maladie stable (S), une réponse partielle (PR) ou une réponse complète (CR) selon les critères RECIST (maladie non évolutive, MNE) et le groupe Défavorable, comme ceux qui présentaient une maladie évolutive ou qui sont décédés (PD).

2.4.4 Lien entre la survie et l'imagerie médicale et les CTC

Des analyses de Kaplan-Meier distinctes ont été réalisées afin de comparer la survie globale des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique dans les groupes Favorable (<3 CTC) et Défavorable (≥ 3 CTC) à l'aide des résultats des CTC à deux repères de temps différents et à l'aide de la première étude d'imagerie médicale de suivi. À l'aide des résultats des premières études de l'imagerie médicale de suivi réalisées 9,1 \pm 2,9 semaines (médiane = 8,6 semaines) après le début du traitement (c.-à-d. le prélèvement sanguin de départ), la survie médiane de 307 (76%) patients déterminés par imagerie médicale comme ayant une maladie non évolutive était de 19,1 mois (IC à 95% : 17,0 à 23,1) (**Figure 17, Tableau 18**). Pour les 95 (24%) patients déterminés comme ayant une maladie évolutive par imagerie médicale, la survie médiane était de 5,8 mois (IC à 95% = 4,4 à 7,7).

Au total, 320 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ont participé aux études d'imagerie réalisées avant et après le début du traitement ou sont décédés avant qu'une étude d'imagerie de suivi ne soit réalisée ; leur nombre de CTC a été évalué 3-5 semaines après le début du traitement (moyenne = 3,8 \pm 0,7 semaines depuis le prélèvement sanguin de départ, médiane = 4,0 semaines). La survie médiane de 282 (88%) patients ayant un nombre de CTC Favorable (<3 CTC) était de 17,3 mois (IC à 95% = 15,0 à 19,5 mois) (**Figure 18, Tableau 18**). Les 38 patients (12%) ayant des résultats de CTC Défavorables (≥ 3 CTC) avaient une survie médiane de 5,4 mois (IC à 95% = 3,6 à 9,4 mois).

Afin de déterminer si les évaluations des CTC réalisées à une date plus proche de l'imagerie médicale se traduisaient par des perspectives de survie similaires par rapport aux évaluations des CTC effectuées environ 4 semaines après le début du traitement, seuls les patients ayant eu des évaluations des CTC réalisées plus ou moins un mois avant ou après la première étude de l'imagerie médicale de suivi ont été analysés (**Figure 19, Tableau 18**). Les CTC de trois cent soixante quatre (364) des 402 patients (91%) ont été évalués moins d'un mois avant ou après la première étude d'imagerie de suivi, qui a été réalisée 9,0 \pm 2,9 semaines (médiane = 8,5 semaines) après le début du traitement. La survie médiane des 335 (92%) patients avec des résultats de CTC Favorables était de 17,2 mois (IC à 95% : 15,0 à 19,2 mois). Pour les 29 (8%) patients avec des résultats de CTC Défavorables, la survie médiane était de 5,4 mois (IC à 95% : 3,2 à 7,5 mois). Ces données ont montré que les évaluations des CTC aux deux repères de temps procraient des résultats similaires à l'imagerie médicale effectuée environ neuf semaines après le début du traitement.

Dans cette étude, l'application de l'analyse de régression multivariable de Cox pour ajuster l'imagerie a indiqué que le nombre de CTC et l'imagerie à 6-12 semaines étaient indépendamment associés à la survie globale, mais les CTC [(hazard ratio ajusté : 7,9 (4,6-13,6)] représentent un facteur de prédiction plus fort que l'imagerie [hazard ratio ajusté : 3,1 (2,1-4,6)].

Tableau 18 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant connu une évaluation des CTC environ un mois après le début du traitement et moins d'un mois avant ou après l'évaluation radiologique

	N	Survie médiane en mois (IC à 95%)
Imagerie	402	
Favorable (MNE)	307 (76%)	19,1 (17,0 – 23,1)
Défavorable (ME)	95 (24%)	5,8 (4,4 – 7,7)
CTC à 3-5 semaines	320	
Favorable (<3 CTC)	282 (88%)	17,3 (15,0 – 19,5)
Défavorable (≥ 3 CTC)	38 (12%)	5,4 (3,6 – 9,4)
Nombre de CTC (± 1 mois avant ou après l'imagerie médicale)	364	
Favorable (<3 CTC)	335 (92%)	17,2 (15,0 – 19,2)
Défavorable (≥3 CTC)	29 (8%)	5,4 (3,2 – 7,5)

Figure 17 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et ayant une MNE ou une ME lors de la 1ère étude d'imagerie de suivi (N=402)

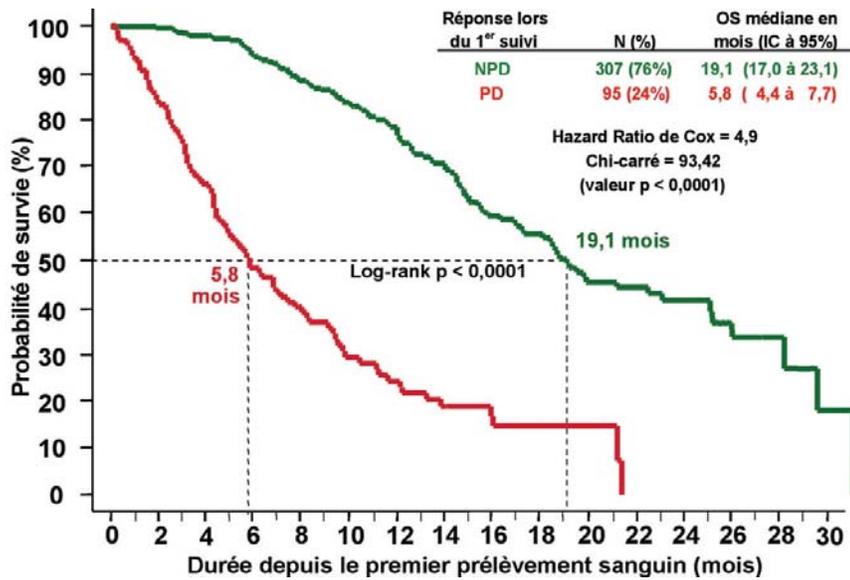


Figure 18 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et ayant moins de 3 ou au moins 3 CTC lors du 1er suivi après le début du traitement (N=320)

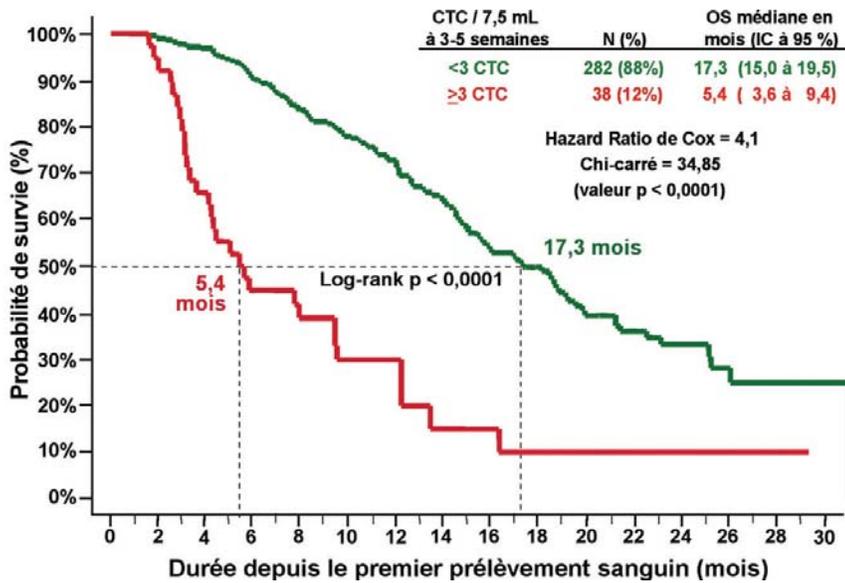
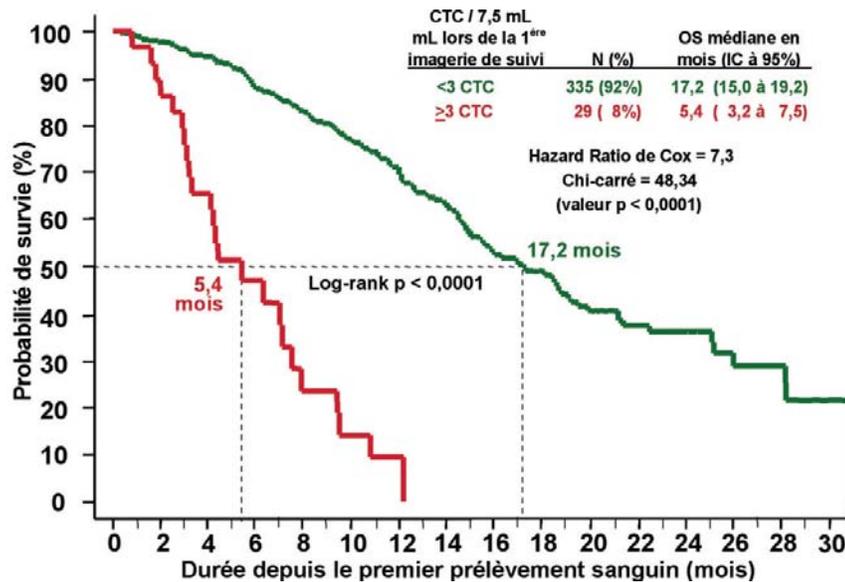


Figure 19 : Corrélation entre l'évaluation radiologique et l'évaluation des CTC et la survie globale (OS) : OS des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique et ayant <3 ou ≥3 CTC ±1 mois avant ou après la 1ère étude d'imagerie de suivi ou le décès (N=364)



2.4.5 Concordances entre les CTC et la surveillance radiologique chez les patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Comme cela est indiqué ci-dessus, les études de l'imagerie médicale sont un composant majeur des normes actuelles en matière de soins en ce qui concerne la détermination de l'évolution de la maladie et de la réponse thérapeutique dans les cas de cancer colorectal métastatique. Pour soutenir encore davantage l'efficacité des CTC dans la réalisation de ces évaluations cliniques, des tableaux deux par deux des observations concordantes et discordantes entre les CTC et l'imagerie radiologique ont été établis.

En réponse au traitement, le groupe Favorable était défini comme ceux qui présentaient une maladie stable (S), une réponse partielle (PR) ou une réponse complète (CR) selon les critères RECIST (maladie non évolutive, MNE) et le groupe Défavorable, comme ceux qui présentaient une maladie évolutive (ME). Sur les 18 patients décédés avant l'étude d'imagerie de suivi, 10 ont eu un prélèvement sanguin de suivi dans les 30 jours précédant le décès et ont été classés comme ayant une maladie évolutive (ME) à des fins de comparaison.

