

**Avis concernant les modalités de validation et de mise
sur le marché d'un test de détection de cellules
cancéreuses circulantes**

- Membres Comité d'Éthique de l'Inserm

► **To cite this version:**

- Membres Comité d'Éthique de l'Inserm. Avis concernant les modalités de validation et de mise sur le marché d'un test de détection de cellules cancéreuses circulantes. 2008. inserm-02110722

HAL Id: inserm-02110722

<https://www.hal.inserm.fr/inserm-02110722>

Submitted on 25 Apr 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Comité d'éthique de l'Inserm

Avis concernant les modalités de validation et de mise sur le marché d'un test de détection de cellules cancéreuses circulantes.

Réflexions sur les problèmes éthiques posés par les conditions de validation avant mise sur le marché des test biologiques concernant des maladies graves; sur les risques de confusion entre recherche biomédicale et pratique de soin ; et sur les responsabilités des institutions de recherche publique concernant les modalités de développement et de validation des recherches développées dans le cadre de partenariats public/privé.

Rédigé par JC Ameisen

L'une des principales missions du Comité d'éthique de l'Inserm est de favoriser le questionnement éthique et le débat d'idées. Pour cette raison, dans le but d'initier une démarche collective de réflexion sur des thèmes dont la complexité et les enjeux sont importants, nous avons décidé d'ouvrir, pendant les 2 mois qui suivent sa diffusion, une période de discussion autour de cet avis.

Les questions, remarques, commentaires, suggestions peuvent être envoyées à l'adresse suivante : benedicte.de-bois chevalier@tolbiac.inserm.fr

Ces contributions pourront éventuellement être prises en compte dans une rédaction ultérieure de l'avis.

Sommaire

Introduction.....	4
I. Les données scientifiques, entre recherche et médecine : avancées, espoirs, et incertitudes.....	7
A. Un bref rappel des avancées concernant le dépistage, le diagnostic, le traitement, et la physiopathologie des cancers.	7
1. Qualité et durée de survie, guérisons et mortalité depuis 50 ans.	7
2. La complexité des cancers : remaniements des gènes, remaniements du microenvironnement, et remodelage du corps, un survol de 40 ans de recherches.	8
3. Le développement des « biomarqueurs » en cancérologie : des classifications traditionnelles des tumeurs à la recherche de « signatures moléculaires ».	10
4. A la recherche de micro-métastases à distance de la tumeur primitive.....	11
5. A la recherche de « biomarqueurs » de cancers dans le sang circulant.....	11
B. Les recherches de « biomarqueurs » de cancers dans le sang circulant	12
Il y a 30 ans, une étude rapportait que la quantité d’ADN circulant était plus importante dans le sang des personnes atteintes d’un cancer que dans le sang de personnes sans problème de santé (39). Depuis, l’extraction directe de l’ADN à partir d’un prélèvement de sang et l’utilisation de méthodes d’amplification génique permet l’analyse de très faibles quantités d’ADN circulant. Ces études ont mis en évidence des anomalies génétiques – mutations de proto-oncogènes (40), mutations de gènes suppresseurs de tumeur, signes d’instabilité génétique – et des anomalies épigénétiques, telles des anomalies de méthylation (41, 42) qui sont considérées comme caractéristiques de cellules cancéreuses. L’utilisation de puces à ADN permet d’obtenir un « profil » ou une « signature » moléculaire des anomalies génétiques et épigénétiques (15) et de les comparer, par exemple, à ceux de la tumeur d’origine. L’ADN analysé peut soit provenir de cellules tumorales circulantes, soit d’ADN libéré par des cellules tumorales mourantes ou mortes, soit encore de l’ADN de cellules tumorales qui a été ingéré par des cellules voisines non cancéreuses (25).	12
2. Détection et analyse des profils d’expression des gènes dans les cellules circulantes.	12
3. Détection et analyse des protéines et des peptides circulants.	13
4. Isolement et analyse de « cellules tumorales circulantes ».	13
II. De la recherche à la clinique, ou de la science à l’éthique : un aperçu des recommandations au niveau international concernant la nécessité de protection du patient par une validation rigoureuse des test.....	14
A. Un exemple de régulation concernant l’autorisation de mise sur le marché de nouveaux « biomarqueurs » du cancer : les régulations de la FDA.	15
1. L’importance de la notion de sécurité et de protection du patient.	15
2. Les causes les plus fréquentes d’échec des études de validation.	16
B. Le cas particulier des tests visant à détecter des cellules tumorales circulantes.	17
III. Questions éthiques concernant les modalités de validation et de mise sur le marché d’un test biologique concernant une maladie grave.....	19
A. La question de la protection du patient liée au risque de confusion entre recherche et soin.	19
1. Recherche biomédicale, protection de la personne, et consentement libre et informé.	20
2. Recherche ou soin : deux situations différentes de consentement et de protection du patient.	20

3. De la recherche au soin : les ambiguïtés de la notion d'incertitude.....	22
4. La question particulière de la validation des tests non remboursés par l'assurance maladie.	23
5. Les tests biologiques non invasifs posent-ils des problèmes du même ordre que les médicaments ?	23
6. Les ambiguïtés de la notion de test « diagnostic ».	24
7. Les ambiguïtés de la Directive Européenne 98/79/CE.....	24
9. Réflexions d'ordre général liées au cas particulier de la saisine.	25
B. Le problème des finalités de la recherche publique dans le cadre des partenariats public-privé.....	27
1. Les ambiguïtés de la notion de « valorisation ».	28
2. L'encouragement au métier de chercheur/entrepreneur : entre valorisation et risque de conflit d'intérêt.	28
3. Développer le métier de chercheur/entrepreneur ou développer le métier d'intermédiaire ? L'exemple de l'écrivain, de l'éditeur et de l'agent littéraire.	29
4. Réflexions d'ordre général liées au cas particulier de la saisine.	30
Propositions.....	33
1. Pour un respect de la distinction entre recherche clinique et médecine de soin, et de la protection des personnes participant à une recherche.	33
2. Pour la mise en place de régulations permettant une évaluation et une validation adéquates des tests biologiques concernant des maladies et handicaps graves avant leur mise sur le marché dans le cadre de la médecine de soin.	35
3. Pour une régulation des partenariats public-privé qui permette de respecter au mieux l'intérêt public.	35
Références Bibliographiques.....	38

Introduction

Le Comité d'éthique de l'INSERM a été saisi au sujet des modalités de validation et de mise sur le marché d'un test (ou procédé, ou dispositif...) de détection de la présence de cellules potentiellement cancéreuses dans le sang circulant.

Ce test, fondé sur une méthode de filtration d'un prélèvement de sang à travers des pores de diamètre défini, permet d'isoler, puis d'analyser, à partir d'un échantillon de quelques millilitres (ml) de sang, une ou quelques cellules dont la taille dépasse nettement celle des populations cellulaires normales du sang. Pour avoir une idée du pouvoir discriminant de cette méthode de détection, il faut savoir qu'un prélèvement de 10 ml de sang contient habituellement près de 50 milliards de globules rouges et de 100 millions de globules blancs, cellules sanguines qui circulent normalement dans le sang. La machine, les filtres, et le procédé ont été brevetés, ainsi que deux de ses applications possibles. La première permet la détection, et l'analyse, dans un prélèvement de sang, de cellules cancéreuses provenant de tumeurs solides (d'origine épithéliale, les tumeurs les plus fréquentes) situées dans différents organes et tissus (1-3). Elle a été nommée *ISET-Oncologie* (*ISET* est l'acronyme de *Isolation by Size of Epithelial Tumor cells*, c'est-à-dire *Isolement par la Taille de cellules Tumorales d'origine Epithéliale*), le terme *Oncologie* signifiant *Cancérologie*. La seconde permet la détection et l'analyse, dans un prélèvement de sang réalisé chez une femme enceinte, de cellules circulantes d'origine fœtale (4). Elle a été nommée *ISET* (le même acronyme, pour *Isolation by Size of Epithelial Trophoblasts*, ou *Isolement par la Taille de cellules Epithéliales Trophoblastiques*, c'est-à-dire d'origine fœtale) Dans ce dernier cas, l'analyse génétique permettrait d'effectuer un diagnostic prénatal (qui actuellement nécessite une amniocentèse) pour des maladies génétiques (5, 6) dont la mucoviscidose, mais aussi sans doute pour toutes les maladies liées à des anomalies chromosomiques (comme la trisomie 21) ou génétiques d'origine familiale ou spontanée.

La saisine concerne l'utilisation de la machine et des blocs de filtration dans le but d'isoler des cellules cancéreuses circulantes, utilisation correspondant au test nommé *ISET-Oncologie*.

Le Comité a été saisi d'une part, par le Pr. Patricia Paterlini-Bréchet, directrice de l'Unité Inserm U 807, Faculté de médecine Necker-Enfants malades, auteur principale du brevet, déposé avec ses autorités de tutelle, l'Inserm, l'Université Paris 5, et l'AP-HP (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris) ; et d'autre part, par Mme Cécile Tharaud, président d'Inserm-Transfert, Société anonyme privée créée par l'Inserm pour gérer et valoriser les brevets et licences de l'Inserm par délégation de service public.

Le test *ISET-Oncologie* est développé et commercialisé par la société *Metagenex*. D'après les renseignements qu'a pu recueillir le Comité, *Metagenex* est une société de biotechnologie fondée par Mme Paterlini-Bréchet, et Mr Christian Bréchet, qui dirigeait alors l'Unité Inserm U 370, et qui s'est défait de ses parts lorsqu'il a été nommé, en 2001, Directeur Général l'Inserm. Cette société a été recapitalisée en 2006 par de nouveaux investisseurs, Mme Paterlini-Bréchet détenant actuellement une part minoritaire importante. *Metagenex* détient une licence exclusive correspondant à une première famille de brevets, et demande que lui soit accordée l'autre licence correspondant à la deuxième famille de brevets. La société *Metagenex* a vendu courant 2006 une machine, et a fourni les réactifs, à un laboratoire d'analyse biologique de ville, le Laboratoire Lavergne, qui, après avoir contacté par courrier un certain nombre de médecins cancérologues (oncologues), annonçant la mise en œuvre du

test ISET-Oncologie, l'a réalisé chez environ 200 patients, sous condition de prescription médicale, et sous forme d'examen d'un coût d'environ 150 euros, non remboursé au patient par l'assurance maladie.

C'est cette mise sur le marché (ou commercialisation) du test dans le cadre de la pratique médicale de soin qui est à la fois à l'origine de la saisine, et de la décision de l'Inserm, et d'Inserm-Transfert de suspendre en l'état la signature de l'avenant concernant l'attribution de la deuxième licence d'exploitation de la deuxième famille de brevets.

Le test ISET-Oncologie a fait l'objet, de la part du Pr. Paterlini-Bréchet et de son équipe, de deux publications originales dans des revues scientifiques internationales (1, 2), et d'une revue générale très récente (3) qui attestent de son intérêt potentiel en cancérologie. Ces deux publications indiquaient, d'une part, la faisabilité technique de la détection d'un très petit nombre de cellules tumorales lorsqu'elles sont ajoutées dans un échantillon de sang (1) et d'autre part, des résultats obtenus par l'équipe dans une étude clinique portant sur une petite série de patients, atteints de cancer du foie, et de contrôles, étude **que les auteurs qualifiaient eux-mêmes dans leur article, publié en 2004, de « préliminaire »** (2), **la conclusion de l'article étant qu'« une large étude multicentrique est nécessaire pour apprécier précisément la valeur prédictive de l'approche ISET. »** (2).

Mais ce test n'a, pour l'instant, fait l'objet d'aucune étude clinique multicentrique permettant de valider sa spécificité (la proportion éventuelle de résultats faussement positifs), **sa sensibilité** (la proportion éventuelle de résultats faussement négatifs), **sa signification clinique** (en fonction du type de cancer, de son stade, de sa localisation...), son **éventuelle utilité en matière de dépistage ou de diagnostic** (corrélation ou non avec la présence ou le développement d'un cancer, en général, ou d'un type particulier de cancer) ou **de pronostic** (corrélation ou non avec le caractère éventuellement évolutif d'un cancer ou avec sa diffusion métastatique...) ou **thérapeutique** (choix éventuel d'un traitement plus ou moins agressif, d'un traitement habituel ou d'un traitement nouveau en cours d'évaluation...). En d'autres termes, sa signification et son éventuelle utilité en terme de prise en charge du patient et de soins, c'est-à-dire **les bénéfices et les risques potentiels pour la personne chez qui ce test est réalisé, n'ont pas pour l'instant été évalués.**

Au cours des auditions qu'il a réalisées le Comité a noté le contexte extrêmement tendu et intriqué des relations entre les différents acteurs, et le caractère complexe des aspects juridiques et économiques, notamment ceux qui concernent les revendications respectives de propriété intellectuelle et de propriété industrielle, et l'attribution ou non des licences.

Le Comité rappelle qu'il n'a pas pour mission, d'une manière générale, de juger des responsabilités personnelles dans le cadre de conflits survenant dans des situations particulières, ni de démêler, dans ce cas précis, l'écheveau des responsabilités des différents acteurs dans la situation de blocage auquel a conduit ce différent, ni les mesures qui auraient éventuellement pu être prises pour essayer de l'éviter. (Mais on pourra voir, pour une réflexion générale à partir de certains de ces éléments, le chapitre III).

En revanche, le Comité considère que cette saisine, au-delà de ses aspects particuliers, soulève une question éthique d'ordre général : celle des modalités de régulation, avant mise sur le marché, de tests biologiques, actuellement en développement croissant, visant à mettre en évidence des facteurs de risque ou des critères diagnostiques, pronostiques, ou de décision thérapeutique, dans toute une série de maladies graves.

Il y a un an, en mai 2006, dans le cadre de sa réflexion à propos de l'annonce, par une entreprise de biotechnologie, d'une commercialisation prochaine d'un test génétique de détection précoce de l'autisme, le comité avait déjà abordé certains aspects liés au développement de tests biologiques concernant des maladies et handicaps graves (7). Il avait notamment insisté, d'une part, sur l'importance de la mise en place, en France et en Europe, d'une régulation permettant, avant mise sur le marché, une validation de la qualité technique et de l'utilité clinique, des bénéfices et des risques éventuels, des tests biologiques (en l'occurrence des test génétiques) concernant des maladies graves ; d'autre part sur l'importance, dans le cadre des partenariats public-privé, de la mise en place de Chartes Ethiques de communication permettant aux Institutions de recherche publique d'exercer un rôle de garant du respect des intérêts des patients et de leurs familles en matière de communication sur les avancées de la recherche et de ses applications.