Les résultats de CTC obtenus moins d'un mois avant ou après l'étude de l'imagerie médicale ont été classifiés comme Favorables (<3 CTC) ou Défavorables (≥ 3 CTC). Si plus d'une valeur de CTC a été obtenue moins d'un mois avant ou après l'étude de l'imagerie médicale, le résultat CTC obtenu le plus proche de la date de l'étude de l'imagerie médicale a été utilisé. Cette analyse a utilisé tous les prélèvements sanguins évaluables des patients pour faire correspondre le nombre de CTC avec les études d'imagerie, et non pas seulement ceux qui ont été sélectionnés pour les repères de temps désignés, comme expliqué dans le point 2.1 précédent.

Au total, 366 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ont obtenu des résultats de CTC dans le mois de l'étude d'imagerie ou du décès. Le résultat de cette comparaison « patients » entre les CTC et l'imagerie médicale (ou le décès) est présenté au **Tableau 19**.

Tableau 19 : Comparaison entre « patients atteints d'un cancer colorectal métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale

Réponse à la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi	Nombre de CTC moins d'1 mois avant ou après l'imagerie médicale ou le décès		Total
	<3 CTC / 7,5 mL	≥ 3 CTC / 7,5 mL	
Maladie non évolutive	272	13	285
Maladie évolutive	65	16	81
Total	337	29	366

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	20%	12%	30%
% de concordance négative	95%	92%	98%
Valeur prédictive positive	55%	36%	74%
Valeur prédictive négative	81%	76%	85%
Concordance globale	79%	74%	83%
Rapport des cotes	5,2	2,4	11,2

Sur les 384 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique ayant participé à une ou plusieurs études d'imagerie de suivi, 911 études d'imagerie ont produit une réponse radiologique utilisable. 805 études d'imagerie sur 911 (88%) ont eu des résultats de CTC dans le mois suivant l'étude d'imagerie. Sur les 18 patients décédés avant l'étude d'imagerie de suivi, 10 ont eu un prélèvement sanguin de suivi dans les 30 jours précédant le décès et ont été classés comme ayant une maladie évolutive (ME) à des fins de comparaison. Le résultat de cette comparaison « observation » entre les CTC et l'imagerie médicale (ou le décès) sur les 815 observations est présenté au **Tableau 20**.

Tableau 20 : Comparaison des « observations de patients atteints d'un cancer colorectal métastatique » entre les CTC et l'imagerie médicale

Réponse lors de toutes les études de l'imagerie médicale de suivi	Nombre de CTC moins d'1 mois avant ou après l'imagerie médicale ou le décès		Total
	<3 CTC / 7,5 mL	≥ 3 CTC / 7,5 mL	
Maladie non évolutive	597	33	630
Maladie évolutive	147	38	185
Total	744	71	815

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	21%	15%	27%
% de concordance négative	95%	93%	96%
Valeur prédictive positive	54%	41%	65%
Valeur prédictive négative	80%	77%	83%
Concordance globale	78%	75%	81%
Rapport des cotes	4,7	2,8	7,7

Lors d'observations en série, seule une minorité des transitions pour les résultats de l'imagerie médicale entre une maladie non évolutive et une maladie évolutive coïncidait avec une transition correspondante des nombres de CTC compris entre <3 et ≥ 3 CTC par 7,5 mL.

La valeur pronostique des résultats de CTC à un repère de temps plus précoce étant équivalente à celle des résultats de CTC au moment de l'imagerie médicale (**Figure 18** et **Figure 19**), une comparaison « patients » a été effectuée en utilisant les résultats provenant uniquement de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi, réalisée environ 9 semaines après le début du traitement et en utilisant les résultats de CTC obtenus environ 4 semaines après le début du traitement. Au total, 320 patients sur 402 (80%) ont eu des résultats de CTC 3-5 semaines après le début du traitement. Le résultat de cette comparaison « patients » entre les CTC à un moment plus précoce et l'imagerie médicale (ou le décès) est présenté au **Tableau 21**.

Tableau 21 : Comparaison entre « patients atteints d'un cancer colorectal métastatique » des CTC et de l'imagerie médicale

Réponse à la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi	Nombre de CTC à 3-5 semaines Après le début du traitement		Total
	<3 CTC / 7,5 mL	≥ 3 CTC / 7,5 mL	
Maladie non évolutive	228	18	246
Maladie évolutive	54	20	74
Total	282	38	320

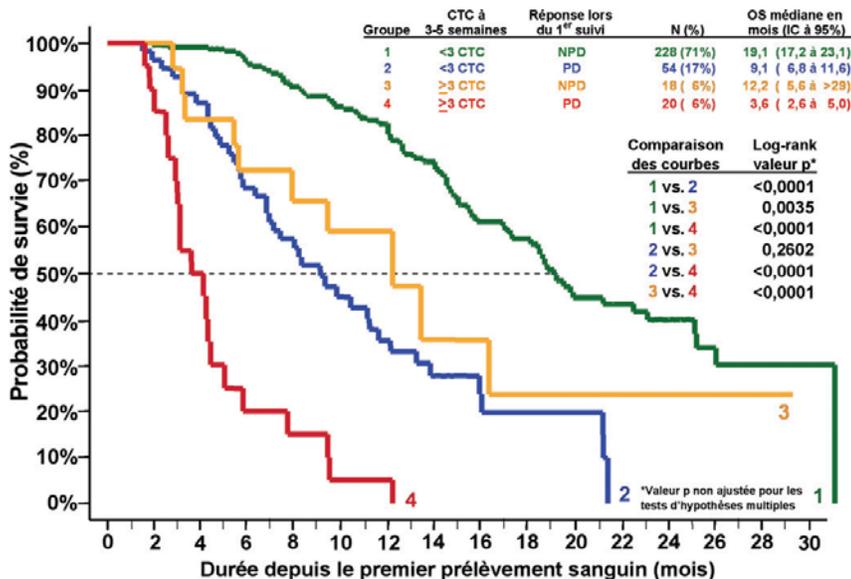
Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	27%	17%	39%
% de concordance négative	93%	89%	96%
Valeur prédictive positive	53%	36%	69%
Valeur prédictive négative	81%	76%	85%
Concordance globale	78%	73%	82%
Rapport des cotes	4,7	2,3	9,5

2.4.6 Les CTC comme complément de l'imagerie médicale

Alors que la concordance globale entre les CTC et l'imagerie médicale était bonne (environ 78%), il existait un désaccord chez environ 22% des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique. Comme les informations provenant des évaluations des CTC sont destinées à être utilisées en association avec d'autres méthodes diagnostiques afin de prendre des décisions en matière de traitement, l'évaluation des CTC 3-5 semaines après le début du traitement et l'imagerie médicale ont été comparées, dans les groupes suivants, à la survie globale (OS) afin de déterminer lequel des résultats discordants reflétait au mieux le pronostic du patient (Figure 20) :

- Groupe 1 (courbe verte), 228 (71%) patients avec <3 CTC à 3-5 semaines et une MNE ;
- Groupe 2 (courbe bleue), 54 (17%) patients avec <3 CTC à 3-5 semaines et une ME ;
- Groupe 3 (courbe orange), 18 (6%) patients avec ≥ 3 CTC à 3-5 semaines et une MNE ;
- Groupe 4 (courbe rouge), 20 (6%) patients avec ≥ 3 CTC à 3-5 semaines et une ME.

Figure 20 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique des groupes 1, 2, 3 et 4 à l'aide de l'évaluation des CTC 3 à 5 semaines après le début du traitement (n=320) et du statut de la maladie déterminé lors de la 1ère étude de l'imagerie médicale de suivi



Dans cette étude, la détermination des CTC est un facteur de prédiction indépendant fort pour la survie globale. Les résultats de cette étude indiquent également que la combinaison des évaluations des CTC et des évaluations radiologiques fournit l'évaluation du pronostic la plus exacte.

3 Patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique (MPC)

Un essai clinique multicentrique prospectif a été mené afin de déterminer si le nombre de CTC permettait de prédire l'évolution de la maladie et la survie. *Les patients souffrant d'un cancer de la prostate métastatique de cette étude ont été définis comme ayant eu deux augmentations consécutives du marqueur PSA (antigène spécifique à la prostate) dépassant le niveau de référence, malgré une gestion hormonale standard. On a généralement décrit ces patients comme souffrant d'un cancer de la prostate indépendant de l'androgène, résistant aux hormones ou résistant à la castration. Au total, 231 patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec signe d'évolution du PSA malgré le traitement hormonal standard et le début d'une nouvelle ligne ou d'un nouveau type de chimiothérapie ont participé à l'étude. Les données cliniques ont été analysées sur la base de l'intention de traitement. Les données démographiques des patients sont présentées dans le **Tableau 22**.

Tableau 22 : Données démographiques de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Catégorie	Moyenne ± écart type (médiane)	Nombre de sujets
Âge de départ (en années)	70 ± 9 (70)	231
Prétraitement :		
PSA (ng/mL)	547 ± 1616 (144)	231
Hémoglobine (g/dL)	12.3 ± 1.6 (12.4)	221
Phosphatase alcaline (AlkPhos) (IU/mL)	235 ± 271 (144)	223
Lactate déshydrogénase(LDH) (IU/mL)	293 ± 228 (224)	219
Albumin (g/dL)	3.9 ± 2.6 (3.8)	214
	Description des catégories	Nombre de sujets (% par rapport au total)
Origine ethnique	Caucasienne Africaine Autre	209 (90%) 17 (7%) 5 (3%)
Score ECOG au départ	0 1 2 Inconnu	101 (44%) 100 (43%) 21 (9%) 9 (4%)
Score de Gleason	≤ 5 6 7 8 ≥ 9 Inconnu	18 (8%) 28 (12%) 63 (27%) 45 (20%) 54 (23%) 23 (10%)
Stade lors du diagnostic primaire	1 2 3 4 Inconnu	14 (6%) 30 (13%) 58 (25%) 19 (8%) 110 (48%)
Ligne de traitement	1er 2ème ≥ 3ème	154 (67%) 38 (16%) 39 (17%)
Taxotère dans la ligne de traitement actuelle ?	Non Oui Inconnu	67 (29%) 162 (70%) 2 (1%)
Métastase osseuse	Négatif Positif Inconnu	20 (8%) 207 (90%) 4 (2%)
Tumeur mesurable	Non Oui Inconnu	142 (62%) 88 (38%) 1 (0%)
Métastase viscérale	Non Oui Inconnu	141 (61%) 89 (39%) 1 (0%)

Le nombre de CTC initial a été déterminé avant le début d'une nouvelle ligne de chimiothérapie. Les délais suivants ont été choisis pour l'évaluation : départ (avant le début du traitement), 2-5 semaines (14-41 jours depuis le départ), 6-8 semaines (42-62 jours depuis le départ), 9-12 semaines (63-90 jours depuis le départ) et 13-20 semaines (91-146 jours depuis le départ) après le début du traitement. Si plusieurs prélèvements sanguins tombaient dans les délais désignés, le plus éloigné du prélèvement sanguin de départ était utilisé comme résultat pour chaque délai.

3.1 Fréquences des CTC

Les 231 patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique évaluables ont subi un prélèvement sanguin au départ. Deux cent vingt et un (221) d'entre eux ont eu un ou plusieurs prélèvements sanguins de suivi après le début du traitement. Parmi les dix patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique n'ayant qu'un prélèvement sanguin au départ, trois sont décédés avant de pouvoir obtenir un prélèvement sanguin de suivi, un a évolué et a été envoyé en soins palliatifs, un a arrêté sa chimiothérapie en raison d'une fracture de la hanche, un patient est parti, trois ont refusé les autres prélèvements sanguins et un a annulé son consentement de participation à l'étude. Au total, 214, 171, 158 et 149 patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ont eu des prélèvements sanguins respectivement 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement.

Dans le cas du cancer de la prostate métastatique, l'évolution de la maladie est principalement déterminée à l'aide des changements de PSA. Pour cette étude, les sites cliniques ont déterminé l'évolution de la maladie en utilisant le PSA, l'imagerie et/ou les signes et symptômes cliniques. Pour les analyses de départ, la survie sans progression (PFS) a été déterminée à partir du prélèvement sanguin de départ jusqu'à la détermination de la progression ou le décès et la survie globale (OS) a été déterminée à partir du prélèvement sanguin de départ jusqu'à la date du décès ou la date du dernier contact avec le patient. Pour les analyses de suivi, la PFS a été déterminée à partir du prélèvement sanguin de suivi jusqu'au diagnostic de progression ou jusqu'au décès, et l'OS a été déterminée à partir du prélèvement sanguin de suivi jusqu'à la date du décès ou la date du dernier contact avec le patient. Les patients évalués ayant subi une progression avant que la date du prélèvement sanguin ont été exclus des analyses de PFS de ce repère de temps et de tous les prélèvements sanguins de suivi suivants. Les patients évalués sans suivi de survie supplémentaire au-delà de la date du prélèvement sanguin ont été exclus des analyses de PFS et d'OS de ce repère de temps. Le **Tableau 23** montre le nombre de patients à chaque repère de temps exclus des analyses de PFS ou de PFS et d'OS, ainsi que les motifs de leur exclusion.

Tableau 23 : Exclusions des analyses de PFS et d'OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Horaire du prélèvement sanguin	Patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique non évaluables :					Nombre total de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique Evaluables	
	PFS et OS				PFS uniquement	PFS	OS
	Sang non prélevé	Sang prélevé 1-7 jours après l'administration du traitement	Pas de suivi après la date du prélèvement sanguin	Résultats de CTC non évaluables	Sang prélevé après la date de progression de la maladie		
Au départ	0	6	0	6	0	219	219
2-5 semaines	17	0	0	11	4	199	203
6-8 semaines	60	0	0	8	22	141	163
9-12 semaines	73	1	0	8	15	134	149
13-20 semaines	82	0	1	5	27	116	143

Les résultats de CTC obtenus à partir des prélèvements sanguins de départ et de suivi 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement ont été classés comme favorables (<5 CTC) ou défavorables (≥ 5 CTC). Les taux de PSA, de phosphatase alcaline et de LDH résumés dans le tableau de données démographiques et utilisés dans les analyses ont été mesurés dans un laboratoire central, dans les échantillons de sérum prélevés en même temps que les échantillons sanguins ont été utilisés pour évaluer le nombre de CTC. Les taux d'hémoglobine et d'albumine résumés dans les tableaux et utilisés dans les analyses sont des valeurs fournies par les sites et vérifiées à partir des dossiers médicaux des patients ; elles ont été déterminées à ± 30 jours de l'évaluation du nombre de CTC de départ.

3.2 Analyse de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

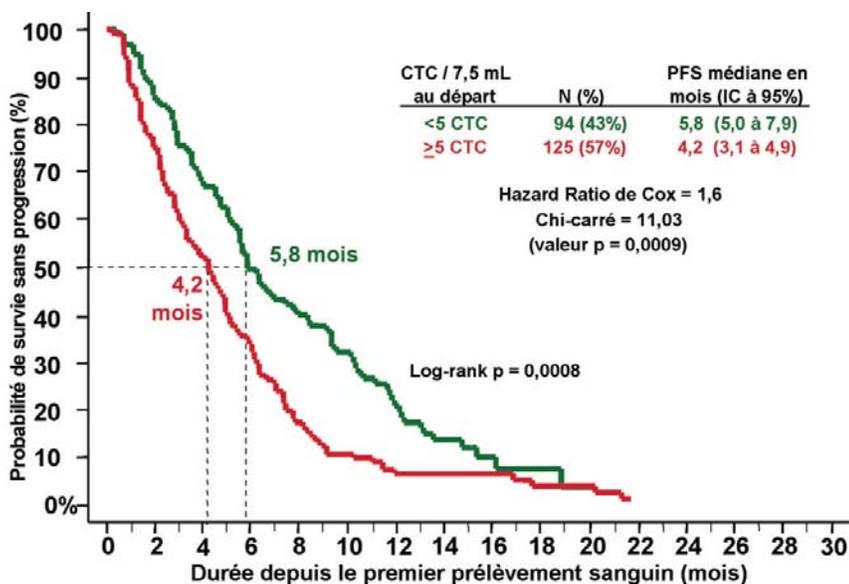
3.2.1 PFS avec résultats CTC de départ

Le nombre de CTC de départ a été disponible pour deux cent dix neuf (219) patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique sur 231. Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patients ont été réparties dans deux groupes selon leur nombre de CTC initial :

- Le groupe Favorable (N=94), représenté en **vert**, comprenait les patients comptant <5 CTC.
- Le groupe Défavorable (N=125), représenté en **rouge**, comprenait les patients comptant ≥ 5 CTC.

La PFS médiane était plus longue dans le groupe Favorable par rapport au groupe Défavorable (respectivement 5,8 par rapport à 4,2 mois). Ces résultats sont illustrés dans le **Figure 21** et le **Tableau 24**.

Figure 21 : PFS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC au départ <5 ou ≥5 (N=219).



3.2.2 PFS en utilisant les résultats CTC de suivi

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ont été répartis dans deux groupes selon leur nombre de CTC lors de chacun des divers prélèvements sanguins de suivi. Les deux groupes de patients sont présentés à la Figure 22 pour la PFS à chaque prélèvement sanguin de suivi après le début du traitement. Cette figure illustre la capacité des CTC chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant moins de 5 et 5 CTC ou plus à prévoir le temps avant l'évolution clinique ou le décès 2-5 semaines (n=199), 6-8 semaines (n=141), 9-12 semaines (n=134) et 13-20 semaines (n=116) après le début du traitement.

- Le groupe Favorable représenté en vert olive, bleu, pourpre et cyan se composait de patients ayant moins de 5 CTC respectivement 2-5, 6-8, 9-12 et 13-20 semaines après le début du traitement.
- Le groupe Défavorable représenté en marron, noir, gris et orange se composait de patients ayant 5 CTC ou plus respectivement 2-5, 6-8, 9-12 et 13-20 semaines après le début du traitement.

Figure 22 : PFS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC <5 ou ≥ 5 CTC lors des différents suivis

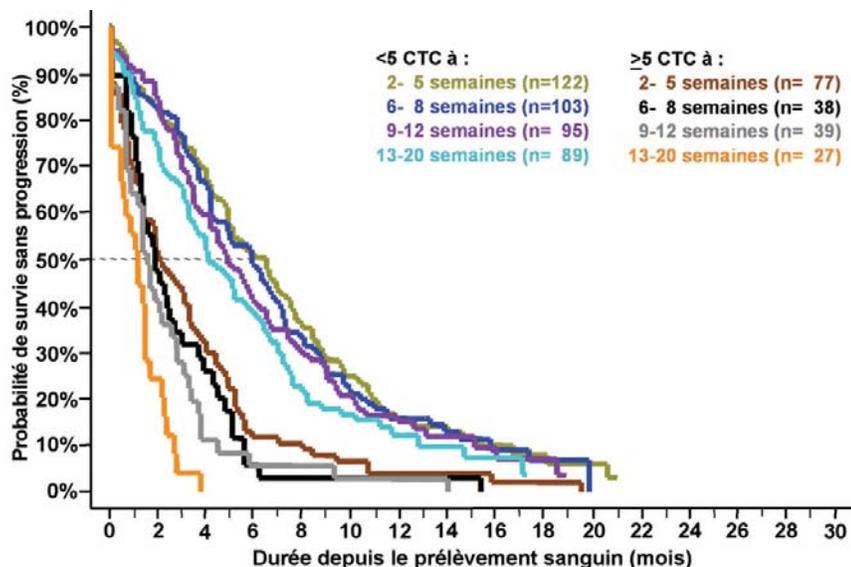


Tableau 24 résume les résultats de l'analyse de la PFS à l'aide des niveaux de CTC et d'un seuil de ≥ 5 CTC/7,5 mL lors de chaque prélèvement sanguin.

Tableau 24 : Survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps

1 Période d'échantillonnage après le début du traitement	2 N	3 ≥ 5 CTC	4 PFS médiane en mois (IC à 95%)		6 Log-rank valeur p
			<5 CTC		
			≥ 5 CTC		
Au départ	219	125 (57%)	5,8 (5,0 – 7,9)	4,2 (3,1 – 4,9)	0,0008
2-5 semaines	199	77 (39%)	6,5 (4,9 – 7,4)	2,1 (1,4 – 3,3)	<0,0001
6-8 semaines	141	38 (27%)	5,9 (4,2 – 7,0)	1,9 (1,3 – 2,7)	<0,0001
9-12 semaines	134	39 (24%)	4,9 (3,8 – 6,2)	1,6 (0,9 – 2,6)	<0,0001
13-20 semaines	116	27 (23%)	4,1 (3,3 – 5,8)	1,2 (0,5 – 1,5)	<0,0001

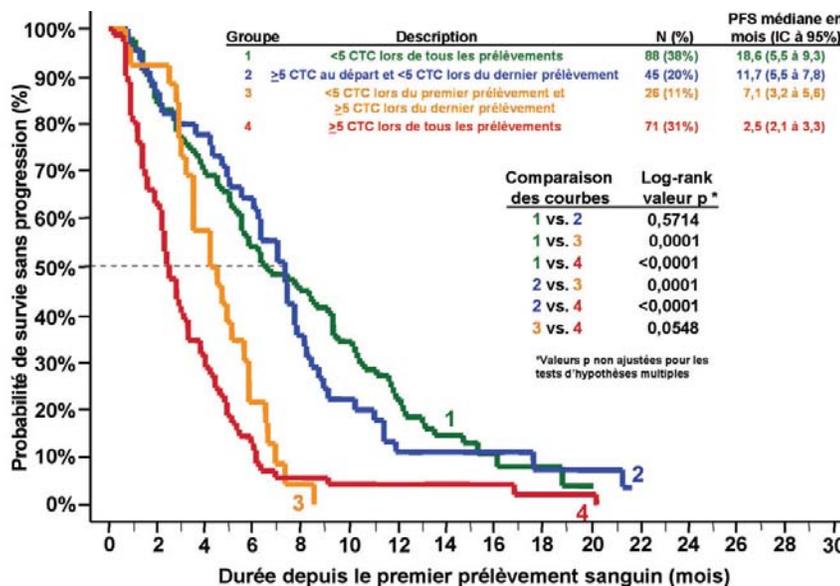
Comme illustré à la **Figure 22** et au **Tableau 24**, pour les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant un nombre de CTC élevé (≥ 5 CTC/7,5 mL de sang total) à n'importe quel point dans le temps, la probabilité d'une évolution rapide était beaucoup plus élevée que pour ceux qui avaient <5 CTC. La colonne 4 au **Tableau 24** montre que les durées de la PFS médiane des patients ayant <5 CTC allaient de 4,1 à 7,0 mois et étaient beaucoup plus longues que les durées de la PFS médiane des patients ayant ≥ 5 CTC, qui allaient de 1,2 à 4,2 mois (colonne 5).