Le Comité avait souligné, à cette occasion que **« la mise en œuvre en pratique médicale courante d'un test non validée par la recherche biomédicale, surtout quand ce test a des implications dans les domaines diagnostiques ou thérapeutiques, pose toujours un problème éthique »**. Et que **« la dimension du problème dépend du contexte dans lequel s'inscrit une telle démarche. Plus une maladie est grave, plus la détresse, l'angoisse et les espoirs des malades sont importants, plus les décisions à prendre ont des implications importantes en terme de santé et de survie, et plus de telles démarches risquent de porter atteinte aux principes de protection du patient »** (7).

Au-delà de son objet précis, le Comité d'éthique de l'Inserm a considéré que **la présente saisine soulève une série de problèmes éthiques auxquels il paraît important de sensibiliser non seulement les chercheurs, les médecins et les associations de malades, mais aussi les pouvoirs publics et l'ensemble de la société.**

Il est **paradoxal qu'à une période où se développe une approche médicale intégrant les donnée de l' « evidence-based medicine » – ou médecine fondée sur des preuves », c'est-à-dire sur des recherches rigoureuses, multicentriques et statistiquement interprétables – la mise sur le marché de tests donnant des résultats concernant des maladies graves ne fasse l'objet d'aucun prérequis d'évaluation, ni d'autorisation par des autorités indépendantes**, concernant en particulier la spécificité des résultats, les critères de validité clinique, leur signification et leur utilité dans la prise en charge des patients, et **les bénéfices et les risques pour les personnes chez qui ces tests sont réalisés.**

En ce qui concerne la protection du patient, cet état de fait expose à un **risque croissant de confusion entre la démarche de recherche biomédicale** – qui repose sur des **études scientifiques rigoureuses** statistiquement interprétables, nécessite **un avis favorable** d'une **instance indépendante et pluridisciplinaire** examinant **les aspects éthiques** de la recherche et un processus de **consentement libre et informé** de la personne, validé par un document ou formulaire écrit, prévoit souvent **une non-communication à la personne des résultats individuels de son test**, et a **pour finalité première l'avancée des connaissances, et la publication** des résultats dans des revues scientifiques et médicales à comité de lecture – **et la démarche de pratique médicale courante**, qui implique au contraire **l'obligation de communiquer le résultat** à la personne, et a **pour finalité immédiate le soin.**

Les questions générales soulevées par cette saisine concernent donc notamment :

- i) les prérequis, en matière de recherche, permettant d'établir, avant une utilisation de routine dans le cadre du soin, la fiabilité, la standardisation et la signification et l'utilité clinique (les bénéfices et les risques) d'un test biologique concernant une maladie grave ;
- ii) les prérequis pour une utilisation de routine d'un test biologique concernant une maladie grave dans le cadre du soin qu'elle fasse ou non l'objet d'une prise en charge financière par l'assurance-maladie (remboursement ou non) ;
- iii) les différences, en ce qui concerne la protection du patient, entre une phase de recherche et une phase d'utilisation de routine dans le cadre du soin ;
- iv) les modalités de partenariat public-privé qui permettent de favoriser l'investissement privé pour le développement de tests potentiellement utiles aux patients tout en garantissant que les applications de la recherche se feront dans le souci premier des intérêts et de la protection des patients.

Le Comité considère qu'il s'agit là de questions éthiques importantes qui vont très probablement concerner, dans un avenir proche, un nombre croissant de maladies et de handicaps graves, et nécessitent donc une réflexion de fond de la part de tous les acteurs impliqués dans la recherche biomédicale et la santé.

Le test qui a fait l'objet de cette saisine concerne la détection de cellules tumorales circulantes (ou CTC) dans le sang.

Pour comprendre l'intérêt potentiel, les incertitudes et les risques éventuels de l'utilisation d'un tel test dans le contexte actuel des connaissances, le Comité a considéré qu'il était important tout d'abord de le remettre en contexte, en rappelant les grands développements en cours dans le domaine de la cancérologie, et notamment en matière de dépistage, de mise en évidence de facteurs de risque, de diagnostic, de pronostic, et de choix et de développement des stratégies thérapeutiques.

I. Les données scientifiques, entre recherche et médecine : avancées, espoirs, et incertitudes.

A. Un bref rappel des avancées concernant le dépistage, le diagnostic, le traitement, et la physiopathologie des cancers.

1. Qualité et durée de survie, guérisons et mortalité depuis 50 ans.

L'une des premières grandes révolutions modernes dans le traitement des cancers, après la chirurgie et la radiothérapie, a été, la chimiothérapie, qui a permis il y a 50 ans d'obtenir les premières rémissions durables (8), puis les premières guérisons (9) des leucémies aiguës de l'enfant, jusque là toujours mortelles. Depuis, la chimiothérapie est devenue une part importante des traitements anticancéreux, que ce soit en première intention, ou dans des situations particulières. Ces traitements ont permis non seulement la guérison de la plupart des enfants atteints de leucémies aiguës, mais aussi de la plupart des adultes atteints de certains

cancers, dont des lymphomes, comme la maladie de Hodgkin, ou les cancers du testicule. Des progrès dans le développement de l'imagerie ont permis le dépistage de certains cancers à un stade plus précoce, comme le dépistage systématique des cancers du sein chez la femme. D'autres progrès dans la mise en évidence de facteurs de risque ont permis une surveillance et un traitement préventif avant même le développement d'un cancer (10), par exemple :

- par la réalisation systématique de frottis et de tests de cytologie (Papanicolaou) pour le dépistage de lésions précancéreuses du col de l'utérus,
- dans des formes familiales, rares, d'origine génétique de certains cancers, comme la polyposose colique familiale, une surveillance permettant un traitement chirurgical avant la transformation des polypes en cancers.

La découverte récente de traitements ciblés, comme un inhibiteur de la tyrosine kinase, l'imatinib mesylate, a permis d'obtenir des succès spectaculaires, mais dans un nombre limité de cancers, comme la leucémie myéloïde chronique (11). D'une manière générale, pour la plupart des différents types de cancers, la qualité de vie des patients et la proportion de patients ayant une survie de 5 ans ou plus a considérablement augmenté (12) (mais ce n'est pas le cas pour tous les types de cancer : ainsi, environ 95% des patients atteints de cancers du pancréas ont une survie de moins de 5 ans (13)). Enfin des mesures comme les campagnes contre le tabagisme, en ce qui concerne les cancers du poumon, ou la mise au point très récente d'un vaccin contre certains papilloma virus, en ce qui concerne les cancers du col de l'utérus, ont donné, ou devraient donner des résultats significatifs en matière de prévention.

Pourtant, malgré ces succès, les cancers atteignent toujours environ un homme sur deux et une femme sur trois, la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie classiques restent les traitements de loin les plus utilisés, et la proportion de personnes qui meurent, à âge égal, de cancers est à peu près la même aujourd'hui qu'il y a 50 ans (12). Dans le même temps, à titre de comparaison, le taux de mortalité par maladies cardiaques, vasculaires cérébrales, et infectieuses, a diminué d'environ 2/3 dans les pays industrialisés (12).

La très grande hétérogénéité des cancers et la complexité de leur développement expliquent ces résultats. La difficulté de parvenir à un diagnostic très précoce, la résistance au traitement ou la récurrence après traitement, et le développement de métastases représentent la cause essentielle de mortalité. Ainsi, plus de 90% des patients atteints de cancers du colon métastasés ont une survie de moins de 5 ans (13).

2. La complexité des cancers : remaniements des gènes, remaniements du microenvironnement, et remodelage du corps, un survol de 40 ans de recherches.

Bien qu'elles ne se soient pas traduites, en dehors d'un nombre limité de cas, par l'émergence de thérapies radicalement nouvelles, les découvertes en cancérologie depuis une quarantaine d'années ont constitué une véritable révolution scientifique.

Proto-oncogènes et gènes suppresseurs de tumeur. L'identification puis l'analyse, il y a une quarantaine d'années, de virus à l'origine de cancers chez l'animal a conduit, il y a une trentaine d'années, à la découverte des oncogènes, et des proto-oncogènes – gènes qui jouent un rôle important dans le fonctionnement des cellules et de l'individu, et dont la modification et la surexpression favorisent le développement ou la progression cancéreuse. A la même période était découvert le premier gène suppresseur de tumeur, dont la modification et la sous-expression lèvent un frein physiologique à la transformation ou la progression

cancéreuse. Actuellement, des mutations somatiques (survenant au cours de la vie dans quelques cellules du corps) concernant plus de 350 gènes ont été impliqués dans le développement des cancers. Et des mutations germinales (présentes dans toutes les cellules du corps, depuis la conception) dans plus de 60 gènes ont été liées à des risques plus ou moins importants de développer des formes (en général rares) de cancer (12).

Modifications génétiques et épigénétiques. Depuis une dizaine d'années, il a été découvert qu'en dehors de la survenue de modifications génétiques (des modifications dans la séquence ou la structure des gènes), un événement important dans l'émergence et le développement d'un cancer est la survenue de modifications épigénétiques (c'est-à-dire des modifications dans la capacité d'une cellule à utiliser certains de ses gènes). En particulier, la méthylation des promoteurs de certains gènes les rend non utilisables par la cellule, l'empêchant par exemple de fabriquer une protéine suppresseur de tumeur (14, 15). Les anomalies qui sont à l'origine de la transformation cancéreuse, et qui s'accumulent dans les cellules cancéreuses au cours du temps peuvent modifier de très nombreuses activités cellulaires, telles que la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire, la mort cellulaire programmée, la mobilité cellulaire, la réparation des modifications génétiques, l'accessibilité des gènes, la stabilité et la structure tridimensionnelle des chromosomes, le métabolisme cellulaire... entraînant donc de nombreuses modifications du comportement de ces cellules.

Hétérogénéité d'une tumeur et cellules-souches cancéreuses. L'hétérogénéité des modifications cellulaires à l'intérieur d'une même tumeur a conduit au concept d'évolution constante et de sélection permanente à l'intérieur de toute population de cellules tumorales, qui provient, le plus souvent, initialement, d'une seule cellule transformée (16). Des travaux récents indiquent d'une part que ces cellules originelles sont des cellules souches initialement normales du corps, dont le potentiel de fécondité est naturellement important. Et d'autre part, que les tumeurs sont elles-mêmes composées d'une minorité de cellules qui se comportent comme des cellules souches, donnant naissance à la majorité des populations cellulaires en prolifération rapide et à plus courte durée de vie (17-19). Ces cellules souches cancéreuses sont considérées aujourd'hui comme responsables de la croissance tumorale, de l'établissement de métastases, de l'échappement des cancers aux traitements, et de la récurrence lorsqu'il y a eu échappement aux traitements.

Remodelage du micro-environnement. Le développement des cancers ne résulte pas uniquement d'une accumulation de modifications successives internes intrinsèques à l'intérieur d'une population de cellules cancéreuses : il implique une série de modifications des interactions entre les cellules cancéreuses et leur environnement. Ces interactions aboutissent à des modifications de cet environnement – y compris la survenue éventuelle de mutations génétiques dans les cellules normales au voisinage des cellules cancéreuses (20) – qui, en retour, vont modifier les cellules cancéreuses. En particulier, la nature de la réponse immune anti-tumorale, et l'existence ou non d'un échappement de la tumeur à cette réponse joue un rôle important dans la progression de la tumeur et dans sa réponse aux traitements (21).

Remodelage vasculaire, croissance tumorale, dissémination des cellules cancéreuses, et métastases. La libération par certaines cellules de la tumeur de molécules qui permettent l'émergence d'une néovascularisation constituée de vaisseaux sanguins irriguant la tumeur est essentielle à la croissance de la tumeur au delà d'un volume minimal, et joue un rôle important dans la pénétration éventuelle de cellules cancéreuses dans la circulation sanguine (ou les vaisseaux lymphatiques), qui peuvent conduire à des micro-métastases vasculaires, et à des métastases dans différents organes (22). Ces notions ont conduit, il y a 35 ans à proposer

l'idée (23) que la neovascularisation tumorale pourrait représenter une cible importante pour de nouveaux traitements visant à inhiber ou à faire disparaître ces vaisseaux sanguins, et ainsi à contrôler, à fragiliser ou à faire disparaître la tumeur, traitements actuellement en développement (24).

Des études très récentes ont exploré les conséquences possibles, concernant la formation de métastases, de certaines modifications génétiques ou épigénétiques dans des cellules cancéreuses à l'intérieur d'une tumeur primitive. Ces études indiquent que certaines modifications génétiques ou épigénétiques favoriseraient la croissance tumorale, sans favoriser le développement de métastases (croissance localisée), alors que d'autres modifications génétiques ou épigénétiques favoriseraient à la fois la croissance, le remodelage vasculaire, et la dissémination métastatique (croissance et dissémination) (25). **Ces résultats suggèrent que l'analyse des caractéristiques génétiques et épigénétiques des cellules d'une tumeur primitive pourrait permettre éventuellement de prédire la capacité de cette tumeur à évoluer vers une dissémination métastatique.**

Il y a plus de 120 ans était proposée l'hypothèse de « la graine » et du « sol », selon laquelle la formation de métastases dépendait d'une compatibilité impliquant des interactions particulières entre certaines cellules cancéreuses et certains organes (26). Une série de recherches a montré depuis qu'une fois que des cellules cancéreuses ont quitté la tumeur primitive et sont entrées dans la circulation, leur capacité à s'installer, à survivre et à se développer dans certains organes, dépend à la fois de la nature de la tumeur d'origine et des modifications qu'ont subies les cellules cancéreuses qui l'ont quittée (27). L'efficacité moyenne de la dissémination métastatique dépend de la tumeur d'origine, mais est généralement très faible : des expériences chez l'animal suggèrent que moins de 1/1000 cellule survit dans la circulation, et moins de 1/10 000 cellule établit une métastase (27).

Le déclenchement de la mort cellulaire programmée dans les cellules qui quittent leur tumeur d'origine semble être une des raisons majeures de cette relative inefficacité, et des modifications génétiques ou épigénétiques aboutissant à réprimer dans certaines cellules cancéreuses le déclenchement de la mort cellulaire programmée pourraient jouer un rôle important dans leur capacité à établir des métastases (28).

3. Le développement des « biomarqueurs » en cancérologie : des classifications traditionnelles des tumeurs à la recherche de « signatures moléculaires ».

Le diagnostic des tumeurs, et les systèmes de classification internationaux qui permettent de les caractériser, sont fondés sur l'analyse anatomopathologique des biopsies (aspect des cellules, organisation de l'architecture de la tumeur et du tissu environnant, présence d'une néo-vascularisation tumorale, anomalies chromosomiques des cellules, détection de protéines particulières par immunohistochimie, recherche de récepteurs pour certaines hormones, degré d'extension de la tumeur, présence de micro-métastases dans l'environnement de la tumeur...) ainsi que certains éléments cliniques, d'imagerie, ou biologique visant à apprécier leur degré d'agressivité et d'extension de la tumeur.

Dans la plupart des cas, des patients dont les tumeurs ont été classées dans un même sous-groupe ont néanmoins des réponses différentes aux mêmes traitements, et une qualité ou une durée de survie différente. Pour cette raison, d'autres critères de classification sont depuis quelques années en cours d'étude. Ces recherches impliquent notamment des analyses génétiques réalisées à partir des biopsies à la recherche de mutations ou de modalités particulières d'expression de certains gènes, soit dans l'ensemble des cellules, soit de manière plus sélective dans certaines populations cellulaires, isolées par microdissection laser,

permettant ainsi d'appréhender l'hétérogénéité des cellules tumorales et de distinguer les modifications spécifiques des cellules cancéreuses, de celles qui peuvent survenir dans le micro-environnement.

Récemment, de nombreuses études ont réalisé de véritables « profils d'expression » génétiques de différents cancers (dont les cancers du sein et certains lymphomes) en utilisant des puces à ADN qui permettent d'analyser, dans les biopsies, ou les cellules isolées de ces biopsies, de manière simultanée l'expression de milliers de gènes. Ces études suggèrent que certaines de ces « signatures moléculaires » permettraient de prédire des réponses différentes aux traitements, et des modalités plus ou moins graves et rapides d'évolution (29-33). Ces « signatures moléculaires » sont recherchées non seulement dans les tumeurs primaires, mais aussi au niveau des extensions et des métastases ou micro-métastases détectées.

En raison de disparités importantes entre beaucoup de ces publications (13, 33), des études de standardisation ont été demandées, notamment par la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis, comme préalable à leur validation pour une utilisation dans le cadre de la pratique médicale de soin (34). Ces recherches indiquent que des études multicentriques peuvent permettre, lorsqu'elles sont réalisées dans des conditions très strictes, d'obtenir une standardisation de ces techniques, et une meilleure reproductibilité à l'intérieur d'un même laboratoire et entre différents laboratoires (34, 35). Néanmoins, toutes ces approches sont toujours au stade de recherches, comme le rappelle, notamment, le titre même d'une revue générale très complète de juillet 2007 dans *Nature Reviews Cancer* : « *Quand les signatures moléculaires vont-elles avoir une utilité dans le soin (33) ?* »

4. A la recherche de micro-métastases à distance de la tumeur primitive.

L'imagerie. L'imagerie traditionnelle ne détecte en règle générale que des tumeurs dont le diamètre est au minimum de 1 centimètre (c'est-à-dire correspondant à plus de 1 milliard de cellules tumorales). Néanmoins, les développements récents de l'IRM (imagerie par résonance magnétique) couplée à des nanoparticules, de la microscopie confocale couplée à l'endoscopie, et de l'imagerie par PETScan (tomographie par émission de positron) ont permis de détecter des tumeurs ou des métastases de moins de 1 millimètre de diamètre (31), c'est-à-dire de volume 100 fois plus réduit, qui correspondrait néanmoins à environ 10 millions de cellules tumorales...

Les prélèvements de moelle osseuse. Depuis plus de 10 ans (36, 37), l'identification, par analyse en cytofluorométrie de flux, de cellules cancéreuses isolées dans des prélèvements de moelle osseuse a été réalisée chez des patients atteints de différents cancers (dont les cancers du sein). Ces études suggèrent que la présence de cellules tumorales dans la moelle était un facteur pronostic (38) qui pourrait avoir une importance en ce qui concerne le choix éventuel du traitement.

5. A la recherche de « biomarqueurs » de cancers dans le sang circulant.

Des « biomarqueurs » classiques : les antigènes tumoraux circulants. La détection lors d'un prélèvement de sang veineux d'une grande quantité d'une protéine considérée comme relativement spécifique de la présence d'un type donné de cancers, est utilisée comme un

reflet de la présence, de la croissance, de l'extension, voire de la dissémination de certains cancers, par exemple le PSA (Prostate-Specific Antigen) pour les cancers de la prostate. Bien que le PSA soit utilisé en médecine courante, sa signification et son utilité clinique sont actuellement l'objet de discussions.

Les « biomarqueurs » de découverte plus récente. Depuis une douzaine d'années, une série de paramètres biologiques ont été étudiés de manière beaucoup plus exhaustive, par des méthodes d'une très grande sensibilité (amplification génique par PCR, spectrométrie de masse, isolement de rares cellules par cytofluorométrie de flux ou par filtration...) dans le sang, dont la signification, l'intérêt et l'utilité font actuellement l'objet de recherche. Leur intérêt potentiel s'étend du dépistage au diagnostic de la maladie, de la détection de son extension à la mise en évidence de sa récurrence après traitement, du pronostic au choix des traitements les plus adaptés...

Toutes ces approches ont d'abord été réalisées pour des cancers touchant les organes hématopoïétiques (moelle osseuse, ganglions lymphatiques...), le sang étant le lieu de circulation habituel de ces cellules cancéreuses. Elles y étaient donc présentes en relativement grande quantité. Ce n'est que plus récemment que les mêmes approches ont été entreprises pour la recherche et l'analyse dans le sang de cellules tumorales provenant de la plupart des autres cancers qui se développent dans les autres organes du corps, et dont les cellules ne circulent pas habituellement dans le sang.

B. Les recherches de « biomarqueurs » de cancers dans le sang circulant

1. Détection et analyse de l'ADN circulant.

Il y a 30 ans, une étude rapportait que la quantité d'ADN circulant était plus importante dans le sang des personnes atteintes d'un cancer que dans le sang de personnes sans problème de santé (39). Depuis, l'extraction directe de l'ADN à partir d'un prélèvement de sang et l'utilisation de méthodes d'amplification génique permet l'analyse de très faibles quantités d'ADN circulant. Ces études ont mis en évidence des anomalies génétiques – mutations de proto-oncogènes (40), mutations de gènes suppresseurs de tumeur, signes d'instabilité génétique – et des anomalies épigénétiques, telles des anomalies de méthylation (41, 42) qui sont considérées comme caractéristiques de cellules cancéreuses. L'utilisation de puces à ADN permet d'obtenir un « profil » ou une « signature » moléculaire des anomalies génétiques et épigénétiques (15) et de les comparer, par exemple, à ceux de la tumeur d'origine. L'ADN analysé peut soit provenir de cellules tumorales circulantes, soit d'ADN libéré par des cellules tumorales mourantes ou mortes, soit encore de l'ADN de cellules tumorales qui a été ingéré par des cellules voisines non cancéreuses (25).

2. Détection et analyse des profils d'expression des gènes dans les cellules circulantes.

L'analyse par RT-PCR de l'ARN extrait du sang permet d'établir un « profil d'expression » des gènes des cellules circulantes (l'ARN étant, contrairement à l'ADN, très rapidement dégradé sous forme libre, sa présence signe en principe, la présence dans le sang des cellules

dont il a été extrait). L'utilisation de puces à ADN permet ensuite de réaliser un véritable profil d'expression des gènes, et de comparer ces « signatures moléculaires », par exemple, à celles de la tumeur d'origine (33).

3. Détection et analyse des protéines et des peptides circulants.

Après le développement et l'utilisation de test immunoenzymatiques classiques (ELISA) visant à détecter une seule protéine circulant en grande quantité et considérée comme spécifique d'un type de cancer (PSA pour les cancers de la prostate), les recherches récentes explorent, avec des méthodes très sensibles, telle la spectrométrie de masse, le profil ou la « signature moléculaire » des différentes protéines et des différents fragments de protéines (ou peptides) circulant dans le sang des patients atteints de cancers, comme les cancers du sein et de la prostate (43). Ces profils peuvent refléter à la fois la nature des protéines synthétisées ou libérées par les cellules tumorales, et l'activité d'enzymes (des protéases) des cellules cancéreuses ou environnantes qui découpent ces protéines, et peuvent jouer un rôle important dans les phénomènes d'invasion hors de la tumeur et de dissémination des cellules cancéreuses (44).

4. Isolement et analyse de « cellules tumorales circulantes ».

Les cellules tumorales détectées dans le sang peuvent être soit des cellules qui viennent de quitter la tumeur et d'entrer dans la circulation, soit des cellules qui ont constitué des micro-métastases ou des micro-embolies dans les vaisseaux sanguins, et qui se sont détachées il y a peu de la paroi des vaisseaux sanguins. Des études très récentes suggèrent que ces cellules tumorales pourraient persister plusieurs semaines dans les vaisseaux sanguins, sans envahir obligatoirement un organe, mais tout en conservant leur capacité de le faire et d'y former des métastases (25).

Isolement et analyse par cytofluorométrie de flux. Il y a plus de 10 ans était décrit la détection dans le sang, par cytofluorométrie, de cellules tumorales circulantes chez des patientes atteintes de cancers du sein (45, 46). Depuis, plusieurs approches d'identification des cellules par cette méthode ont été utilisées, fondées soit sur la fixation d'anticorps (ou d'autres ligands de haute affinité) se fixant à des récepteurs ou à des molécules considérées comme caractéristiques de certaines tumeurs (47, 48), soit à des molécules considérées comme spécifiques des cellules épithéliales, les populations cellulaires d'où émergent la très grande majorité des cancers dont l'origine n'est pas hématopoïétique. **Dans ce dernier cas, l'examen ne distingue pas la nature tumorale ou non des cellules circulantes, mais le fait qu'elles n'appartiennent pas aux cellules normales du sang.**

Il y a 3 ans, après d'autres études (49), était publiée la première étude multicentrique fondée sur la détection de « cellules tumorales circulantes » (en fait de cellules épithéliales circulantes) dans une série importante de patientes atteintes de cancers du sein, suggérant que la quantité de cellules détectées avait une signification pronostique qui permettrait de prédire la réponse au traitement, et éventuellement d'orienter les traitements (50, 51).

Aujourd'hui, la cytofluorométrie permet l'étude concomitante de 17 paramètres différents sur une même cellule, suggérant l'importance et la diversité des analyses qu'il est possible de pratiquer à partir de cellules tumorales circulantes (52). De plus, cette méthode permet de trier

les cellules et de les récupérer pour d'autres analyses non réalisables par cytofluorométrie de flux.

Isolement et analyse par filtration. Cette méthode, nous l'avons vu, est celle qui est utilisée par le test ISET-Oncologie. Elle est fondée sur le fait que les cellules épithéliales de la plupart des organes, et notamment les cellules cancéreuses qui en dérivent, ont en général une taille nettement supérieure à celle des cellules normales du sang (1-3). Le test consiste donc à filtrer un prélèvement de sang à travers des filtres dont les pores sont calibrés pour laisser passer les cellules normales du sang et retenir les cellules de plus grande taille, dont les éventuelles cellules tumorales circulantes. La lecture cytologique par un anatomo-pathologiste permet alors d'analyser, de caractériser et de quantifier le nombre de ces cellules de grande taille.

Ces cellules peuvent aussi être soumises à des examens immunohistochimiques visant à caractériser les protéines qu'elles contiennent et à des tests génétiques. La différence entre la détection par cytofluorométrie de flux sur des critères d'expression d'antigènes épithéliaux ou tumoraux et cette détection fondée sur la taille des cellules est que cette dernière ne nécessite pas de piéger la cellule potentiellement tumorale par un marqueur moléculaire particulier choisi à l'avance. Or l'hétérogénéité des tumeurs est telle que des phénomènes de dédifférenciation peuvent faire perdre aux cellules tumorales la capacité d'exprimer des protéines caractéristiques de leur origine cellulaire ou de la famille de cancers à laquelle elles appartiennent. En revanche, fondée avant tout sur l'observation et l'analyse cytologique, au microscope, des cellules qui ont été isolées, cette méthode pose des problèmes de standardisation et de reproductibilité des critères choisis pour caractériser ces cellules comme cellules tumorales, et éventuellement pour essayer de mettre en évidence leur origine.

Autres recherches en cours. En juillet 2007, une nouvelle approche, réalisée dans un modèle animal, était publiée (48). La méthode est fondée sur l'injection *in vivo* d'un marqueur qui se fixe avec une haute affinité, à un récepteur exprimé par un certain nombre de cancers. La détection des cellules marquées se fait *in vivo* par une méthode non invasive, la cytométrie de flux intravitale, qui détecte et analyse les cellules marquées pendant qu'elles circulent à l'intérieur des vaisseaux sanguins superficiels. L'une des limites éventuelles, comme pour la méthode fondée sur la fixation des antigènes épithéliaux, est la nécessité de choisir à l'avance un marqueur (ou des marqueurs donnés). L'autre limite, pour l'instant, est la question de savoir si cette méthode est applicable à l'être humain. Mais ces travaux traduisent le caractère rapidement évolutif de ces recherches.

II. De la recherche à la clinique, ou de la science à l'éthique : un aperçu des recommandations au niveau international concernant la nécessité de protection du patient par une validation rigoureuse des test.

Les différentes méthodes mentionnées ci-dessus sont toutes présentées par les équipes qui les ont développées comme étant susceptibles d'apporter des renseignements potentiellement importants dans les domaines du dépistage, du diagnostic, du pronostic, de la détection de récidives après traitement, ou du choix des traitements les plus appropriées. Mais elles ont fait l'objet d'études cliniques de conception, d'ampleur et de qualité très variables, tant en ce qui concerne la validation des critères de standardisation et de reproductibilité à l'intérieur d'un même laboratoire et entre des laboratoires différents, le nombre de patients et de contrôles,

leur âge, le type et le stade des cancers, le type de traitement, le caractère rétrospectif ou prospectif des études, leur caractère randomisé ou non, multicentrique ou non, la nature des méthodologies statistiques utilisées, la corrélation ou non avec l'évolution de la maladie et avec la survie en réponse à des traitements identiques ou non, et la comparaison ou non avec d'autres méthodes de détection du même type de « biomarqueur » ou de « biomarqueurs » différents.

Elles en sont, pour la plupart d'entre elles, au stade de la recherche, c'est-à-dire nécessitant des études de validation permettant d'apprécier leur reproductibilité et leur réelle signification clinique, et de mesurer les éventuels bénéfices et risques qui résulteraient pour les patients de leur utilisation dans la pratique médicale courante de soin (on peut voir, par exemple, à ce sujet, les revues générales récentes suivantes (13, 34) ; et pour plus de détails sur les problèmes d'interprétation (15, 33, 44, 52, 53).

A. Un exemple de régulation concernant l'autorisation de mise sur le marché de nouveaux « biomarqueurs » du cancer : les régulations de la FDA.

Dans un domaine de recherche très rapidement évolutif, et très compétitif, il est intéressant de considérer la manière dont une instance de régulation comme la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis considère les bénéfices éventuels et les risques liés à la mise sur le marché de tests permettant de détecter de nouveaux « biomarqueurs » liés au cancer (34). En particulier, **la FDA accorde une grande importance** – en matière d'autorisation de mise sur le marché de tests biologiques non invasifs concernant le cancer, et d'autres maladies graves – **à la notion de risque pour le patient lié à l'utilisation, dans la pratique de soin, de résultats donnés par des tests non validés, et à la nécessité pour les instances de régulation, de protéger le patient contre ces risques.** Cette préoccupation est partagée par des acteurs de la recherche dans le monde académique et le monde de l'industrie pharmaceutique (13).