3.2.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de la PFS

Les durées de PFS globales ont été calculées depuis le prélèvement sanguin initial. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (**Figure 23**), les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ont été répartis en quatre groupes selon leur nombre de CTC au départ, 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement :

- Groupe 1 (courbe verte), 88 (38%) patientes avec <5 CTC lors de tous les repères de temps. Cinq (6%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, alors que sept (8%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous comptaient ≥ 5 CTC ;
- Groupe 2 (courbe bleue), 45 (20%) patients avec ≥ 5 CTC avant le début du traitement, mais dont le nombre de CTC a chuté en-dessous de <5 lors de leur dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 3 (courbe orange), 26 (11%) patients comptant <5 CTC lors d'un prélèvement précoce (au départ, à 2-5 semaines et/ou 6-8 semaines), mais dont le nombre a augmenté à ≥ 5 CTC lors du dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 4 (courbe rouge), 71 (31%) patients avec ≥ 5 CTC lors de tous les prélèvements. Huit (11%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ et deux (3%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous comptaient <5 CTC.

Figure 23 : Une diminution du nombre de CTC au-dessous de 5 après le début du traitement permet de prévoir une PFS plus longue chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique



La **Figure 23** montre que les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique et comptant ≥ 5 CTC à tous les points de temps (**groupe 4**) avaient la PFS médiane la plus courte, très éloignée de celle du **groupe 3**, du **groupe 2** et du **groupe 1**. La PFS médiane des patients qui présentaient une diminution du nombre de CTC après le début du traitement (**groupe 2**) était significativement plus longue que celle des patients qui présentaient une augmentation du nombre de CTC (**groupe 3**).

3.3 Analyse de la survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

3.3.1 Analyse de l'OS utilisant les résultats CTC initiaux

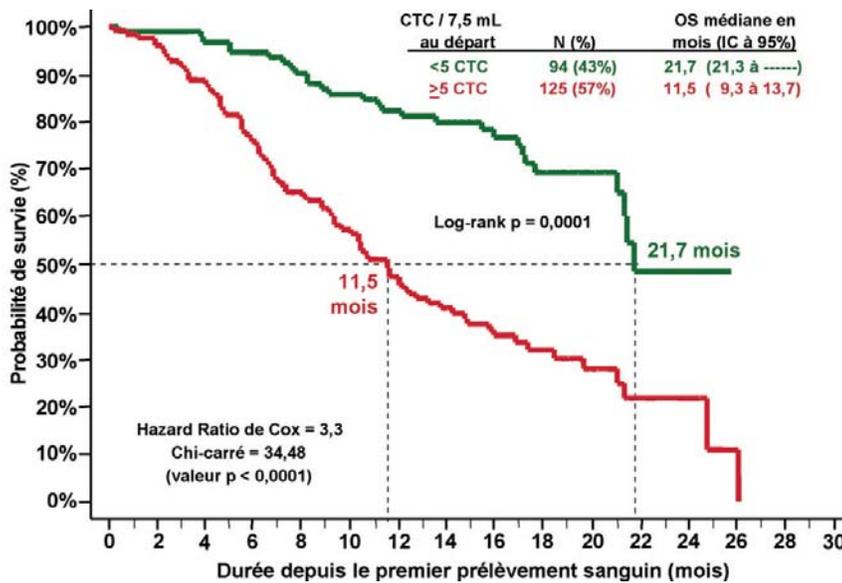
119 (52%) des 231 patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique sont décédés, avec une durée moyenne du suivi pour les 112 (48%) patients toujours en vie de $16,1 \pm 4,9$ mois (médiane = 16,5 mois ; intervalle = 1,9 à 25,7 mois). Lors de ces analyses, 28 (30%) des 94 patients du groupe Favorable (<5 CTC au départ) contre 83 (66%) des 125 patients du groupe Défavorable (≥ 5 CTC au départ) sont décédés.

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, 219 patients évaluables sur 231 ayant eu des résultats de départ ont été regroupés en deux groupes en fonction de leur nombre de CTC au départ :

- Le groupe Favorable (N=94), représenté en **vert**, comprenait les patients comptant <5 CTC.
- Le groupe Défavorable (N=125), représenté en **rouge**, comprenait les patients comptant ≥ 5 CTC.

L'OS médiane était significativement plus longue dans le groupe Favorable par rapport au groupe Défavorable (respectivement 21,7 par rapport à 11,5 mois) Ces résultats sont illustrés dans le **Figure 24**.

Figure 24 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC au départ <5 ou ≥ 5 (N=219).



3.3.2 OS en utilisant les résultats CTC de suivi

Les analyses de Kaplan-Meier des deux groupes de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique, à chacun des différents temps de prélèvement sanguin de suivi après le début du traitement, sont illustrés à la **Figure 25**. Cette figure illustre la capacité des CTC chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant moins de 5 et ≥ 5 CTC 2-5 semaines (n=203), 6-8 semaines (n=163), 9-12 semaines (n=149) et 13-20 semaines (n=143) après le début du traitement à prévoir la durée avant le décès. Les durées d'OS ont été calculées à partir du temps de chaque prélèvement sanguin.

- Le groupe Favorable, représenté en **vert olive, bleu, pourpre et cyan**, comprenait les patients comptant <5 CTC.
- Le groupe Défavorable, représenté en **marron, noir, gris et orange**, comprenait les patients comptant ≥ 5 CTC.

Figure 25 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique avec des CTC <5 ou ≥ 5 lors des différents suivis

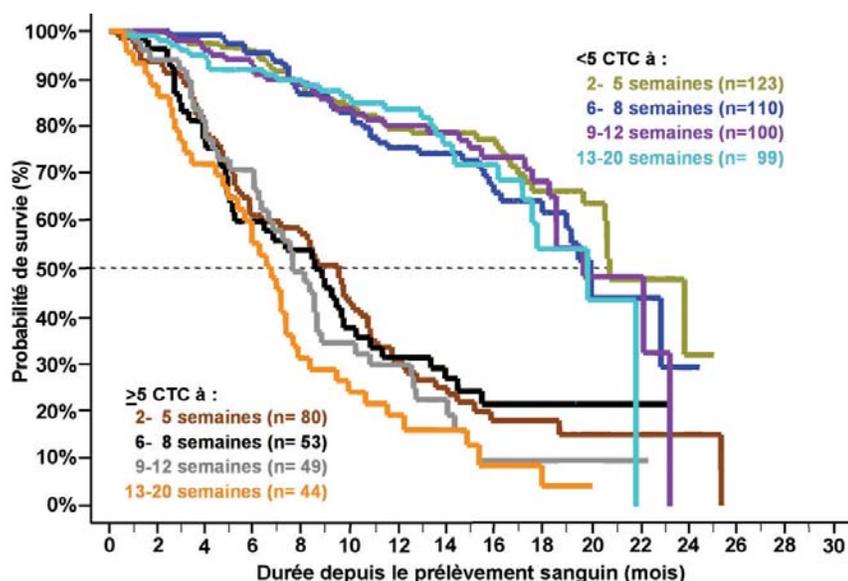


Tableau 25 résume les résultats de l'analyse de l'OS à l'aide du nombre de CTC et d'un seuil de ≥ 5 CTC/7,5 mL lors de chaque prélèvement sanguin.

Tableau 25 : Survie globale (OS) des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant un nombre de CTC <5 ou ≥ 5 à différents points dans le temps

Période d'échantillonnage après le début du traitement	N	≥ 5 CTC	OS médiane en mois (IC à 95%)		Log-rank valeur p
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
			Au départ	219	
2-5 semaines	203	80 (39%)	20,7 (20,5 – NR)	9,5 (5,8 – 10,7)	<0,0001
6-8 semaines	163	53 (33%)	19,9 (17,9 – NR)	8,5 (5,0 – 10,2)	<0,0001
9-12 semaines	149	49 (33%)	19,6 (18,5 – NR)	7,6 (6,2 – 8,6)	<0,0001
13-20 semaines	143	44 (31%)	19,8 (17,1 – NR)	6,7 (4,9 – 7,6)	<0,0001

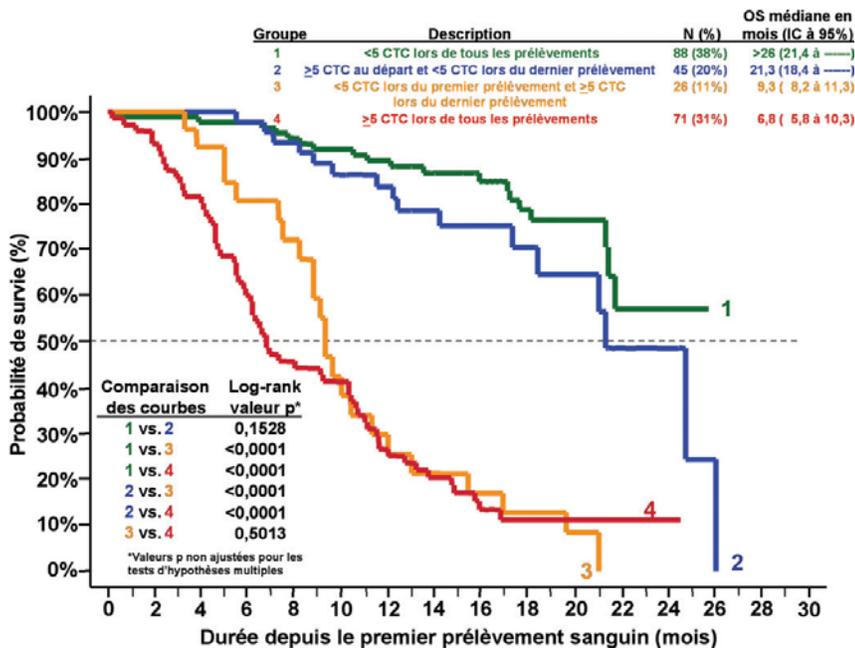
Comme illustré à la **Figure 25** et aux colonnes 4 et 5 du **Tableau 25**, pour les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique ayant un nombre de CTC ≥ 5 à n'importe quel point dans le temps, la probabilité de décéder plus précocement était beaucoup plus élevée que pour ceux ayant <5 CTC. Les durées de l'OS médiane des patients ayant <5 CTC allaient de 19,6 à 21,7 mois et étaient substantiellement plus longues que les durées de l'OS médiane des patients ayant 5 CTC ou plus, qui allaient de 6,7 à 11,5 mois.