1. L'importance de la notion de sécurité et de protection du patient.

En ce qui concerne les tests biologiques non invasifs, *in vitro*, la FDA donne au terme « biomarqueur » une signification « d'indicateur diagnostique », mais donne au terme « diagnostique » une définition très large : est considéré comme tel tout biomarqueur « *utilisé pour apprécier le risque d'apparition d'un cancer, la présence d'un cancer, le pronostic ou la classification d'un cancer, la surveillance ou l'optimisation d'un traitement.* » (34). La régulation concernant ces « procédés de diagnostic *in vitro* » date aux Etats-Unis, de plus de 30 ans. Les prérequis pour l'autorisation de mise sur le marché pour une pratique médicale de soin sont la « sécurité » et l'« efficacité » du procédé dans le cadre de son utilisation préconisée. La notion d'« efficacité » concerne la validité du procédé d'un point de vue de la standardisation des résultats, la sensibilité et la spécificité du test, ainsi que des éléments indiquant son utilité clinique, c'est-à-dire que son utilisation produira des résultats significatifs pour la santé. La notion de « sécurité » concerne les risques pour le patient qui pourraient être liés à l'utilisation du procédé dans le soin. Même pour l'évaluation d'un « biomarqueur », par un test *in vitro*, dans le cadre d'un protocole de recherche clinique, la FDA considère que la situation où les risques pour le patient sont les plus minimes est celle

d'une recherche où les résultats du test sont masqués pendant la durée de la recherche et ne sont connus et évalués par les chercheurs qu'à la fin de la recherche « *parce que [dans de telles conditions] il n'y a aucun risque, durant la recherche, que le résultats obtenus à l'aide du test puissent influencer sur la pratique de la médecine.* » (34).

Un exemple des risques que peut faire courir au patient un test non validé : pour des patients atteint de cancers donnés, deux types de traitements sont le plus souvent possibles, l'un moins agressif, réservé aux formes d'évolution plus favorables, l'autre beaucoup plus agressif, et donc à la fois plus dangereux et plus efficace dans les formes les plus évolutives du cancer. Un test non validé, dont le résultat, faussement positif, inciterait à tort à choisir le deuxième type de traitement chez un patient qui aurait pu bénéficier du premier peut entraîner, pour le patient des conséquences graves, qui auraient été évitées si le test n'avait pas été réalisé, si ses résultats avaient été collectés durant une recherche, mais non utilisé pour le soin avant la fin de la recherche, ou, bien sûr, si le test avait au préalable été validé.

Ainsi, pour la FDA, **les résultats d'un test non encore validé font courir d'autant plus de risques au patient** (même dans le cadre de sa participation à un protocole de recherche) **que les résultats du test seront connus par le médecin et susceptibles d'être utilisés dans le cadre de la pratique médicale, au bénéfice du patient.** Dit autrement, **l'utilisation d'un test non validé présente d'autant moins de risque que personne n'en connaît les résultats...**

Cette notion de risque, et de nécessité d'en protéger le patient, est soulignée par la recommandation faite aux investigateurs, avant même qu'ils ne débutent leur recherche, de « *déterminer les conséquences cliniques éventuellement négatives qui pourraient résulter de l'utilisation d'un test [avant même] la conception d'une étude de recherche clinique visant à apprécier la validité de ce test* » (34), et de tenir compte de ces « *conséquences cliniques éventuellement négatives* » dans le calcul du nombre de patients et de témoins à inclure dans l'étude.

2. Les causes les plus fréquentes d'échec des études de validation.

Si la réalisation d'études cliniques est nécessaire pour apprécier la validité d'un test, son utilité clinique et la nature des risques que son utilisation dans le cadre du soin ferait courir au patient, cette validité éventuelle ne pourra être évaluée correctement que si les études ont été conçues et réalisées dans des conditions qui permettent d'obtenir des résultats interprétables.

Les difficultés sont nombreuses, et se situent à différents niveaux qui ont fait l'objet d'évaluations et de recommandations (13, 34, 53, 54, 55). Ces difficultés sont considérées comme étant souvent la conséquence :

- i) d'une mauvaise conception des études,
- ii) d'une absence d'études multicentriques,
- iii) d'une absence de validation et de standardisation indépendantes, et d'une absence d'échanges entre différentes équipes, qui peuvent être liés à des conflits concernant la propriété intellectuelle et/ou la propriété industrielle,
- iv) d'un manque de prise en compte du temps et des moyens financiers nécessaires.

En ce qui concerne le premier point – la conception des études – elle doit notamment prendre en considération le type d'utilisation (et d'utilité) envisagées pour le test : les critères de validation vont en dépendre.

Ainsi, un test dont le but est soit :

- i) le dépistage d'un facteur de risque d'un cancer,

- ii) le dépistage d'un cancer déjà présent,
- iii) la mise en évidence d'une extension métastatique,
- iv) la mise en évidence d'une modalité future d'évolution,
- v) l'évaluation d'un cancer résiduel ou d'une récurrence après traitement,
- vi) une indication quant au choix d'un traitement...

va nécessiter des études très différentes en ce qui concerne le choix des patients et des contrôles, la durée de l'étude, et la nature des critères complémentaires qui vont permettre d'interpréter les résultats.

Par exemple, s'il s'agit d'un test visant à permettre le dépistage d'un facteur de risque de développement futur d'un cancer, il faudra non seulement comparer le pourcentage de résultats positifs dans des populations de personnes à très faible risque statistique de développer un cancer dans les 10 à 20 ans à venir (par exemple des personnes jeunes, sans facteur de risque familial ni individuel) et dans des populations de personnes à risque élevé. Il faudra aussi attendre le temps nécessaire pour établir si ces résultats sont non seulement valables d'un point de vue statistiques, (à l'échelle d'un groupe de personnes à risque faible ou élevé) mais aussi valables à un niveau individuel, c'est-à-dire si les personnes chez qui le test est positif développent effectivement un cancer. Sinon, le test biologique ne ferait que traduire, d'une autre manière, d'un point de vue des probabilités, à un niveau collectif, ce que l'on sait déjà par l'analyse des facteurs de risque auxquels sont exposés les personnes : le test n'apporterait aucune donnée supplémentaire au niveau individuel.

S'il s'agit d'un test visant à évaluer les modalités d'évolution d'une tumeur, la présence d'une récurrence, ou le choix d'un traitement... il faudra le temps et les moyens nécessaires pour pouvoir évaluer les modalités d'évolution de la tumeur, l'existence ou non d'une récurrence, ou les effets du choix de tel traitement plutôt qu'un autre.

Bien que ces considérations puissent paraître élémentaires, voire triviales, elles semblent trop souvent être insuffisamment ou pas du tout prises en compte (13, 34, 53, 54, 55). Elles ont pourtant des conséquences importantes en ce qui concerne la conception et la réalisation des études cliniques de validation, Ainsi, en fonction du type d'utilisation (et d'utilité) attendu pour le test, il faut pouvoir évaluer non seulement la durée minimale de l'étude, mais aussi :

- i) la population minimale de patients et de contrôles qu'il faudrait recruter,
- ii) le type de cancers et leurs stades,
- iii) les différents traitements et leurs critères de choix,
- iv) les critères de surveillance et d'évaluation de l'efficacité des traitements,
- v) l'âge des patients et des contrôles,
- vi) leur nombre,
- vii) le caractère rétrospectif ou prospectif de l'étude,
- viii) la randomisation et les problèmes de méthodologie statistique.

B. Le cas particulier des tests visant à détecter des cellules tumorales circulantes.

En ce qui concerne les tests visant à détecter des « cellules tumorales circulantes » (ce qui est le cas du test ISET-Oncologie), les problèmes d'interprétation et de validation sont les mêmes que ceux qui ont été mentionnés plus haut.

Quel est le contexte dans lequel le test est prescrit ? S'agit-il d'un dépistage ? De la recherche d'une éventuelle extension ou d'éventuelles métastases d'une tumeur déjà diagnostiquée ? De la recherche d'une éventuelle récurrence après traitement ? Du choix d'un traitement ?

Quels sont les critères qui permettent de déterminer qu'il s'agit d'une cellule cancéreuse ? Ces critères peuvent-ils être standardisés ? Les résultats sont-ils reproductibles par des équipes différentes ? Quelle est la signification clinique de la présence de cellules tumorales circulantes ? Traduisent-elles obligatoirement la présence d'une tumeur ? S'agit-il d'une tumeur qui va évoluer, qui est en train d'évoluer, ou, éventuellement d'une toute petite tumeur qui va disparaître ou être éliminée par la réponse immune ? Quelle devrait être la conduite à tenir en fonction de la situation clinique ? Quelles sont les études nécessaires pour valider l'utilisation d'un tel test en fonction du type de cancer, et en fonction de l'utilité qu'on attend du test (dépistage, diagnostic, extension, récurrence, choix d'un traitement, surveillance de l'effet d'un traitement...) ?

A l'évidence, ces problèmes d'interprétation révèlent à la fois le très grand intérêt potentiel de ces approches nouvelles en matière de connaissance de l'histoire naturelle de l'émergence et de l'évolution des cancers, et, comme toutes les approches utilisant des méthodes de détection extrêmement sensibles, offrent des opportunités de poser des questions nouvelles sur la physiopathologie des cancers.

A titre d'exemple, la découverte il y a une vingtaine d'années de méthodes d'amplification génique, extrêmement puissantes a permis de détecter des quantités très faibles de nombreux microbes (virus, bactéries, parasites) dans le sang, et différents liquides biologiques, tissus et organes, ainsi que dans l'environnement, posant des problèmes d'interprétation et de seuils. La présence d'une ou de quelques bactéries signifiait-elle obligatoirement la présence de – ou un risque de – maladie infectieuse ? En fait c'est toute la différence entre une bactériémie (la présence à un moment donné dans le sang de quelques bactéries) et une septicémie.

De la même façon, la détection dans le sang d'une ou de quelques cellules tumorales, ou en voie de transformation cancéreuse, signifie-t-elle obligatoirement la présence d'une tumeur – ou un risque d'évolution vers le cancer ? Faut-il, chez la personne dont le test est positif, réaliser un bilan extensif – et si oui, jusqu'où ? Faut-il mettre en place une surveillance – et si oui, à quelle fréquence et jusqu'à quand ? Faut-il mettre en route un traitement préventif ou curatif, et si oui lequel, et avec quels bénéfices et quels risques éventuels ?

Les interrogations nouvelles sur la physiopathologie des cancers que font surgir ces tests nouveaux ont comme corrélatés des interrogations sur la signification des résultats de ces tests. Ces résultats ne sont pas tant des réponses que des sources de questionnement. Pour ces raisons, ils nécessitent des études de validation, qui les transformeront – peut-être – en réponses interprétables. Enfin, il est bon de rappeler que des études animales bien conçues peuvent apporter des renseignements importants non pas tant du point de vue de la robustesse des interprétations cliniques, mais du point de vue de la compréhension des éléments inconnus de physiopathologie des cancers que ces tests révèlent. Pour l'instant, à notre connaissance, le test ISET-Oncologie n'a été utilisé dans aucun modèle animal de cancers.

Comme nous l'avons déjà mentionné, les inventeurs du test ISET-Oncologie (le Pr Paterlini-Bréchet et son équipe), décrivant les résultats qu'ils avaient obtenus dans une étude clinique portant sur une petite série de patients, atteints de cancer du foie, et de contrôles, qualifiaient eux-mêmes cette étude de « *préliminaire* » (2), la conclusion de l'article étant qu'« *une large étude multicentrique est nécessaire pour apprécier précisément la valeur prédictive de*

l'approche ISET. » (2). Cet article, publié en 2004, est, à notre connaissance, le dernier article original concernant le test ISET-Oncologie publié à ce jour.

La même année, en 2004, une étude multicentrique était publiée par une autre équipe, utilisant un autre test de détection de « cellules tumorales circulantes », développé par la société de biotechnologie *Veridex*, filiale de la compagnie pharmaceutique Johnson & Johnson. Cette étude, comme mentionné plus haut, suggérait l'utilité clinique de ce test chez des patientes atteintes de cancers du sein (50).

La même année encore, un certain nombre de recommandations étaient proposées pour permettre une validation des tests permettant de détecter des cellules tumorales circulantes (53). « *Les techniques validées en laboratoire ne devraient être utilisées dans un contexte de soin que dans le cadre d'essais cliniques méticuleusement préparés.* » (53). Parmi les standards qui étaient proposés comme guide pour la conception et la conduite des études cliniques de validation, et qui s'appuyaient sur des propositions antérieures de standardisation (54, 55, 56), on peut noter :

- i) la nécessité d'inclure dans les études des groupes de patients atteints de cancers à des stades homogènes, à partir de critères de classification internationaux, et des groupes contrôles de femmes sans problèmes de santé et de femmes atteintes de maladies bénignes du sein,
- ii) la nécessité de conduire des études prospectives, pour obtenir une puissance statistique suffisante pour pouvoir apprécier la sensibilité, la spécificité, et les valeurs prédictives éventuelles des résultats du test, et
- iii) la nécessité de définir à l'avance les critères qui seront retenus pour considérer qu'un échantillon est positif, et de fonder ces critères, si possible, sur des standards établis et reconnus au niveau international.

La FDA vient d'accorder une autorisation de mise sur le marché à un autre test développé par la compagnie *Veridex*, test fondé sur la détection et l'analyse par RT-PCR du « profil d'expression » des gènes, et qui a pour but de détecter l'extension des cancers du sein dans les ganglions lymphatiques. On voit bien que **ces stratégies de validation d'un test**, pour lesquels la FDA a accordé une autorisation de mise sur le marché, **ne sont pas fondées sur la mise en évidence, d'une manière générale, en dehors de tout contexte, « de cellules cancéreuses », mais sur des études évaluant l'intérêt et l'utilité pour le patient de l'utilisation du test dans un type de cancer et dans une situation particulière donnée.**

III. Questions éthiques concernant les modalités de validation et de mise sur le marché d'un test biologique concernant une maladie grave.

A. La question de la protection du patient liée au risque de confusion entre recherche et soin.

1. Recherche biomédicale, protection de la personne, et consentement libre et informé.

Depuis 60 ans, l'obligation du recours au *consentement libre et informé* et l'évaluation pluridisciplinaire des protocoles de recherche cliniques par des comités d'éthique est devenue l'un des garants essentiels de la dimension éthique de la recherche biomédicale, et de la distinction entre recherche biomédicale et médecine de soin. La Déclaration d'Helsinki de l'Association Médicale Mondiale (57), adoptée il y a plus de 40 ans, et qui énonce les principes qui devraient guider la recherche biomédicale impliquant la participation de personnes, souligne dans son article 5, que « *les intérêts de la science et de la société ne doivent jamais prévaloir sur le bien-être du sujet* ». Et la Déclaration universelle sur la bioéthique et les droits de l'homme de l'UNESCO (58) adoptée à l'unanimité en octobre 2005, fait du *consentement libre et informé* dans le cadre de la recherche biomédicale et de l'évaluation des protocoles de recherche par des comités d'éthique l'un des garants essentiels du respect des droits de l'homme.

Depuis près de 20 ans, une série de lois ont été votées dans notre pays – dont la dite Loi Huriet-Sérusclat, n° 88-1138 du 20 décembre 1988 *relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales* créant les Comités Consultatifs de Protection des Personnes qui se prêtent aux Recherches Biomédicales (CCPPRB), modifiée par la loi n°2004-806 du 9 août 2004 *relative à la politique de santé publique*, et les lois de bioéthique de 1994 puis de 2004 – **pour tenter de distinguer ce qui devrait être considéré comme de l'ordre de la recherche de ce qui devrait être considéré de l'ordre du soin, et pour placer la protection de la personne au centre des démarches de recherche.**

Au moment où la pratique médicale dépend de plus en plus des avancées de la recherche apportées par des études cliniques rigoureuses, phénomène qui a donné naissance à la notion de *médecine fondée sur des preuves*, cet ensemble de recommandations internationales et de lois ont pour but de faire en sorte que ces recherches d'amont qui sont indispensables à la qualité de la médecine de soin se déroulent dans des conditions qui assurent au mieux la protection de la personne qui participe aux recherches, et qui respectent au mieux sa liberté, c'est-à-dire son droit à l'information la plus complète et son droit à choisir de participer ou non à la recherche.

La procédure de *consentement libre et informé* (ou *libre et éclairé*), implique la délivrance d'une information orale et écrite la plus complète possible sur les buts, les modalités, les risques et les éventuels bénéfices pour la personne ou pour d'autres personnes, à l'avenir, de la recherche ; une information claire sur la liberté de la personne d'accepter ou de refuser sans que cette décision ait aucune conséquence sur le soin ; un délai nécessaire de réflexion pour la personne ; le tout attesté par un formulaire de consentement libre et informé signé par la personne (on peut voir, par exemple, à ce sujet l'avis n° 58 de 1998 du CCNE (59) et les recommandations de la Commission européenne concernant la discussion par les chercheurs des problèmes éthiques posés par les projets de recherche soumis dans le cadre du 7^{ème} PCRD et les conditions de la « revue éthique », qui conditionne l'approbation des projets (60)).

2. Recherche ou soin : deux situations différentes de consentement et de protection du patient.

Pour comprendre les implications d'une confusion entre recherche biomédicale et médecine de soin, considérons à titre d'exemple un test biologique concernant une maladie grave, qui

n'a pas encore été validé, et qui ferait l'objet soit i) d'études de recherche clinique rigoureuses visant à le valider, soit ii) d'une mise à disposition dans le cadre de la médecine de soin, sur prescription médicale, sans remboursement par l'assurance maladie, le test étant payé par le patient (à un coût, par exemple de 150 euros, ce qui est actuellement le cas pour le test ISET-Oncologie). **Un même patient pourrait se voir proposer ce test dans deux circonstances radicalement différentes :**

i) Dans le premier cas (la recherche), le projet de recherche aura fait l'objet d'une part d'une évaluation de sa pertinence scientifique, et d'autre part d'une évaluation de ses implications éthiques (et d'un avis favorable) par un Comité de protection de la personne (CPP), si la loi le demande, ou par un Institutional Review Board (IRB) de l'institution de recherche (comme le Comité de qualification institutionnel, ou CQI, au niveau de l'Inserm), avis qui est actuellement exigé par la plupart des revues scientifiques ou médicales de qualité comme condition pour la publication éventuelle des résultats de l'étude. Le patient recevra, de la part d'un médecin qui n'est pas son médecin traitant (60), une information orale et écrite établie à l'avance dans le cadre du projet de recherche lui expliquant l'ensemble des questions posées par la recherche, les risques, les résultats attendus, les bénéfices éventuels, à terme, soit pour lui-même, soit pour d'autres patients, une fois que les incertitudes et les risques d'erreur d'interprétation auraient été clarifiés ou non par la recherche ; le fait que ses propres résultats ne lui seront le plus souvent pas communiqués (la non communication est l'attitude la plus prudente, voir chapitre II, A, 1), et le fait qu'il pourra consulter à la fin de l'étude, les résultats globaux de la recherche. Le test est évidemment gratuit pour le patient. Le patient prend le temps de la réflexion et accepte, ou refuse, de participer à la recherche, et s'il accepte, signe le formulaire de consentement libre et informé.

ii) Dans le second cas (la médecine de soin), le patient se verra proposé le même test par son médecin traitant dans le cadre d'une consultation médicale. La qualité et l'exhaustivité de l'information communiquée au patient par le médecin traitant sera probablement variable d'un médecin à un autre, étant donné le peu de données publiées existantes et leur caractère non encore validé par des études rigoureuses. Il est en effet peu probable que l'information communiquée au patient atteigne le niveau de celle que fourniraient des équipes de médecins et de chercheurs ayant élaboré un projet de recherche multicentrique dont le test et son interprétation sont l'objet d'étude. Le processus de réflexion et de consentement sera donc lui aussi de nature variable, et il n'y aura pas, le plus souvent, de document écrit témoignant de l'information donnée et du consentement (car ils ne sont pas requis dans ce cas). Il sera probablement difficile au médecin de bien faire comprendre au patient, à la fois, que le test a un certain intérêt, puisqu'il le lui prescrit, et qu'il coûtera au patient 150 euros, et que les résultats de ce test ne sont pas (véritablement) interprétables, et que le médecin ne pourra donc pas (véritablement) en tenir compte dans les décisions de soin. Le médecin sera dans l'obligation d'informer le patient des résultats du test, et de lui en fournir une interprétation, étant donné que la loi du 4 mars 2002 impose la communication du dossier médical (sauf bien sûr si le patient exprime la volonté de ne pas connaître le résultat).

D'une manière plus générale, un tel test, lorsqu'il est pratiqué chez une personne qui a accepté de participer à une recherche, est un test dont le résultat permettra d'en savoir plus à l'avenir sur sa validité, son utilité (ou sa non utilité) et ses risques, alors que s'il est pratiqué dans le cadre de la médecine de soin, le résultat, indépendamment des risques qu'il fera courir au patient, ne fera pas progresser les connaissances sur la validité et l'utilité de ce test, car d'une part ses résultats ne pourront pas être correctement interprétés, et, d'autre part, quelle

que soit l'interprétation qui en serait faite, ces résultats ne pourront pas, en principe, être publiés.

En d'autres termes, la décision de valider un test par des essais cliniques rigoureux ou au contraire de le rendre accessible à la médecine de soin place un même patient (ou d'une manière plus générale, la même personne, si le test est pratiqué chez une personne apparemment en bonne santé) dans une situation radicalement différente, en particulier en ce qui concerne son niveau d'information, de réflexion, de consentement et de protection.

Par ailleurs, la participation à une recherche ou à une pratique médicale de soin, qui est dans l'intérêt direct du patient ne relève pas des mêmes dispositions légales et juridiques, la première dépendant des lois de protection de la personne et éventuellement des lois de bioéthique mentionnées plus haut, et la seconde relevant de la loi n°2002-303 du 4 mars 2002 *relative aux droits des malades et à la qualité du système de soin*, dite loi Kouchner.

3. De la recherche au soin : les ambiguïtés de la notion d'incertitude.

Les frontières entre recherche et médecine de soin peuvent souvent paraître, et sont parfois, de nature floue. Mais ce flou est souvent lié à l'ambiguïté de la notion d'incertitude dans la pratique médicale de soin.

En effet, quelles que soient les qualités et la rigueur des résultats et des interprétations des publications des recherches cliniques sur lesquelles s'appuie la *médecine fondée sur des preuves*, ces résultats (ces *preuves*) sont dans la quasi-totalité des cas des résultats dont la valeur est liée à leur significativité et à leur robustesse statistique, c'est-à-dire qu'elle se traduit en termes de probabilité dans une population ou une sous-population de patients ou de personnes bien définies. L'adaptation de ces résultats statistiques à une personne donnée (toujours singulière, quelle que soit son appartenance à un sous-groupe particulier) est l'une des grandes difficultés, et des noblesses de la pratique médicale de soin, qui fait que la médecine, fondée sur la science, continue à être définie comme un art, et qui explique en particulier pourquoi un médecin ne doit pas, ou ne devrait pas, être remplacé par un ordinateur.

Mais il y a une différence entre l'incertitude qui naît de la nécessité d'adapter au mieux, à une personne donnée, des approches dont la signification a été validée de manière rigoureuse d'un point de vue statistique, et l'incertitude qui consiste à utiliser chez une personne donnée des approches qui n'ont pas fait l'objet d'une étude statistiquement rigoureuse.

Dans le premier cas, l'incertitude est liée aux limites mêmes de la recherche scientifique, c'est-à-dire à l'écart qui subsiste le plus souvent, pour partie au moins, entre d'une part une connaissance obtenue à partir de sa reproductibilité, de sa validité chez des personnes semblables (l'une des bases de la science), et d'autre part le fait qu'aucune personne n'est totalement semblable à aucune autre. **Dans le deuxième cas, l'incertitude est due tout simplement à un défaut de recherche scientifique, c'est-à-dire à un défaut de connaissances.**

En d'autres termes, **les recherches visant à valider un test n'ont pas pour but d'effacer l'incertitude intrinsèque à toute pratique médicale de soin, elles ont pour but d'effacer, au mieux l'ignorance.** Elles permettent ainsi de rendre à l'incertitude de l'acte médical toute

sa noblesse : celle d'une démarche de soin qui, fondée sur la connaissance la meilleure possible, s'adresse à une personne unique et singulière.

4. La question particulière de la validation des tests non remboursés par l'assurance maladie.

Il existe dans notre pays une différence entre la régulation concernant la mise sur le marché de tests remboursés par l'assurance maladie, qui font l'objet d'une procédure de validation par la Haute Autorité de Santé (HAS) (dont l'une des missions est « *d'évaluer scientifiquement l'intérêt médical des dispositifs médicaux et des actes professionnels et de proposer ou non leur remboursement par l'assurance maladie* »)⁽⁶¹⁾, et les tests non remboursés par l'assurance maladie qui ne font pas obligatoirement l'objet d'un examen par l'HAS.

Que ce qui n'est pas utile (ou n'a pas encore fait la preuve de son éventuelle utilité) ne doive pas être financé par la collectivité est une excellente chose. Mais ce n'est pas parce que la collectivité n'assure pas le remboursement d'un test (soit que le test n'ait pas été évalué, soit qu'il ne justifie pas qu'il soit remboursé, soit que le fabricant du test n'ait pas fait de demande de remboursement) que les risques éventuels pour le patient ne devraient pas faire l'objet d'une évaluation et d'une régulation (voir chapitre II, A, 1).

Ce qui pourrait être éventuellement dangereux (comme un test non validé donnant un renseignement concernant une maladie grave) ne devrait pas pour autant être automatiquement autorisé sous prétexte que ce n'est pas financé par la collectivité.

Un exemple est celui de la régulation d'autorisation de mise sur le marché des médicaments.

5. Les tests biologiques non invasifs posent-ils des problèmes du même ordre que les médicaments ?

Les médicaments font en principe l'objet de procédures d'autorisation de mise sur le marché rigoureuses, dont l'évaluation du rapport bénéfice/risque (efficacité/effets secondaires), et la comparaison avec d'autres médicaments existants, représentent des critères importants. A partir du moment où le risque potentiel est important, ou n'a pas été évalué, un médicament pour lequel il n'y a pas eu d'études rigoureuses ne sera pas mis sur le marché, même hors remboursement et même sous condition de prescription médicale. Seuls des médicaments pour lesquels les études ont montré qu'il y a peu de risques seront mis sur le marché même si leur bénéfice est faible, voire non évalué, avec ou sans remboursement et avec ou sans nécessité de prescription médicale.

Ainsi, si la prescription médicale est le garant d'une bonne utilisation d'un médicament dont les bénéfices et les risques ont été évalués, la prescription ne tient pas lieu en principe de seul garant pour l'accès à des médicaments potentiellement dangereux dont les bénéfices et les risques n'ont pas été rigoureusement évalués.

Peut-on considérer que des tests biologiques non invasifs, qui par définition ne pénètrent pas dans le corps, posent des problèmes du même ordre que des médicaments qui pénètrent à l'intérieur du corps ?

Les régulations de la FDA en matière de tests biologiques non invasifs⁽³⁴⁾ sont fondées sur cette idée. La raison en est que dans des maladies graves, comme le cancer, les résultats d'un test (s'il a un quelconque intérêt) vont avoir une influence sur la pratique médicale en matière de diagnostic, pronostic et de choix de traitement. Dans ce dernier cas, des renseignements ininterprétables (et qui peuvent donc conduire à des conclusions erronées) fournis par le test

peuvent avoir les mêmes conséquences pour le patient qu'un mauvais choix de traitement (ou qu'un renseignement erroné concernant les effets d'un traitement, et donc les cas où il devrait être prescrit). Pour cette raison, un certain nombre de cancérologues considèrent que « *les études concernant ces marqueurs [des cancers] devraient être aussi rigoureuses que les études contrôlées et randomisées des médicaments parce qu'un mauvais marqueur de tumeur peut être aussi dangereux qu'un mauvais médicament* » (62).

6. Les ambiguïtés de la notion de test « diagnostic ».

Si la Haute Autorité de Santé n'intervient pas dans la régulation de la mise sur le marché de tests biologiques non remboursés par l'assurance maladie, il semble que l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), dont l'une des missions est de « *garantir un haut niveau de sécurité sanitaire tout en favorisant l'innovation quand elle est réelle et répond à des besoins importants des malades* » (63), n'intervient que si ces tests biologiques sont considérés comme jouant un rôle dans l'élaboration d'un diagnostic.

Dans sa version restrictive, la notion de « diagnostic » concerne des résultats permettant d'affirmer ou d'infirmer (autant que faire se peut) la présence d'une maladie donnée ou d'une complication donnée de cette maladie. Si l'on adopte cette définition stricte et restrictive, il est très probable que l'immense majorité des tests actuellement en cours de développement pour mettre en évidence des « biomarqueurs » de maladies graves, dont le cancer, peuvent ne pas entrer dans le champ de cette régulation.

Mais, comme mentionné plus haut (chapitre II, A) d'autres agences de régulation, comme la FDA aux Etats-Unis, donnent à la notion de « tests diagnostiques » une définition beaucoup plus large, qui inclut tout test permettant de mettre en évidence un « biomarqueur » qui sera « *utilisé pour apprécier le risque d'apparition d'un cancer, la présence d'un cancer, le pronostic ou la classification d'un cancer, la surveillance ou l'optimisation d'un traitement.* » (34).