3.3.3 La réduction ou l'augmentation du nombre de CTC permet de prévoir l'allongement ou la réduction de l'OS

Les durées d'OS écoulées ont été calculées depuis le prélèvement sanguin initial. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (**Figure 26**), les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ont été réparties en quatre groupes selon leur nombre de CTC au départ, 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement :

- Groupe 1 (courbe **verte**), 88 (38%) patients avec moins de 5 CTC lors de tous les repères de temps. Cinq (6%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ, alors que sept (8%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous comptaient 5 CTC ou plus ;
- Groupe 2 (courbe **bleue**), 45 (20%) patients avec ≥ 5 CTC avant le début du traitement, mais dont le nombre de CTC a chuté en-dessous de 5 lors de leur dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 3 (courbe **orange**), 26 (11%) patients comptant <5 CTC lors d'un prélèvement précoce, mais dont le nombre a augmenté à ≥ 5 CTC lors du dernier prélèvement sanguin ;
- Groupe 4 (courbe **rouge**), 71 (31%) patients avec ≥ 5 CTC lors de tous les prélèvements. Huit (11%) de ces patients n'ont eu qu'un prélèvement sanguin au départ et deux (3%) ont eu un prélèvement sanguin unique entre le premier et le dernier prélèvement sanguin ; tous comptaient <5 CTC.

Figure 26 : Une réduction du nombre de CTC à un niveau inférieur à 5 après le début du traitement est prédictive d'une survie globale plus longue alors que l'augmentation du nombre de CTC à 5 ou plus est prédictive d'une survie globale plus courte chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique.



La **Figure 26** montre que les patients ayant ≥ 5 CTC à tout moment après le début du traitement présentaient un risque beaucoup plus élevé de décéder plus tôt. Les patients ayant ≥ 5 CTC à tous les points de temps (**groupe 4**) avaient l'OS médiane la plus courte, très éloignée de l'OS médiane du **groupe 2**, du **groupe 1**, mais pas du **groupe 3**. Les patients ayant <5 CTC à tous les repères de temps (**groupe 1**) avaient l'OS médiane la plus longue, très éloignée de l'OS médiane du **groupe 4** et du **Groupe 3**, mais pas du **groupe 2**. La **Figure 26** montre également que les patients qui présentaient une réduction du nombre de CTC (**groupe 2**) amélioraient leurs chances de survie et avaient une OS médiane similaire aux patients ayant un nombre de CTC favorable à tous les prélèvements (**groupe 1**). La figure montre également que les niveaux de CTC défavorables après le début du traitement diminuent considérablement la survie globale (**groupe 3** et **groupe 4**).

3.3.4 Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

L'analyse de régression des risques proportionnels de Cox univariée a servi à évaluer l'association des paramètres de prétraitement suivants avec la PFS et l'OS : stade de la tumeur au diagnostic (1-4), âge du patient (≥ 70 ou <70 ans), statut ECOG avant le début d'une nouvelle ligne de traitement (0-2), score de Gleason (2-10), taux d'hémoglobine à ± 30 jours du prélèvement de départ (g/dL, continu), taux d'albumine à ± 30 jours du prélèvement de départ (g/dL, continu), taux de testostérone lors du prélèvement de départ (ng/mL, continu), taux de LDH lors du prélèvement de départ (IU/mL, continu), taux de phosphatase alcaline lors du prélèvement de départ (IU/mL, continu), taux de PSA lors du prélèvement de départ (ng/mL, continu), temps de doublement du PSA lors du prétraitement (mois, continu), vitesse du PSA durant le prétraitement (ng/mL/mois, continu), ligne de traitement (1ère, 2ème, 3ème, 4ème, 5ème ou 6ème), type de traitement (taxotère incluse ou non), présence de tumeur mesurable (oui ou non), présence de métastase osseuse (oui ou non), présence de métastase viscérale (oui ou non), nombre de CTC au départ (≥ 5 CTC/7,5 mL ou <5 CTC/7,5 mL) et nombre de CTC lors du suivi à 2-5, 6-8, 9-12 et 13-20 semaines.

Pour ces analyses, les temps écoulés pour la PFS et l'OS ont été calculés à partir du prélèvement sanguin de départ. Les résultats de la régression de Cox (c'est-à-dire le rapport de risque et l'intervalle de confiance à 95% associé, la valeur chi-carré et les valeurs p associées) pour la capacité des paramètres à prévoir indépendamment la PFS et l'OS, ainsi que le nombre de patients dans chaque évaluation sont fournis dans le **Tableau 26**.

Tableau 26 : Analyse de la régression de Cox univariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Paramètre	Catégories		Nombre de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique	Risque de PFS à partir du départ		Risque d'OS à partir du départ	
	Positif	Négatif		HR	valeur p ²	HR	valeur p ²
Stade lors du diagnostic primaire	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		121	0,88	0,206	0,83	0,174
Âge lors du premier prélèvement sanguin	≥ 70	<70	231	0,96	0,764	1,28	0,178
Statut ECOG à l'entrée de l'étude	2 vs. 1 vs. 0		222	1,34	0,011	2,36	<0,001
Score de Gleason	10 à 2		208	1,01	0,919	1,02	0,717
Temps de doublement du PSA lors du prétraitement (mois)	Continu		230	0,97	0,542	0,97	0,664
Vitesse du PSA durant le prétraitement (ng/mL/mois)	Continu		230	1,00	0,200	1,00	0,544
Hémoglobine de départ (g/dL)	Continu		221	0,87	0,002	0,71	<0,001
Albumine de départ (g/dL)	Continu		214	0,99	0,748	1,02	0,557
Testostérone de départ (ng/mL) ¹	Continu		223	1,07	0,900	2,71	0,060
LDH de départ (IU/mL) ¹	Continu		219	1,001	<0,001	1,002	<0,001
Phosphatase alcaline de départ (IU/mL) ¹	Continu		223	1,00	0,158	1,0008	0,001
Ligne de traitement	Continu (1 - 6)		231	1,23	0,003	1,28	0,003
Type de traitement (taxotère : oui/non)	Oui	Non	229	0,57	<0,001	0,59	0,006
Tumeur mesurable ?	Oui	Non	230	1,00	0,993	1,28	0,181
Métastase osseuse ?	Oui	Non	227	1,02	0,933	2,22	0,057
Métastase viscérale ?	Oui	Non	230	0,10	0,918	1,26	0,216
PSA de départ (ng/mL) ¹	Continu		231	1,00	0,746	1,00	0,907
PSA à 2 – 5 semaines (ng/mL) ¹	Continu		207	1,00	0,819	1,00	0,794
PSA à 6 – 8 semaines (ng/mL) ¹	Continu		167	1,00	0,426	1,00	0,654
PSA à 9 – 12 semaines (ng/mL) ¹	Continu		155	1,00	0,684	1,00	0,324
PSA à 13 – 20 semaines (ng/mL) ¹	Continu		143	1,00	0,639	1,00	0,205
Réduction du PSA à 2 – 5 semaines par rapport au départ (%) ¹	<30%	≥ 30%	207	1,56	0,006	1,24	0,318
Réduction du PSA à 6 – 8 semaines par rapport au départ (%) ¹	<30%	≥ 30%	167	2,21	<0,001	2,27	0,001
Réduction du PSA à 9 – 12 semaines par rapport au départ (%) ¹	<30%	≥ 30%	155	2,76	<0,001	2,30	<0,001
Réduction du PSA à 13 - 20 semaines par rapport au départ (%) ¹	<30%	≥ 30%	143	2,69	<0,001	3,19	<0,001
Nombre de CTC de départ	≥ 5	<5	219	1,62	<0,001	3,33	<0,001
Nombre de CTC à 2 – 5 semaines	≥ 5	<5	203	2,34	<0,001	4,46	<0,001
Nombre de CTC à 6 – 8 semaines	≥ 5	<5	163	3,29	<0,001	3,66	<0,001
Nombre de CTC à 9 – 12 semaines	≥ 5	<5	149	3,23	<0,001	5,82	<0,001
Nombre de CTC à 13 – 20 semaines	≥ 5	<5	144	4,82	<0,001	7,18	<0,001

¹ Déterminé à partir du prélèvement de sérum à la même date que le prélèvement sanguin pour les CTC

² valeur p du test Wald de statistique Z

3.3.5 Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Des analyses de régression multivariées selon le modèle de Cox ont été effectuées afin d'évaluer la puissance de prédiction indépendante du nombre de CTC par ajustement des effets des facteurs cliniques importants connus qui sont statistiquement significatifs dans les analyses univariées. Le nombre de CTC s'est avéré le facteur de prédiction le plus fort à la plupart des repères de temps de PFS et d'OS (Tableau 27).

Tableau 27 : Analyse de la régression de Cox multivariée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Paramètre	Nombre de patients	Risque de PFS à partir du départ		Risque d'OS à partir du départ	
		HR	valeur p ²	HR	valeur p ²
Nombre de CTC au départ (<5 vs ≥5)	188	1,14	0,455	1,92	0,009
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,00	0,982	1,46	0,032
Hémoglobine de départ (g/dL) ³		0,88	0,027	0,81	0,007
LDH de départ (IU/mL) ^{1,3}		1,0007	0,018	1,002	<0,001
Phosphatase alcaline de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,410
Ligne de traitement (1ère à la 6ème)		1,14	0,145	1,07	0,547
Type de traitement (taxotère : oui/non)		0,63	0,009	0,70	0,139
Nombre de CTC à 2 – 5 semaines (<5 vs ≥5)	173	1,48	0,041	2,91	<0,001
Réduction du PSA à 2–5 semaines par rapport au départ (≥30% vs. 30%) ¹		1,40	0,077	1,13	0,637
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		0,97	0,836	1,46	0,054
Hémoglobine de départ (g/dL) ³		0,93	0,246	0,89	0,141
LDH de départ (IU/mL) ^{1,3}		1,002	0,002	1,003	<0,001
Phosphatase alcaline de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,622
Ligne de traitement (1ère à la 6ème)		1,11	0,274	1,11	0,399
Type de traitement (taxotère : oui/non)		0,75	0,133	0,80	0,397
6 - 8 Week CTC (<5 vs. ≥5)	139	2,14	<0,001	2,13	0,009
Réduction du PSA à 6–8 semaines par rapport au départ (≥30% vs. 30%) ¹		1,88	0,002	2,38	0,007
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,04	0,810	1,52	0,088
Hémoglobine de départ (g/dL) ³		0,97	0,695	0,79	0,013
LDH de départ (IU/mL) ^{1,3}		1,002	0,003	1,004	<0,001
Phosphatase alcaline de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,780
Ligne de traitement (1ère à la 6ème)		1,37	0,001	1,35	0,035
Type de traitement (taxotère : oui/non)		0,80	0,278	1,45	0,276
9 - 12 Week CTC (<5 vs. ≥5)	125	1,74	0,015	3,94	<0,001
Réduction du PSA à 9–12 semaines par rapport au départ (≥30% vs. 30%) ¹		2,23	<0,001	1,46	0,221
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		1,21	0,307	1,89	0,004
Hémoglobine de départ (g/dL) ³		0,93	0,322	0,97	0,758
LDH de départ (IU/mL) ^{1,3}		1,00	0,190	1,003	<0,001
Phosphatase alcaline de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,989
Ligne de traitement (1ère à la 6ème)		1,25	0,052	1,11	0,499
Type de traitement (taxotère : oui/non)		0,97	0,903	1,26	0,486
13 - 20 Week CTC (<5 vs. ≥5)	123	2,95	<0,001	3,75	0,001
Réduction du PSA à 13–20 semaines par rapport au départ (≥30% vs. 30%) ¹		1,97	0,002	1,52	0,275
Statut ECOG de départ (0 vs 1 vs 2)		0,98	0,919	1,98	0,002
Hémoglobine de départ (g/dL) ³		1,03	0,723	0,87	0,232
LDH de départ (IU/mL) ^{1,3}		1,00	0,380	1,003	<0,001
Phosphatase alcaline de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,078
Ligne de traitement (1ère à la 6ème)		1,25	0,050	1,06	0,751
Type de traitement (taxotère : oui/non)		1,04	0,882	0,90	0,770

¹ Déterminé à partir du prélèvement de sérum à la même date que le prélèvement sanguin pour les CTC

² valeur p du test Wald de statistique Z

³ Évalué en tant que paramètre continu

3.4 Utilisation des CTC pour surveiller l'état clinique des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

3.4.1 Lien entre la survie, les CTC et l'évaluation de la maladie par PSA

Aujourd'hui, une réduction du taux de PSA est l'un des principaux moyens de déterminer la réponse au traitement chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique. Pour établir la relation entre l'état clinique

(déterminé par un PSA) et les CTC, une réduction $\geq 30\%$ ou $\geq 50\%$ du taux de PSA et du nombre de CTC a été mesurée 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement et comparée à la survie globale.