7. Les ambiguïtés de la Directive Européenne 98/79/CE.

Actuellement (à la connaissance du Comité) selon la régulation européenne, un dispositif médical de diagnostic *in vitro* ne peut être mis sur le marché européen que s'il dispose d'un marquage CE, qui implique qu'il est conforme aux exigences de qualité, sécurité et, performances définies dans l'Annexe I de la Directive Européenne 98/79/CE (64). Tant qu'il ne s'agit pas des tests (DMDIV) cités dans l'Annexe 55 de la Directive (tels que les tests réalisés lors de transfusions sanguines, ou un test détectant un « biomarqueur » classique d'un type de cancers, le PSA, pour le cancer de la prostate), qui nécessitent une évaluation par un Organisme Notifié, **la vérification de la conformité aux exigences de la Directive Européenne 98/79/CE est sous la seule responsabilité du fabricant** (il s'agit alors de ce qu'on nomme un automarquage-CE). Tel a été, à la connaissance du Comité, le cas du marquage CE pour le test ISET-Oncologie.

La directive considère, dans son Annexe II, que la mise sur le marché de tests biologiques *in vitro* mettant en évidence dans le sang circulant, par des méthodes classiques, un « biomarqueur » classique comme le PSA, évalué depuis des années (et dont pourtant l'utilité actuellement discutée) nécessite une évaluation par une autorité compétente. Il est donc particulièrement surprenant que des tests dont le but est de mettre en évidence des « biomarqueurs » de découverte beaucoup plus récente, dont les implications sont considérées comme potentiellement beaucoup plus importantes et plus vastes, mais dont la signification a

fait l'objet de peu – ou pas – de recherches significatives ne nécessite pas cette évaluation par une autorité compétente, et que la vérification de sa conformité aux exigences de qualité, de sécurité, et de performances, et le marquage CE, soit laissée à la seule responsabilité du fabricant.

8. Un exemple de l'ambiguïté des frontières entre recherche et soins : « les recherches visant à évaluer les soins courants ».

Dans le cadre de la loi du 9 août 2004 *relative à la politique de santé publique* qui a modifié en partie le régime juridique des recherches biomédicales, il a été prévu dans l'article L. 1121-1 du Code de Santé Publique (point n°2) que les dispositions relatives aux recherches biomédicales ne s'appliquent pas aux « *recherches visant à évaluer les soins courants, autres que celles portant sur les médicaments, lorsque tous les actes sont pratiqués et les produits utilisés de manière habituelle mais que des modalités particulières de surveillance sont prévues par un protocole* » (65). L'article R 1121-3 ajoute qu'il s'agit de « *recherches dont l'objectif est d'évaluer des actes, combinaisons d'actes ou stratégies de prévention, de diagnostic ou de traitement qui sont de pratique courante, c'est-à-dire faisant l'objet d'un consensus professionnel dans le respect de leurs indications* ». Les décrets d'applications ne sont pas encore tous parus. Mais même dans cet exemple où la distinction entre recherche et pratique médicale tend à diminuer, exemple dont l'ambiguïté a été récemment discutée (65), il s'agit pour les praticiens/chercheurs de se mettre en condition de pouvoir « *évaluer* » les résultats, et il est prévu que le projet devrait être soumis à, et recevoir un avis favorable d'un Comité de Protection des personnes (CPP). Il ne s'agit donc pas, même dans ce cas, d'une simple confusion entre recherche et médecine de soin.

9. Réflexions d'ordre général liées au cas particulier de la saisine.

Les ambiguïtés entre la notion de machine, de procédé, de dispositif, et de test.

Le test ISET-Oncologie doit-il être considéré comme un test, comme un procédé, comme un dispositif, ou comme une machine (avec ses réactifs) ? Bien que le terme utilisé jusqu'à présent dans cet avis ait été celui de test, le Comité pense que la question mérite d'être discutée.

S'il s'agissait d'une machine (et de réactifs) d'usage très général (comme par exemple c'est le cas pour un cytofluoromètre de flux, un appareil d'amplification génique, ou un microscope), alors il semble au Comité (qui n'a pas étudié cette question d'un point de vue juridique) qu'il s'agit avant tout d'une machine. Dans ce cas, il semble au Comité que l'usage particulier qui en serait fait ou non dans le domaine de la recherche clinique ou de la médecine de soin ne serait pas de la responsabilité (d'un point de vue éthique tout du moins) du fabricant. La responsabilité (d'un point de vue éthique) du fabricant concernerait uniquement les performances et la sécurité de la machine, en l'occurrence l'isolement par filtration de cellules dont la taille dépasse un diamètre donné. La responsabilité (d'un point de vue éthique) de décider si l'utilisation médicale éventuelle doit se faire dans le cadre de recherches cliniques rigoureuses ou de la médecine de soin, et la responsabilité (d'un point de vue éthique) de s'assurer que des études cliniques permettant une validation ont eu lieu ou auront lieu avant un usage dans la médecine de soin reviendrait au laboratoire qui a acquis la machine (et les réactifs) et qui en a l'usage.

En revanche, s'il s'agissait d'une machine (et de réactifs) définis et vendus avec la spécification d'une utilisation médicale particulière, il semble au Comité qu'il s'agit plutôt d'un test, et que la responsabilité (d'un point de vue éthique) de s'assurer que des études

cliniques permettant une validation ont eu lieu ou auront lieu avant un usage dans la médecine de soin reviendrait au fabricant qui met la machine (et les réactifs), c'est-à-dire le test sur le marché.

Les ambiguïtés de la dénomination.

Le nom, ISET-Oncologie, semble au Comité non dénuée d'ambiguïté. En effet, comme mentionné au début de cet avis, le nom *ISET* est l'acronyme de *Isolation by Size of Epithelial Tumor Cells* (Isolement par la taille de cellules tumorales d'origine épithéliale) ou de *Isolation by Size of Trophoblastic Cells* (isolement par la taille de cellules trophoblastiques, c'est-à-dire de cellules d'origine fœtales), les deux utilisations brevetées, qui concernent la détection dans le sang (ou d'autres liquides biologiques) soit de cellules tumorales d'origine épithéliales, soit, chez une femme enceinte, de cellules d'origine fœtale. Les filtres vendus sont calibrés pour laisser passer les cellules sanguines normales. Le suffixe *Oncologie* dans le nom *ISET-Oncologie* spécifie l'utilisation dans le domaine de la cancérologie. Il semble donc s'agir non pas d'une machine aux usages multiples et généraux, mais d'un procédé mis au point et vendu pour un usage précis : détecter un « biomarqueur » particulier.

Ainsi, d'une part, le nom suggère que le test permettra d'isoler des cellules cancéreuses circulantes. Mais, d'autre part, seule une analyse ultérieure (cytopathologique, protéique, génétique...) permettra d'essayer de déterminer la nature cancéreuse, ou non cancéreuse, de la, ou des cellules.

Il semble qu'une dénomination plus neutre, comme *Isolement à partir du Sang circulant de Cellules de Grande Taille*, serait beaucoup moins ambiguë.

Enfin, il faut aussi noter à ce sujet qu'un laboratoire privé d'analyse biologique peut très bien participer, s'il le souhaite et en a la compétence, à des recherches cliniques multicentriques de validation. La décision de proposer l'utilisation de la machine/procédé/dispositif/test... dans le cadre de sa participation à un programme de recherches ou dans le cadre de la médecine de soin est un choix qui, sur le plan éthique, engage sa responsabilité.

Encore une fois, il ne s'agit pas pour le Comité d'essayer de démêler les responsabilités éventuellement impliquées dans la réalisation chez des patients de tests non rigoureusement évalués et validés concernant une maladie grave, mais de souligner les problèmes éthiques que pose la mise sur le marché de tels tests dans le cadre de la médecine de soin.

La question des modalités de validation et de mise sur le marché du test ISET pour le diagnostic prénatal des maladies génétiques et de la trisomie 21.

Une deuxième famille de brevets couvre l'utilisation du test ISET pour l'isolement puis l'analyse, dans un prélèvement de sang d'une femme enceinte, de cellules fœtales circulantes (4). Cette utilisation permet de faire, à partir de cellules isolées sur leur grande taille, une étude des chromosomes et/ ou des gènes, à la recherche soit d'anomalies chromosomiques, indiquant l'existence, par exemple, d'une trisomie 21 (66), soit de mutations génétiques, telles que celles qui caractérisent la mucoviscidose (6), l'amyotrophie spinale (5), ou, en principe, toute autre maladie ou facteur de risque pour une maladie liée à la présence des séquences génétiques particulières. L'avantage de cette approche est qu'elle ne nécessite pas la pratique d'une amniocentèse, aujourd'hui indispensable pour faire le diagnostic, et dont le risque est de provoquer dans environ 1% des cas une fausse-couche en raison même du geste diagnostic. La question, comme pour le test ISET-Oncologie, est donc de savoir quelles études de validation seront nécessaires avant que le test soit utilisable dans le cadre de la pratique médicale de soin. Il s'agit là encore de maladies graves, le résultat en l'occurrence pouvant conduire à une décision des parents de demander une interruption de la grossesse. On peut imaginer les conséquences au cas où le test poserait des problèmes, non rigoureusement

évalués, de spécificité (existence de résultats faussement positifs) ou de sensibilité (résultats faussement négatifs).

Mais dans ce cas, plus encore que dans le cas d'ISSET-Oncologie, la machine/procédé/test... ne fait que permettre l'isolement de cellules fœtales éventuellement présentes dans le prélèvement de sang. La détermination de leur origine fœtale, et la recherche d'éventuelles anomalies chromosomiques ou de mutations génétiques s'effectue en aval.

De plus, contrairement aux tests visant à détecter des « biomarqueurs » des cancers, la régulation en matière de diagnostic prénatal, et d'analyses génétiques, est beaucoup plus stricte dans nos pays, et les modalités de validation avant mise sur le marché, et les modalités d'accès au test seraient probablement très différentes.

Néanmoins, la multiplication des offres d'analyse génétique à partir de cellules (ou d'ADN) foetal circulant à partir d'un prélèvement de sang de la mère envoyé à un laboratoire dans un pays européen autre que le nôtre, à partir d'un site Internet, va probablement s'amplifier, comme en témoigne la proposition récente d'une entreprise de biotechnologie anglaise de réaliser, par ce type d'approche, une détermination précoce du sexe du fœtus, à partir de la 6^{ème} semaine de la grossesse (67), ou comme en témoignent, dans un autre domaine, les offres de réalisation d'un test de paternité (y compris avant la naissance de l'enfant...) (68) (voir aussi (7)).

Il semble donc important de réfléchir, d'une manière très générale, à une régulation, au moins au niveau européen, qui permette d'harmoniser les conditions de validation, d'autorisation de réalisation, et d'accès à de tels tests biologiques, et d'informer l'ensemble de la société sur leurs avantages éventuels et leurs risques.

B. Le problème des finalités de la recherche publique dans le cadre des partenariats public-privé.

Indépendamment de la question des modalités souhaitables de régulation en aval, avant mise sur le marché, des tests biologiques concernant des maladies graves, le Comité considère qu'une autre dimension importante de la réflexion concerne le rôle de garant de l'intérêt public et de la protection des patients que pourraient jouer, en amont, les chercheurs impliqués et leurs institutions de recherche publiques quand il s'agit d'applications à visée médicale des avancées de la recherche publique.

La mission des chercheurs des institutions publiques de recherche dans le domaine des sciences du vivant et de la médecine est en effet la production et la diffusion de connaissances permettant de comprendre, prévenir, dépister, diagnostiquer et traiter les maladies, et, plus généralement de préserver la santé. Pourtant, si la recherche publique fait la preuve depuis longtemps, à un niveau national comme à un niveau international, de sa capacité à faire émerger des découvertes et des connaissances nouvelles, la capacité d'innovation et de développement permettant de faire passer ces découvertes à un stade d'application utilisable, notamment dans le cadre de la médecine – étape de développement auquel on donne souvent le nom de valorisation – est souvent plus une compétence du secteur privé.

La loi n°99-587 du 12 juillet 1999 *sur l'innovation et la recherche* a incité, par un ensemble de dispositions, le transfert de technologies de la recherche publique vers l'économie et la création d'entreprises innovantes, et a rendu possible et encouragé une participation des chercheurs du secteur public à la création de ces entreprises.

Dans ce contexte, le Comité considère utile de réfléchir à certaines questions éthiques que soulèvent ces modalités de partenariats public-privé.

1. Les ambiguïtés de la notion de « valorisation ».

L'investissement privé peut jouer un rôle essentiel pour favoriser l'innovation, le développement, le co-financement de la validation, et la possibilité de mise sur le marché de découvertes potentiellement importantes de la recherche publique dans le domaine de la santé. Le passage de la prise de brevets et de la propriété intellectuelle à la propriété industrielle est considéré comme un moyen important pour stimuler l'innovation par la garantie qu'elle offre en matière de retour sur investissements aux industriels. Sans aborder une réflexion sur la complexité et les implications de cette notion (mais on peut voir, pour une discussion dans un cas particulier, l'avis n° 93 du CCNE de novembre 2006) (68), il est important de distinguer, dans la notion de « valorisation », deux notions souvent complémentaires, mais parfois antagonistes. La première est la valorisation financière, c'est-à-dire le retour sur investissements et les bénéfices ; la seconde est la valorisation en matière de santé, c'est-à-dire les bénéfices pour la prise en charge des patients ou la prévention des maladies.

Le Comité considère qu'il est essentiel, en particulier pour des chercheurs et des institutions de recherche publique, **de pouvoir faire en sorte que la valorisation financière et économique soit au service de la valorisation en matière de santé, et non l'inverse**. En d'autres termes qu'il est essentiel que les découvertes dues à la recherche financée par la collectivité, quand elles font l'objet pour leur développement de partenariats avec des entreprises privées, soient développées dans un souci constant de bien public. Et que le rôle des partenaires privés ne se réduise pas à essayer simplement de vendre les applications de la recherche, ou de réaliser de simples améliorations techniques, mais de participer au développement optimal de leur utilité clinique.

Pour cette raison (et indépendamment des clauses d'accord juridiques particulières qui peuvent être négociées lors de l'établissement de tels partenariats pour l'attribution de licences sur des brevets ou d'autres formes de coopération) **le Comité pense qu'il serait souhaitable d'engager une réflexion pour permettre que les institutions de recherche publique disposent d'un droit de regard** (ou d'un droit de faire appel à une autorité indépendante) **sur les modalités de validation avant mise sur le marché des applications des découvertes de leurs chercheurs**, notamment quand ces applications concernent des maladies graves.

2. L'encouragement au métier de chercheur/entrepreneur : entre valorisation et risque de conflit d'intérêt.

La loi du 12 juillet 1999 *sur l'innovation et la recherche* a favorisé une participation des chercheurs du secteur public à la création d'entreprises dans le but d'encourager le développement d'applications de ses découvertes qui puissent être mises sur le marché.

Si ces activités peuvent être utiles et productives en termes de santé, on peut aussi s'interroger sur leurs limites.

Autant il peut apparaître légitime qu'un chercheur perçoive des retombées financières sur les applications de ses découvertes (c'est une des raisons d'être de la propriété intellectuelle),

autant la participation à la création et au fonctionnement d'entreprises travaillant à valoriser ses découvertes peut poser plusieurs types de problèmes.

Le premier est celui des conflits d'intérêt, c'est-à-dire la difficulté éventuelle à analyser sereinement ses résultats quand par ailleurs les chercheurs ont une implication personnelle d'ordre financier. La difficulté de déterminer quelles seraient dans ces cas les modes de fonctionnement le plus conforme à l'éthique a été illustrée récemment par un revirement complet de la position des NIH (National Institutes of Health) des Etats-Unis en la matière. Initialement, les NIH demandaient à leurs chercheurs de déclarer tout conflit potentiel d'intérêt dans leurs publications scientifiques et leurs interventions (ce qui est désormais la règle pour toutes les publications scientifiques et médicales internationales de qualité, et les commissions d'experts). En d'autres termes, ce n'est pas l'existence d'un conflit d'intérêt qui est considéré comme un problème éthique, mais son absence de déclaration, qui empêche les lecteurs ou les partenaires de disposer de cette information. Pourtant, plus récemment, les NIH ont décidé que c'était l'existence même d'un conflit qui posait problème, et ont demandé à tous leurs chercheurs (et à leur famille proche) de se défaire de tous liens financiers de toute sorte avec des entreprises privées à but lucratif qui exercent une activité dans un domaine de biologie ou de médecine proche de leur sujet de recherche.

Le Comité n'entend pas, ici, discuter de la position la plus souhaitable d'un point de vue éthique dans ce domaine (il a engagé, par ailleurs, une réflexion de fond sur la notion de conflit d'intérêt). Le Comité souhaite simplement souligner que les problèmes posés par la participation de chercheurs d'institutions publiques à des entreprises privées qui valorisent leurs découvertes n'est pas un problème simple, et mérite de la part de tous les acteurs une réflexion approfondie.

3. Développer le métier de chercheur/entrepreneur ou développer le métier d'intermédiaire ? L'exemple de l'écrivain, de l'éditeur et de l'agent littéraire.

Imaginons que l'histoire qui suit se déroule avant l'invention d'Internet, qui permet aujourd'hui de mettre un manuscrit en ligne. Un écrivain, pour « valoriser » son œuvre, pourrait soudain décider de créer une petite maison d'édition qui publiera son manuscrit. Il n'est pas sûr que l'aider à créer une maison d'édition soit le meilleur moyen de parvenir à ses fins : rendre son manuscrit accessible à des lecteurs...

La démarche habituelle consiste à envoyer son manuscrit à des éditeurs, qui, s'ils pensent qu'il peut être mis sur le marché, lui offriront de le faire, et lui proposeront un contrat et des conditions très variables, qui ne seront évidemment *a priori* pas les mêmes que s'il était lui-même créateur ou participant à la maison d'édition. Mais une autre démarche, très rare dans notre pays, mais très fréquente dans les pays anglo-saxons, consiste pour l'écrivain à contacter un agent littéraire, qui, s'il est convaincu de l'intérêt du livre, négociera avec les maisons d'éditions les meilleures conditions possibles, étant lui-même rétribué au pourcentage sur les contrats et les ventes.

Le développement d'une application utile de la recherche biomédicale est d'une toute autre difficulté et complexité, et demande des compétences, des investissements, et une durée sans commune mesure aucune avec l'édition d'un livre. Et le but n'a non plus rien de commun : il s'agit de mieux prendre en charge des patients ou de préserver la santé.

Mais il est intéressant de réfléchir un instant que dans un domaine aussi simple que celui de l'édition d'un livre, ce n'est pas la création ni la participation d'un auteur à une entreprise qui

valorisera sa création qui représente la solution la plus efficace, mais la mise en contact avec des intermédiaires dont le métier est de faire en sorte de trouver les partenaires les plus désireux d'effectuer cette valorisation, et de les amener à négocier les conditions les plus favorables possibles à l'auteur.

Dans un domaine – la valorisation et la validation des recherches biomédicales – qui requiert la mise en place de partenariats nombreux et divers – équipes de chercheurs qui valideront la reproductibilité et la standardisation d'un test, équipes de cliniciens qui s'engageront dans une étude prospective multicentrique de validation de la signification et de l'utilité clinique du test, organismes et fondations publics nationaux ou internationaux qui donneront des crédits de recherche et de développement, industriels qui investiront de l'argent et réaliseront les innovations et développements nécessaires... – un effort visant à favoriser l'émergence d'intermédiaires disposant d'une compétence multidisciplinaire et capables de susciter et de négocier ces partenariats (en accordant aux institutions de recherche publique un rôle de garants du bien public, voir plus haut) est peut-être à terme une démarche plus souhaitable pour tous qu'un encouragement fort donné aux chercheurs de devenir eux-mêmes des entrepreneurs.

Telle est la vocation de structures de valorisation comme Inserm-Transfert pour ce qui concerne les recherches réalisées à l'Inserm. Mais elles pourraient prendre une toute autre dimension si elles étaient conçues comme une alternative, et non un complément, au métier de chercheur/entrepreneur.

4. Réflexions d'ordre général liées au cas particulier de la saisine.

Comme exposé au début de cet avis, le Comité ne considère pas de l'ordre de sa mission, ni de l'ordre de ses compétences d'intervenir dans les questions concernant les aspects particuliers de cette saisine, ni de proposer des modalités précises pour résoudre la situation. Les remarques qui suivent sont simplement des réflexions générales que suscite cette situation particulière.

Actuellement, Inserm-Transfert a suspendu la signature, avec *Metagenex*, de l'avenant au contrat de licence correspondant à la deuxième famille de brevets. D'un point de vue de la réflexion éthique, le Comité considère que toute solution qui aboutirait à ce que le test ne soit pas proposé dans le domaine de la médecine de soin avant d'avoir fait l'objet d'une validation clinique appropriée est souhaitable. Mais déterminer si cette solution devrait éventuellement prendre la forme de l'introduction par Inserm-Transfert, dans l'avenant, de clauses indiquant la nécessité, et les modalités, d'une telle validation est une question juridique qui n'est pas du ressort des compétences ni de la mission du Comité.

Le Directeur Général de l'Inserm est, à ce titre, président du conseil de surveillance d'Inserm Transfert, qui est lié à l'Inserm par une convention de délégation de service public. Le Directeur Général de l'Inserm est par ailleurs époux du Pr Paterlini-Bréchet, qui détient des parts dans *Metagenex*, est l'inventeur principal du brevet concernant le test ISET, et a saisi le Comité à propos des modalités de validation et de mise sur le marché du test.

Cette situation de risque de conflit d'intérêt, à partir du moment où elle est déclarée et connue, n'enlève rien *a priori* à la validité de toutes les analyses et recommandations que pourrait faire le Directeur Général dans ce domaine (voir plus haut), ni à toutes les décisions qu'il pourrait prendre. Néanmoins, le Comité considère que la solution la plus souhaitable pour tous, d'un point de vue éthique, serait une délégation par le Directeur Général à une

personnalité indépendante, informée de son analyse et de ses recommandations, de la gestion des décisions concrètes dans le domaine des relations entre l'Inserm, Inserm-Transfert et *Metagenex*. Une telle approche ne pourrait que renforcer la liberté de l'Inserm, et d'Inserm-Transfert, dans sa volonté, que le Comité considère légitime, d'un point de vue éthique, d'agir en garant du bien public et de la protection des patients et de la santé.

Enfin, si lors des négociations initiales, il y a plusieurs années, entre Inserm-Transfert et *Metagenex*, des juristes avaient introduit, au nom de l'Inserm, des clauses restrictives spécifiant que le développement du test ISET-Oncologie devrait impliquer des recherches cliniques permettant de valider le test avant sa mise sur le marché dans le cadre de la médecine de soin, et spécifiant la nature des recherches nécessaires et des critères de validité (voir chapitre II, A, 1), le problème ne se poserait pas aujourd'hui. Et s'il se posait, ce serait non pas sous la forme d'un questionnement éthique, mais sous la forme d'un problème juridique de respect d'un contrat.

Il apparaît donc important que lors de la signature de contrats de ce type, **les institutions de recherche publique s'assurent de toutes les garanties juridiques qu'elles croient nécessaires pour la meilleure utilisation possible des applications en matière de protection des patients et de la santé.**

Néanmoins, le Comité considère, comme déjà mentionné plus haut, que **les modalités de négociation des contrats au cas par cas ne peuvent apporter la meilleure solution au problème général de la protection des patients.**

Tant qu'il n'existe pas de régulation par des autorités indépendantes de la mise sur le marché de tests biologiques (non remboursés par l'assurance maladie) concernant des maladies graves, **la reconnaissance aux responsables des instituts de recherche d'un droit de regard (ou d'un droit de faire appel à une autorité indépendante) sur les modalités de validation avant mise sur le marché** des applications des découvertes de leurs chercheurs, notamment quand ces applications concernent des maladies graves, **offrirait les meilleures garanties en matière de protection de la santé.**

D'une manière générale, le Comité considère qu'il est de la plus grande importance d'engager une **réflexion approfondie et rigoureuse**, d'une part, **sur les conditions de validation et d'autorisation de mise sur le marché, et d'utilisation, des tests biologiques donnant des renseignements concernant une maladie grave**, surtout quand ces résultats sont susceptibles d'influencer la démarche diagnostique ou pronostique, la surveillance, ou le traitement de cette maladie. Et d'autre part **sur les conditions permettant aux chercheurs et aux instituts de recherche publics d'agir en garants de l'intérêt public dans le cadre des partenariats public-privé** qui visent à développer et à rendre accessible les applications de la recherche afin de mieux prendre en charge les malades et de préserver la santé.

Cette réflexion devrait impliquer non seulement les institutions de recherche publiques, les chercheurs, médecins, industriels, les agences de régulation, et leurs tutelles mais aussi **les associations de malades** dont le rôle est de plus en plus important dans l'élaboration de règles de conduites qui assurent au mieux la protection du patient.

Dans l'attente d'une telle démarche – et à l'avenir, si ces réflexions aboutissaient à la décision de ne pas exercer de régulation en amont sur les modalités de validation et de la mise sur le marché de tels tests biologiques – le Comité considère qu'**il serait important que des institutions publiques indépendantes puissent assurer la diffusion**, auprès des associations de malades, des professionnels de santé, et de l'ensemble de la société, **d'informations sur les risques éventuels que feraient courir le recours à – et l'interprétation – des résultats fournis par des tests non validés donnant des renseignements concernant des maladies**

graves. La responsabilité implique la liberté de choisir. La liberté de choisir implique l'accès à des informations fiables et indépendantes. **C'est là le principe même du consentement libre et informé.**

Propositions.

Le cas particulier qui a fait l'objet de cette saisine révèle la facilité avec laquelle on peut passer de l'élaboration, par un laboratoire de recherche public, d'un test biologique nouveau concernant une maladie grave, à sa valorisation industrielle, puis à sa mise sur le marché dans un laboratoire d'analyses biologiques de ville, à sa prescription par des médecins et à son utilisation dans le cadre de la médecine de soin... sans qu'intervienne, à aucune de ces étapes, ni des recherches cliniques rigoureuses permettant une validation du test, ni une appréciation de ses bénéfices éventuels et de ses risques, ni aucune étape d'évaluation par une instance éthique de protection des personnes ni par une autorité indépendante, ni aucun processus de consentement libre et informé de participation à une recherche.

Indépendamment de ce cas particulier, le Comité d'éthique de l'Inserm considère que la facilité avec laquelle semble s'être réalisé ce glissement, la continuité apparente dans laquelle s'est inscrite cette cascade d'évènements a valeur d'exemple, et pourrait à l'avenir concerner un nombre très important de nouveaux tests biologiques concernant une série de maladies ou de handicaps graves.

C'est dans l'espoir de favoriser une prise de conscience de la dimension éthique de ce problème, et le développement d'une réflexion collective permettant de trouver les moyens de le résoudre que le Comité formule les propositions suivantes.

1. Pour un respect de la distinction entre recherche clinique et médecine de soin, et de la protection des personnes participant à une recherche.

Les avancées de la recherche biomédicale conduisent un développement croissant et de plus en plus rapide de tests biologiques visant à apporter des renseignements utiles concernant des maladies ou handicaps graves, ou l'existence de facteurs de risque plus ou moins importants de développer ces maladies ou handicaps.

Ces avancées de la recherche sont sources d'espoir de pouvoir à l'avenir mieux prendre en charge les malades et mieux préserver la santé.

Mais si les tests biologiques nouveaux font l'objet d'une mise sur le marché dans le cadre de la médecine de soin sans avoir été au préalable évalués par des études rigoureuses de recherche clinique, le risque est grand de voir s'établir une confusion croissante entre recherche biomédicale et médecine de soin. Cette confusion aboutirait à une régression par rapport aux règles de protection de la personne participant aux recherches qui ont été mises en place au niveau international depuis 60 ans, et qui ont commencé à faire l'objet de mesures législatives dans notre pays il y a près de 20 ans.

Le Comité considère qu'une absence de distinction entre recherche clinique et médecine de soin soulève en effet à la fois des problèmes d'ordre scientifiques et médicaux – en empêchant une évaluation de l'intérêt éventuel de ces tests pour de futurs patients, et donc en freinant le progrès des connaissances médicales – et des problèmes d'ordre éthique – en

privant les personnes chez qui sont pratiquées ces tests de la protection requise pour des personnes participant à des recherches. Une telle confusion a aussi des implications légales et juridiques, la protection de la personne dans le cadre de la médecine de soin relevant des dispositions de la loi du 4 mars 2002, alors que la protection de la personne participant à une recherche relève des dispositions d'autres lois, dont la loi de 2004, modifiant la loi de 1988, et éventuellement d'autres lois telles que la loi de bioéthique.

Le Comité recommande que la notion de consentement libre et informé à participer à une recherche, et l'évaluation de la recherche par un Comité de Protection des Personnes (CPP) ou par un Institutional Review Board au niveau de l'institut de recherche (comme le Comité de Qualification Institutionnel de l'Inserm) soit la règle lorsqu'il s'agit de l'utilisation de test biologiques concernant des maladies ou handicaps graves, ou des facteurs de risque pour ces maladies ou handicaps, qui n'ont pas fait l'objet d'une évaluation et d'une validation rigoureuse.

Le Comité considère que cette question devrait être une préoccupation majeure de l'ensemble des acteurs impliqués dans le développement et l'utilisation de tests biologiques nouveaux visant à apporter des renseignements concernant des maladies ou handicaps graves, ou des facteurs de risque de développer ces maladies ou handicaps : législateur, pouvoirs publics, agences de régulation, instituts de recherche, chercheurs, institutions de valorisation, industriels, laboratoires d'analyse biologique, hôpitaux et cliniques, médecins, patients....