Pour l'analyse de Kaplan-Meier, les temps d'OS écoulés ont été calculés à partir du prélèvement sanguin. Les patients ont été regroupés en groupes Favorable s'ils avaient < 5 CTC lors de l'évaluation et une réduction $\geq 30\%$ du taux de PSA depuis le départ jusqu'à l'évaluation. Les patients ont été regroupés en groupes Défavorable s'ils comptaient ≥ 5 CTC et une réduction du taux de PSA $< 30\%$ depuis le départ jusqu'à l'évaluation.

La **Figure 27** illustre les résultats de l'analyse 2-5 semaines après le début du traitement, la **Figure 28** l'analyse 6-8 semaines après le début du traitement, la **Figure 29** l'analyse 9-12 semaines après le début du traitement et la **Figure 30** l'analyse 13-20 semaines après le début du traitement.

Figure 27 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 2-5 semaines après le début du traitement

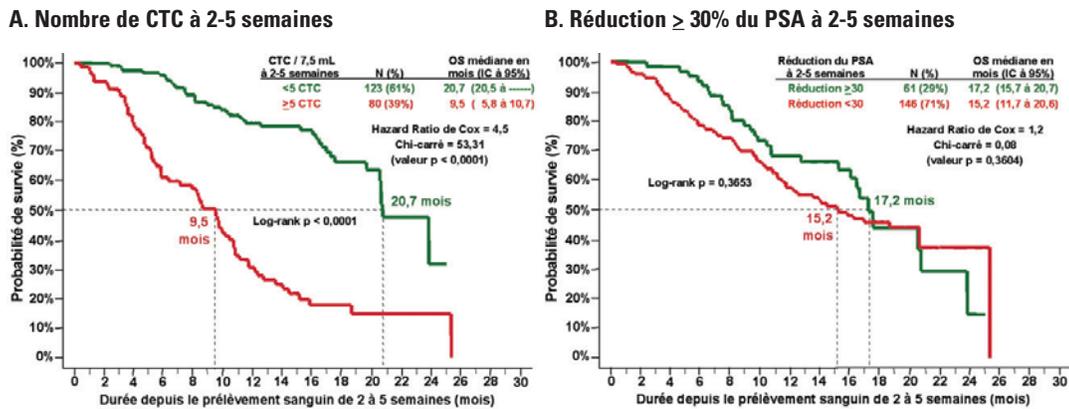


Figure 28 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 6 à 8 semaines après le début du traitement

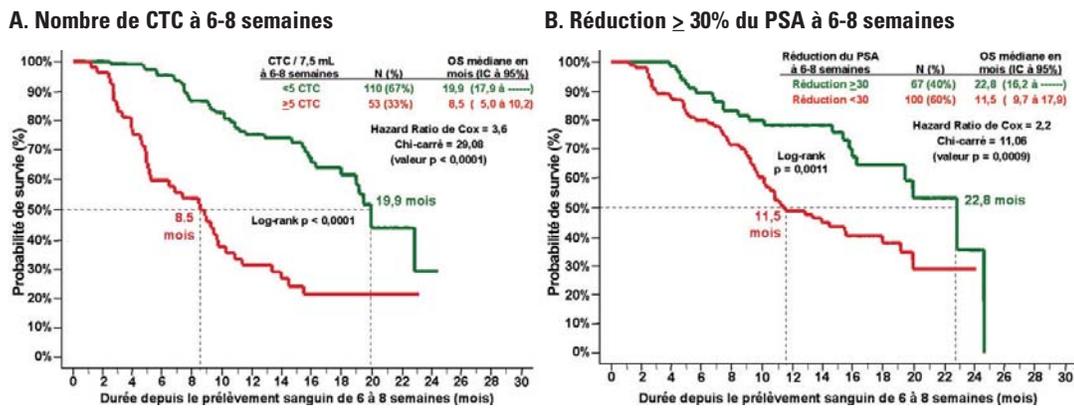


Figure 29 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 9 à 12 semaines après le début du traitement

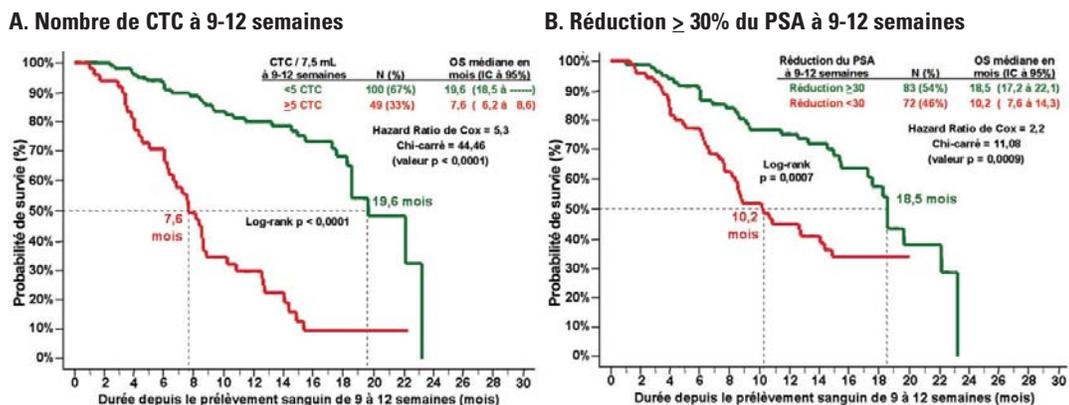
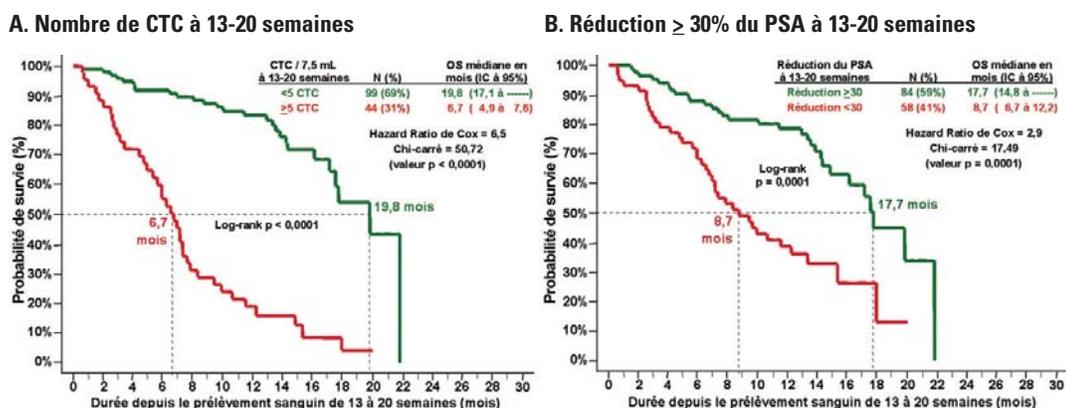


Figure 30 : OS des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique 13-20 semaines après le début du traitement



Le **Tableau 28** illustre la comparaison de la survie globale médiane à différents repères de temps après le traitement avec le nombre de CTC, une réduction du PSA de 30% et une réduction du PSA de 50%.

Tableau 28 : Comparaison de l'OS médiane entre les groupes de réduction des CTC et du PSA Favorable et Défavorable.

Repère de temps	CTC / 7,5 mL						Réduction du PSA de 30% depuis le départ				Réduction du PSA de 50% depuis le départ							
	N	OS médiane		log-rank valeur p	HR	N	OS médiane		log-rank valeur p	HR	N	OS médiane		log-rank valeur p	HR			
		≥5 (%)	<5				>5	<30 (%)				≥30%	<30%			<50 (%)	≥50%	<50%
2-5 semaines	203	39%	20,7	9,5	<0,0001	4,5	207	71%	17,2	15,2	0,3653	1,2	207	83%	17,5	16,2	0,5599	1,2
6-8 semaines	163	33%	19,9	8,5	<0,0001	3,6	167	60%	22,8	11,5	0,0011	2,2	167	75%	22,8	14,4	0,0117	2,1
9-12 semaines	149	33%	19,6	7,6	<0,0001	5,3	155	46%	18,5	10,2	0,0007	2,2	155	59%	19,6	10,8	0,0006	2,3
13-20 semaines	143	31%	19,8	6,7	<0,0001	6,5	142	41%	17,7	8,7	<0,0001	2,9	142	46%	17,7	9,9	0,0001	2,6

Les données de la **Figure 27** à la **Figure 30** et du **Tableau 28**, illustrent la différence très significative de survie globale entre les patients ayant un nombre de CTC Défavorable et ceux ayant un nombre de CTC Favorable à tous les repères de temps testés, alors que les évaluations du PSA n'ont pas été significatives avant 6-8 semaines après le début du traitement. Bien que les différences d'OS médiane entre les groupes de réduction du PSA Favorable (réduction du PSA ≥ 30% ou ≥ 50% depuis le départ) et Défavorable (réduction du PSA <30% ou <50% depuis le départ) aient été significatives, la séparation entre les groupes de CTC Favorable (<5 CTC) et Défavorable (≥ 5 CTC) est apparue plus importante et était significative à tous les repères de temps après le début du traitement.

3.4.2 Concordance entre les CTC et les changements de PSA chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Aujourd'hui, on utilise généralement une réduction de PSA ≥ 30% ou ≥ 50% pour évaluer l'évolution de la maladie des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique. Par conséquent, pour établir la relation entre les CTC et les changements de PSA, des tableaux deux par deux d'observations concordantes et discordantes entre les CTC et les changements de PSA pour chaque repère de temps après le début du traitement ont été créés. Bien que les comparaisons entre les CTC et les changements de PSA aient été calculées aux deux magnitudes, seules les données des CTC par rapport à un changement de PSA ≥ 30% ont fait l'objet d'un rapport. Cette décision s'est basée sur une publication récente (*J Nat Ca Inst.* 98 (8) : pages 516-521, 2006) démontrant qu'une diminution du PSA de 30% en 3 mois était plus fortement associée à la diminution du risque de décès qu'une diminution du PSA de 50%. En outre, une comparaison des résultats « patients » et « observation » de la réduction du PSA de 30% et 50% par rapport aux analyses de CTC n'a pas démontré de différences substantielles concernant la concordance de positifs (%), la concordance de négatifs (%) et la concordance globale, quels que soient les repères de temps observés.

Au total, le laboratoire central a analysé les échantillons de sérum de 197, 159, 146 et 138 patients et a évalué les résultats de CTC respectivement 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement. Pour déterminer la réaction d'un patient au traitement, le changement de pourcentage de PSA depuis la valeur de départ a été calculé pour chacun des repères de temps après le début du traitement. Pour les changements de PSA à chaque repère de temps, le groupe Favorable était défini comme les patients présentant une réduction ≥ 30% du PSA et le groupe Défavorable comme les patients affichant une réduction <30% du PSA. Pour les CTC à chaque repère de temps, le groupe Favorable était défini comme les patients comptant <5 CTC pour 7,5 mL de sang et le groupe Défavorable comme ceux comptant ≥ 5 CTC.

Les résultats de CTC vs. PSA des comparaisons « patients » entre les CTC et une réduction du PSA ≥ 30% 2-5 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement ont montré respectivement la discordance et la concordance les plus significatives, ces données sont donc présentées respectivement dans le **Tableau 29** et le **Tableau 30**.

Tableau 29 : Comparaison « patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique » des CTC et d'une réduction du PSA de 30% à 2-5 semaines

% Réduction de PSA depuis le départ jusqu'à 2 à 5 semaines après le début du traitement	CTC 2 à 5 semaines après le début du traitement		Total
	<5 CTC / 7,5 mL	≥ 5 CTC / 7,5 mL	
Réduction du PSA ≥ 30%	50	11	61
Réduction du PSA <30%	69	67	136
Total	119	78	197

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	49%	41%	58%
% de concordance négative	82%	70%	91%
Valeur prédictive positive	86%	76%	93%
Valeur prédictive négative	42%	33%	51%
Concordance globale	59%	52%	66%
Rapport des cotes	4,4	2,1	9,2

Tableau 30 : Comparaison « patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique » des CTC et d'une réduction du PSA de 30% à 13-20 semaines

% Réduction de PSA depuis le départ jusqu'à 13-20 semaines après le début du traitement	CTC 13 à 20 semaines après le début du traitement		Total
	<5 CTC	≥ 5 CTC	
Réduction du PSA ≥ 30%	72	9	81
Réduction du PSA <30%	23	34	57
Total	95	43	138

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	60%	46%	72%
% de concordance négative	89%	80%	95%
Valeur prédictive positive	79%	64%	90%
Valeur prédictive négative	76%	66%	84%
Concordance globale	77%	69%	84%
Rapport des cotes	11,8	4,9	28,3

Les résultats d'une comparaison « observation » des CTC et des changements de PSA en utilisant un seuil de réduction ≥ 30% 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement associé sont illustrés dans le **Tableau 31**.

Tableau 31 : Comparaison « observation de patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique » des CTC et d'une réduction du PSA de 30%

% de réduction du PSA le départ après le début du traitement	Nombre de CTC après le début du traitement		Total
	<5 CTC	≥ 5 CTC	
Réduction du PSA ≥ 30%	243	41	284
Réduction du PSA <30%	175	181	356
Total	418	222	640

Mesure	Estimation	Inférieur IC à 95%	Supérieur IC à 95%
% de concordance positive	51%	46%	56%
% de concordance négative	86%	81%	89%
Valeur prédictive positive	82%	76%	86%
Valeur prédictive négative	58%	53%	63%
Concordance globale	66%	62%	70%
Rapport des cotes	6,1	4,1	9,1

La concordance globale entre les CTC et les changements de PSA à divers repères de temps après le début du traitement allait de 59% à 77% par rapport à une réduction du PSA ≥ 30% et de 52% à 75% par rapport à une réduction du PSA ≥ 50%, ce qui montre qu'il y avait une discordance entre les CTC et les changements de PSA chez environ 25% à 40% des patients.

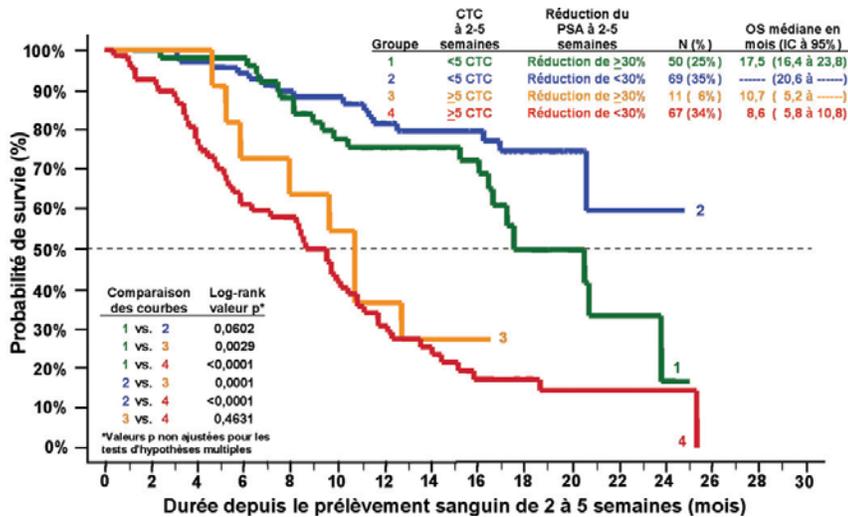
3.4.3 Nombre de CTC et réduction du PSA associés pour prévoir l'OS chez les patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique

Pour déterminer quels résultats discordants reflétaient mieux le pronostic du patient, l'évaluation des CTC et les changements de PSA 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement ont été comparés à la survie globale. Les durées d'OS écoulées ont été calculées depuis le prélèvement sanguin évalué. Pour l'analyse de Kaplan-Meier (**Figure 31**) (**panels A, B, C et D**), les patients ont été répartis en quatre groupes selon leur nombre de CTC et leur réduction de PSA respectivement 2-5 semaines, 6-8 semaines, 9-12 semaines et 13-20 semaines après le début du traitement :

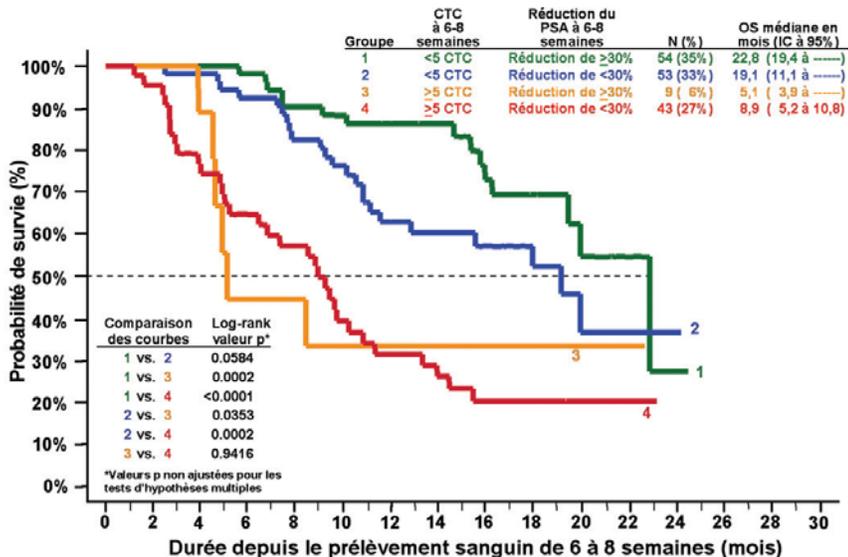
- Groupe 1 (courbe **verte**), patients comptant <5 CTC lors de l'évaluation et une réduction $\geq 30\%$ du PSA depuis le départ jusqu'à l'évaluation ;
- Groupe 2 (courbe **bleue**), patients comptant <5 CTC lors de l'évaluation et une réduction <30% du PSA depuis le départ jusqu'à l'évaluation ;
- Groupe 3 (courbe **orange**), patients comptant ≥ 5 CTC lors de l'évaluation et une réduction $\geq 30\%$ du PSA depuis le départ jusqu'à l'évaluation ;
- Groupe 4 (courbe **rouge**), patients comptant ≥ 5 CTC lors de l'évaluation et une réduction <30% du PSA depuis le départ jusqu'à l'évaluation ;

Figure 31 : Le nombre de CTC et les changements de PSA associés pour prévoir l'OS 2-5 semaines (panel A), 6-8 semaines (panel B), 9-12 semaines (panel C) et 13-20 semaines (panel D) après le début du traitement