Une réflexion collective, impliquant les associations de patients et de personnes handicapées, et des représentants de la société civile, devrait permettre d'aboutir à une responsabilisation de tous les acteurs, et d'établir des règles claires de distinction entre recherche biomédicale et médecine de soin, distinctions indispensables à la fois au progrès des connaissances utiles à la santé, et à la protection de la personne chez qui des tests non encore validés par des études rigoureuses sont réalisés.

En ce qui concerne l'Inserm, cette réflexion devrait impliquer le Comité d'éthique et le Comité de Qualification Institutionnel, le Département de recherche Clinique et thérapeutique (DRCT), le Service Juridique, le Conseil scientifique, ainsi que les associations de malades, de personnes handicapées et de leurs familles avec lesquelles l'INSERM a établi depuis quelques années de nombreux liens, dans le cadre du GRAM (Groupe de réflexion avec les Associations de Malades), la Mission INSERM Associations, qui coordonne les relations entre l'INSERM et les associations de personnes malades et les personnes handicapées.

En ce qui concerne l'ensemble des instituts publics de recherche biomédicale, le Comité propose que les instances scientifiques et les instances éthiques de ces institutions (Inserm, CNRS, IRD, AP-HP...), actuellement réunies dans le cadre d'un réseau informel de réflexion éthique, puissent élaborer ensemble une réflexion et des recommandations, éventuellement en concertation avec le CCNE, pour développer des actions de sensibilisation à ces problèmes et favoriser l'élaboration de régulations permettant de les résoudre.

2. Pour la mise en place de régulations permettant une évaluation et une validation adéquates des tests biologiques concernant des maladies et handicaps graves avant leur mise sur le marché dans le cadre de la médecine de soin.

Les agences indépendantes de régulation, comme l'HAS et l'Afssaps, ont des champs d'intervention respectifs qui peuvent laisser un grand nombre de tests biologiques nouveaux dans une forme de *no man's land* en matière de validation et d'autorisation de mise sur le marché. C'est le cas, comme mentionné dans cet avis, des tests pour lesquels un remboursement par l'assurance maladie n'est pas demandé (ou accordé), et qui ne rentrent pas dans une définition restrictive de « test diagnostique ». Cette catégorie pourrait concerner un très grand nombre de nouveaux tests biologiques actuellement développés pour apporter des renseignements concernant des maladies ou handicaps graves, ou des facteurs de risques pour ces maladies et handicaps, et dont les résultats peuvent avoir des implications (non validées) en matière de prise en charge ou de traitement.

Le Comité considère qu'il serait important qu'une coordination puisse être mise en place entre ces différentes agences de régulation pour permettre d'évaluer le nombre et le type de tests biologiques dans cette situation, et qu'une réflexion soit développée pour permettre une régulation de leur mise sur le marché. A défaut, une information accessible devrait être fournie sur les risques que pourraient faire courir l'utilisation de ces tests dans la médecine de soin.

En ce qui concerne la régulation européenne, le Comité considère qu'une réflexion devrait être engagée à propos de la Directive Européenne 98/79/CE, dans le but de redéfinir clairement les caractéristiques des nouveaux tests biologiques requérant pour autorisation de mise sur le marché, et marquage CE, une évaluation par des instances de régulation indépendantes, et ceux qui pourraient bénéficier d'un « automarquage CE » par le fabricant (qui ne devrait être envisageable que pour des tests ne concernant que des problèmes de santé sans gravité).

Une réflexion concernant la Directive Européenne 2001/20/EC, qui est actuellement en cours, devrait permettre d'harmoniser aussi la régulation en matière d'essais cliniques, et en particulier de définir clairement la protection des personnes participant aux études de recherche clinique impliquant des tests biologiques.

3. Pour une régulation des partenariats public-privé qui permette de respecter au mieux l'intérêt public.

Le Comité considère qu'il est essentiel, en particulier pour des chercheurs et des institutions de recherche publique, de pouvoir faire en sorte que la valorisation financière et économique soit au service de la valorisation en matière de santé, et non l'inverse.

Le Comité recommande que la plus grande attention soit accordée par les institutions de recherche publique – lors de négociations avec des partenaires privés dans le but de valoriser et de développer des applications de la recherche, et en particulier lors de la négociation et de la rédaction des contrats de licence – aux clauses garantissant qu'une évaluation et une

validation rigoureuse des bénéfices cliniques éventuels et des risques des tests biologiques sera réalisée, quand cela apparaît nécessaire, et aux modalités précises de cette validation.

Le Comité considère essentiel qu'un effort de sensibilisation à cette question soit entrepris d'une manière générale auprès des chercheurs, et plus particulièrement au niveau des services de valorisation et les services juridiques des instituts de recherche.

Au niveau de l'Inserm, cette effort de sensibilisation devrait impliquer, la participation des instances scientifiques et éthiques, ainsi que, comme mentionné plus haut, des associations de malades, de personnes handicapées et de leurs familles, du GRAM et de la Mission Inserm Associations.

Le Comité d'Éthique avait proposé il y a un an que des *Chartes éthiques de communication* (7) soient établies dans le cadre des collaborations entre institutions publiques de recherche ou fondations d'intérêt public et entreprises à but lucratif, en particulier quand ces collaborations concernent des recherches sur des maladies graves. L'objectif de telles *Chartes éthiques* était de garantir aux professionnels de santé, aux patients, et à l'ensemble de la société une information scientifique et médicale indépendante et validée, soucieuse de l'intérêt public.

Le Comité propose l'élaboration, pour de tels partenariats publics-privé, de *Chartes éthiques concernant les prérequis de validation des tests biologiques avant mise sur le marché*, qui permettront de fixer les principes généraux qui s'appliqueront lors du développement de tests biologiques concernant des maladies ou handicaps graves, ou des facteurs de risque pour le développement de ces maladies ou de handicaps graves.

D'une manière plus générale, et dans l'attente de l'élaboration d'une régulation de la validation et de la mise sur le marché de tests biologiques concernant des maladies ou handicaps graves, ou des facteurs de risque pour ces maladies ou handicaps, **le Comité considère qu'il est important qu'un Institut de recherche biomédicale puisse agir en tant que garant de l'intérêt public dans le cadre des partenariats public-privé.** Des dispositions devraient être prises qui permettent dans de tels cas à l'institut de recherche de saisir, de manière suspensive, une autorité indépendante pour statuer sur un problème de validation de test biologique avant mise sur le marché.

En conclusion, le Comité insiste sur l'importance de mettre en place une régulation en amont qui permette au mieux la distinction entre recherche biomédicale et médecine de soin, et assure à la fois la protection de la personne et le développement des connaissances médicales et de la qualité des soins. Le Comité insiste aussi sur l'importance d'essayer d'harmoniser cette régulation au niveau européen.

L'alternative est de laisser la régulation s'effectuer en aval par le marché et les actions en justice. Le Comité considère que dans un domaine aussi important que la préservation de la santé, **il vaut mieux prévenir qu'essayer *a posteriori* de corriger les erreurs.** Il est important de rappeler à ce sujet (voir chapitre II de cet avis) qu'un pays aussi attaché à l'initiative privée, à l'innovation, à la valorisation économique et financière des applications de la recherche, et au règlement judiciaire des conflits que les Etats-Unis a mis en place une régulation en amont de la validation et de la mise sur le marché des tests biologiques concernant les maladies graves, et les facteurs de risque pour ces maladies (dont les cancers)

qui apparaît au Comité comme particulièrement soucieuse de la distinction entre recherche biomédicale et médecine de soins, de l'évaluation de l'intérêt et des risques de ces tests pour la santé, et de la protection de la personne.

Le Comité considère que ce qui est en jeu, à terme, est rien moins que la confiance de la société dans sa recherche biomédicale, et en particulier de sa recherche publique, et plus généralement, dans son système de santé.

Références Bibliographiques.

1. *Am J Pathol* (2000)156 : 57
2. *Hepatology* (2004) 39 : 792
3. *Cancer Lett* (2007) 253: 180
4. *Am J Pathol* (2002) 160: 51
5. *Lancet* (2003) 361 : 1013
6. *Prenat Diagn* (2006) 26 : 906
7. Comité d'éthique de l'Inserm. Avis concernant l'annonce de la commercialisation prochaine d'un test génétique de diagnostic précoce de l'autisme. *INSERM Actualités* n°199, (Mai 2006). <http://www.inserm-actualites.com/index.php?id=506>
8. *Pediatrics* (1956) 18 : 643
- 9.
10. *Nature Rev Cancer* (2007) 7 : 508
11. *Science* (2006) 312 : 1175
12. *Science* (2006) 312 : 1162
13. *Science* (2006) 312: 1165
14. *Nature genet* (1999) 21 : 163
15. *Nature Rev Cancer* (2007) 7 : 531
16. *Nature Rev cancer* (2007) 7 : 213
17. *Nature* (2001) 414 : 105
18. *Nature Rev cancer* (2003) 3 : 895;
19. *Curr Opin Genet Dev* (2004) 14 : 43
20. *Cell* (2005) 123 : 1001
21. *N Engl J Med* (2004) 351 :2159
22. *Science* (2006) 312 : 1171
23. *N Engl J Med* (1971) 285 : 1182
24. *N Engl J Med* (2004) 350 : 2335
25. *Nature* (2007) 446 : 765
26. *Lancet* (1889) 1 : 571
27. *Nature Rev Cancer* (2003) 3 : 1
28. *Nature Rev Cancer* (2006) 6: 449
29. *Nature* (2002) 415 : 530
30. *Science* (1999) 286 : 531
31. *Nature* (2000) 406 : 747
32. *Nature Genet* (2003) 33 : 49
33. *Nature Rev Cancer* (2007) 7: 545
34. *Nature Rev Cancer* (2006) 6: 565
35. *Nature Biotechnol* (2006) 24 : 1151
36. *Exp hematol* (1995) 23 : 1062
37. *J Haematother* (1997) 6 : 103
38. *N Engl J Med* (2000) 342: 525
39. *Cancer Res* (1977) 37 : 646
40. *Cancer Res* (1993) 53 : 2472
41. *Cancer Res* (1999) 59 : 71
42. *Cancer Res* (2003) 63 : 7641
43. *J Clin Invest* (2006) 116: 271
44. *Nature Rev Cancer* (2006) 6: 961

45. *PNAS* (1995) 92 : 537
46. *Exp Hematol* (1995) 23 : 1062
47. *PNAS* (1998) 95 : 4589
48. *PNAS* (2007) 104: 11760
49. *J Clin Oncol* (2002) 20 : 3404
50. *N Engl J Med* (2004) 351: 781
51. *J Clin Oncol* (2005) 23 : 1420
52. *Nature Rev Cancer* (2006) 6: 146
53. *Lancet Oncology* (2004) 5 : 79
54. *Br J Cancer* (2005) 93: 387
55. *Clin Chem* (2003) 49: 19
56. European (ISHG) Working Group for the Standardisation of Tumor cell detection. *Cytotherapy* (1999) 1: 377
57. <http://www.wma.net/f/policy/b3.html>
58. http://portal.unesco.org/fr/ev.php-URL_ID=31058&URL_DO=DO_TOPIC&URL_SECTION=201.html
59. Consentement éclairé et information des personnes qui se prêtent à des actes de soin et de recherche. *Avis n°58, 12 juin 1998 du CCNE*, http://www.ccne-ethique.fr/francais/avis/a_058.htm#deb
60. http://cordis.europa.eu/fp7/ethics_en.html
61. http://www.has-sante.fr/portail/display.jsp?id=c_452559
62. Studying Tumor Markers: How to Develop Meaningful Research, *American Society of clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, June 3, 2007*
http://www.asco.org/portal/site/ASCO/menuitem.8ca4b929eae1f028e0aa5d03320041a0/?vgn_extoid=ae954bcdbf652110VgnVCM100000ed730ad1RCRD
63. <http://afssaps.sante.fr/>
64. http://admi.net/euro/loi/leg_euro/fr_398L0079.html
65. *RDSS* (2006) 6: 1029
66. *Médecine Sciences* (2007) 6-7 : 592
67. *DNA Worldwide, Early gender Test*. <http://www.dna-worldwide.com/DNA-Testing-Direct/Early-Gender-Test>
68. *DNA Worldwide, Paternity Testing*. <http://www.dna-worldwide.com/DNA-Testing-Direct/DNA-Paternity-Testing>
- 69 Commercialisation des cellules souches humaines et autres lignées cellulaires. *Avis n°93, 17 novembre 2006 du CCNE*, http://www.ccne-ethique.fr/francais/avis/a_093.htm#deb

ANNEXE

Avant la rédaction de ce texte :

- i) Deux réunions plénières du Comité, le 23 mai et le 18 juin 2007, ont été consacrées à la réflexion sur les problèmes posés par cette saisine.
- ii) Trois auditions ont été réalisées par le comité : le 23 mai, audition du Pr Paterlini-Bréchet, au siège de l'INSERM ; Le 3 juillet, audition (au laboratoire) des Drs. Jean-Claude et Laurent Zerat directeurs du laboratoire Lavergne, laboratoire de ville de biologie médicale et d'anatomie et de cytologie pathologiques ; le 4 juillet, audition des responsables de la société *Metagenex*, au siège de la société : Mr David Znaty, président de *Metagenex*, Mr Claude Chemla, secrétaire général, Mr Antoine Pelletier, responsable développement, le Pr Yvon Cayre, hématologue (Robert Debré), le Dr Janine Wechsler, anatomo-pathologiste (Créteil), et le Dr. Naounal Benali-Furet, post-doctorante qui a travaillé avec le Pr Paterlini-Bréchet dans l'Unité Inserm U 807.
- iii) JCA a consulté Dominique Thouvenin (Professeur de Droit à l'Université Paris 7, membre du Conseil d'orientation de l'Agence de la Biomédecine), Ingrid Callies (service juridique de l'ANRS, membre du CQI de l'INSERM), Sadek Beloucif (Professeur de médecine, membre du Conseil d'orientation de l'Agence de la Biomédecine) ... (à compléter).
- iv) JCA a assisté, le 8 novembre 2006, au siège de l'INCA (Institut National du Cancer) à une réunion avec le Pr Paterlini-Bréchet, plusieurs anatomo-pathologistes, plusieurs oncologues, une chercheuse employée par la société *Metagenex*, et des responsables de l'INCA (compléter...). L'objet de cette réunion, au cours de laquelle l'existence d'un différend avec la société *Metagenex* (si tant est qu'il existait déjà à l'époque) n'a jamais été abordé, était d'essayer de déterminer quelles études étaient nécessaires avant d'envisager une utilisation du test ISET-Oncologie en médecine courante. La conclusion de la réunion a été que des études préalables de validation clinique étaient indispensables.