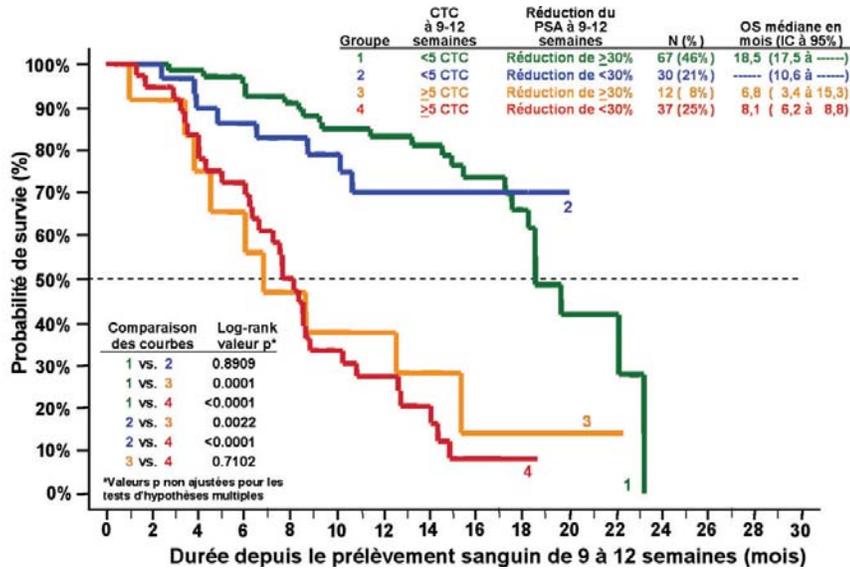
A. 2-5 semaines



B. 6-8 semaines



C. 9-12 semaines



D. 13-20 semaines

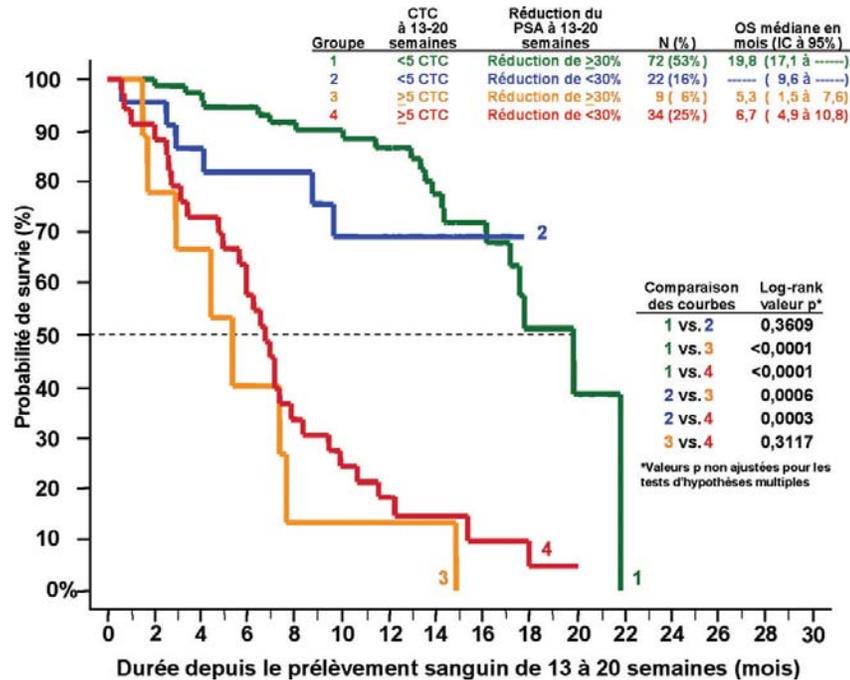


Figure 31 La montre que les patients ayant ≥ 5 CTC tout moment après le début du traitement présentaient un risque beaucoup plus élevé de décéder plus tôt, quels que soient les changements de taux de PSA depuis le départ. Les patients ayant ≥ 5 CTC tous les repères de temps (**groupe 3 et groupe 4**) avaient les survies globales médianes les plus courtes, qui ne différaient que légèrement l'une de l'autre. Cependant, l'OS médiane de ces deux groupes était significativement différente par rapport celle des patients ayant <5 CTC à tous les repères de temps (**groupe 1 et groupe 2**). Ces deux groupes (**groupe 1 et groupe 2**) avaient les survies globales médianes les plus longues, qui n'étaient pas significativement différentes l'une de l'autre. La conclusion importante, illustrée à la **Figure 31** indiquent que bien qu'une réduction du PSA à certains repères après le début du traitement puisse avoir une signification pour prévoir la survie, un nombre de CTC favorable à tous les repères de temps était plus précis que l'évaluation du PSA. En pratique, cela implique l'utilisation de l'analyse des CTC pour évaluer la probabilité de survie des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique. Dans les cas où les CTC et le changement de PSA sont discordants, le nombre de CTC fournit l'évaluation pronostique la plus précise.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Date de révision	Référence	Description des modifications techniques
2013-08-29	e631600001_FR	<p>Techniquement équivalent au e631500023_FR, avec les modifications suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Attribution d'une nouvelle référence • Mise à jour pour inclure les éléments Janssen, notamment : <ul style="list-style-type: none"> – logo Janssen – Adresse du fabricant – Adresse du représentant dans l'UE – Numéros de téléphone – Site Web • Suppression de toutes les occurrences de CELLSPOTTER® Analyzer • Mise à jour de toutes les occurrences de CELLSEARCH® Conical Tube, remplacées par CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tubes (15 mL) • Updated all instances of CELLSEARCH® Kit to CELLSEARCH® CTC Kit • Dans la section INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS : <ul style="list-style-type: none"> – Mise à jour des informations sur la contamination cellulaire en incluant « 5000 ou plus » • Dans la section Janssen Technical & Customer Support : <ul style="list-style-type: none"> – Mise à jour de toutes les occurrences de Veridex, LLC, remplacées par Janssen Diagnostics, LLC – Mise à jour du paragraphe sur les brevets américains • Dans la section LÉGENDE DES SYMBOLES : <ul style="list-style-type: none"> – Ajout du symbole Date de fabrication et du texte « Date de fabrication » • Mise à jour de la date de révision



Janssen Technical & Customer Support

Janssen Diagnostics, LLC

700 US Highway Rte 202 South

Raritan, NJ 08869-0606 USA

documents.cellsearchctc.com

Tél. : 1-877-837-4339

00 8000 8374339

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II®, MAGNEST® et AUTOPREP® sont des marques déposées de Janssen Diagnostics, LLC. Mitomycin® est une marque déposée de Bristol Myers Oncology. Procrit® est une marque déposée de Ortho BioTech. Arimidex® est une marque déposée de AstraZeneca. Aredia® est une marque déposée de Novartis. Herceptin® est une marque déposée de Genentech. Proclin® est une marque déposée de Supelco.

Cette technologie, comprenant les produits et/ou les composants qui leur sont associés, ainsi que les procédures et systèmes d'instrument décrits ici, sont protégés par des brevets américains et par les brevets et demandes de brevets internationaux en cours correspondants, et notamment un ou plusieurs des brevets suivants : Brevets américains n° 5,466,574; 5,459,073; 5,512,332; 5,597,531; 5,698,271; 5,849,517; 5,985,153; 5,993,665; 6,120,856; 6,136,182; 6,365,362; 6,551,843; 6,620,627; 6,623,982; 6,645,731; 6,660,159; 6,790,366; 6,861,259; 6,890,426; 7,011,794; 7,282,350 et 7,332,288.

KEY TO SYMBOLS / LÉGENDE DES SYMBOLES / LEGENDA DEI SIMBOLI / SYMBOLLEGENDE / GLOSARIO DE SÍMBOLOS / ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΣΥΜΒΟΛΩΝ / LEGENDA DOS SÍMBOLOS / FORKLARING AV SYMBOLER / SEMBOLLERIN AÇIKLAMALARI

The following symbols may have been used in this instruction for use or in the associated labeling. / Les symboles suivants peuvent avoir été utilisés dans le présent feuillet technique ou sur les étiquettes jointes. / Di seguito sono indicati i simboli che appaiono nelle istruzioni per l'uso o nelle etichette associate. / Die folgenden Symbole wurden gegebenenfalls in dieser Gebrauchsanweisung oder zur damit verbundenen Kennzeichnung verwendet. / Los siguientes símbolos pueden haber sido empleados en estas instrucciones o en el etiquetado asociado. / Τα παρακάτω σύμβολα πιθανόν να έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί στις παρούσες οδηγίες χρήστη ή σε συναφή επισήμανση. / Os símbolos seguintes podem ter sido utilizados nestas instruções de utilização ou na rotulagem associada. / De følgende symbolene kan ha blitt brukt i denne bruksanvisningen eller i tilhørende merking. / Aşağıdaki semboller bu kullanım talimatında veya ilgili etiketlerde kullanılmış olabilir.



Use by
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
À utiliser avant la date de péremption :
AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM
Utilizzare entro la data di scadenza
AAAA-MM-GG o AAAA-MM
Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT oder JJJJ-MM
Usar antes de
AAAA-MM-DD o AAAA-MM
Ημερομηνία λήξης
EEEE-MM-HH ή EEEE-MM
Utilizar até
AAAA-MM-DD ou AAAA-MM
Brukes før
ÅÅÅÅ-MM-DD eller ÅÅÅÅ-MM
Son kullanma tarihi
YYYY-AA-GG veya YYYY-AA



Batch code
Numéro du lot
Codice lotto
Loscode
Código de lote
Κωδικός παρτίδας
Código do lote
Batch-kode
Parti kodu



Serial number
Numéro de série
Numero di serie
Seriennummer
Número de serie
Αύξων αριθμός
Número de série
Seriennummer
Seri numarası



Caution, consult accompanying documents
Attention, consulter les documents joints
Attenzione, consultare documenti allegati
Achtung! Beigefügte Dokumente beachten
Precaución, consulte los documentos adjuntos
Προσοχή, συμβουλευθείτε τα συνοδευτικά έγγραφα
Cuidado, consultar os documentos em anexo
Forsiktig, se vedlagte dokumenter
Dikkat, birlikte verilen belgelere bakın



Date of Manufacture
Date de fabrication
Data di produzione
Herstellungsdatum
Fecha de fabricación
Ημερομηνία κατασκευής
Data de fabrico
Produksjonsdato
Üretim Tarihi



Manufacturer
Fabricant
Produttore
Hersteller
Fabricante
Κατασκευαστής
Fabricante
Produsent
Üretici



Contains sufficient for < n > tests
Suffisant pour < n > tests
Quantità sufficiente per < n > test
Inhalt ausreichend für < n > Tests
Contiene suficiente para < n > pruebas
Περιεχόμενο επαρκές για < n > εξετάσεις
Inneholder nok til < n > tester
Contém o suficiente para < n > Testes
<n> test için yeterli miktari içerir



Harmful
Nocif
Nocivo
Gesundheitsschädlich
Nocivo
Επιβλαβές
Nocivo
Skadelig
Zararlı



Catalog number
Référéncie catalogue
Numero di catalogo
Artikelnummer
Número de catálogo
Αρ. καταλόγου
Número de série
Katalognummer
Katalog numarası

EC REP

Authorized representative in the European Community
Mandataire dans l'Union européenne
Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
Autorisierte Vertretung in der EU
Representante autorizado en la Comunidad Europea
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή
Ένωση. Συμβουλευθείτε τις
Representante autorizado indicado nas instruções
de Consulta para utilização na Comunidade
Europeia
Autorisert representant i konsultasjonsinstruk-
sjonene for bruk i EU
Avrupa Topluluğu'nda Yetkili Temsilci Kullanım
talimatlarına başvurun



Temperature limitation
Limitation de température
Limiti di temperatura
Temperaturbereich
Limite de temperatura
Περιορισμοί θερμοκρασίας
Limite da temperatura
Temperaturbegrensning
Sıcaklık sınırı



Biological risks
Risques biologiques
Rischi biologici
Biologische Gefahren
Riesgos biológicos
Βιολογικοί κίνδυνοι
Riscos biológicos
Biologiske farer
Biyolojik riskler



Consult instructions for use
Consulter le mode d'emploi (feuillet technique)
Consultare le istruzioni per l'uso
Gebrauchsanweisung lesen
Consulte las instrucciones de uso
Βλέπε οδηγίες χρήσης
Consultar as instruções de utilização
Se bruksanvisningen
Kullanım Talimatları Bakın

IVD

In vitro diagnostic medical device
Pour diagnostic *in vitro*
Prodotto medico per la diagnostica *in vitro*
In-vitro-Diagnostikum
Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*
In vitro διαγνωστική ιατροτεχνολογική συσκευή
Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
In vitro diagnostisk mediset
In vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz

EC REP

Janssen Diagnostics BVBA
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse
Belgium

e631600001_FR
Août 2013



Janssen Diagnostics, LLC
700 US Highway Rte 202 South
Raritan, NJ 08869-0606 USA
documents.cellsearchctc.com
Tél. : 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (UE)

