الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS - SETIF 1

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE

Mémoire

Présenté par

Merir Salsabil et **Merazka Nour EL Houda**

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

L'INTÉRÊT DE LA BIOPSIE LIQUIDE DANS LA DÉTECTION DES MUTATIONS EGFR DANS LE CBNPC

Encadré par : Dr Kaarouche Imene Pharmacienne spécialiste en biochimie médicale et biologie moléculaire

Soutenue le : **29/06/2026**

DEVANT LE JURY

Président : Pr. Belhattab Rachid Professeur en biochimie

Examinateurs: Pr. Kedari Aissa MCB en pharmacologie

Année universitaire: 2025 / 2026

الملخص

يمثل سرطان القصبات غير ذو الخلايا الصغيرة (**CBNPC**) اليوم مشكلة صحية عامة كبرى على الصعيدين العالمي والوطني. ولا يزال يُعد من أكثر أنواع السرطانات انتشارًا وأكثرها فتكًا، ويرجع ذلك أساسًا إلى أن التشخيص يتم غالبًا في مرحلة متقدمة. وفي هذا السياق، أصبح تحديد التغيرات الجزيئية أمرًا ضروريًا لتوجيه التكفل العلاجي نحو الطب الشخصي.ومن بين المؤشرات الحيوية المستخدمة حاليًا، تحتل طفرات جين **EGFR** مكانة مركزية، إذ يتيح الكشف عنها تحديد المرضى الذين قد يستفيدون من العلاج الموجه باستخدام مثبطات التيروزين كيناز (**TKI**) ومع ذلك، فإن التحليل النسيجي، الذي لا يزال يمثل الطريقة المرجعية، يواجه عدة قيود. وفي هذا الإطار، تبرز الخزعة السائلة كنهج مبتكر وقليل التدخل، يسمح بتحليل الحمض النووي الورمي المتداول.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم أهمية الخزعة السائلة في الكشف عن طفرات جين **EGFR** لدى المرضى المصابين بسرطان الرئة غير صغير الخلايا في مرحلة متقدمة.

أُجريت دراسة رصدية مقطعية ذات مكون استباقي بمركز مكافحة السرطان (**CLCC**) بسطيف، وشملت **29** مريضًا مصابًا بسرطان الرئة غير صغير الخلايا.

تم تحليل طفرات جين **EGFR** (الإكسونات من 18 إلى 21) انطلاقًا من الحمض النووي الورمي المتداول المستخلص من البلازما. وبعد استخراج الحمض النووي، تم البحث عن الطفرات باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل(**PCR**) ، مما أتاح تحديد أهم التغيرات الجزيئية في جين.**EGFR**

أظهرت النتائج غلبة للذكور، إضافة إلي غلبة حالات السرطان الغدي والمراحل النقيلية. وتم الكشف عن طفرات تنشيطية في جين **EGFR** لدى **13,64**٪ من المرضى الذين خضعوا لتحليل الخزعة السائلة، مع غلبة لحالات الحذف في الإكسون **19**. كما تم العثور على طفرة المقاومة **T790M** لدى بعض المرضى.

وكشف التحليل المقارن بين الخزعة السائلة والخزعة النسيجية عن توافق بنسبة **100%**، مع حساسية ونوعية وقيمة تنبؤية إيجابية وقيمة تنبؤية سلبية بلغت جميعها **100%**.

أظهرت هذه الدراسة أن الخزعة السائلة تمثل أداة تشخيصية تكميلية فعالة للكشف عن طفرات **EGFR** لدى المرضى المصابين بسرطان الرئة غير صغير الخلايا. إن طبيعتها قليلة التدخل، وسرعة تنفيذها، وخصوصيتها العالية تجعل منها بديلاً واعدًا خاصة عندما يكون إجراء الخزعة النسيجية صعبًا أو عندما لا توفر عينة كافية.

ومع ذلك، ونظرًا لحساسيتها المعتدلة واحتمال ظهور نتائج سلبية كاذبة، تظل الخزعة النسيجية هي الطريقة المرجعية كلما كانت متاحة.

الكلمات المفتاحية: سرطان القصبات غير صغير الخلايا، **CBNPC**، **EGFR**، الخزعة السائلة، الحمض النووي الورمي المتداول، الخزعة النسيجية، العلاجات الموجهة

Résumé

Le cancer bronchique non à petites cellules (**CBNPC**) représente aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale et nationale. Il demeure l'un des cancers les plus fréquents et les plus meurtriers, principalement en raison d'un diagnostic souvent réalisé à un stade avancé. Dans ce contexte, l'identification des altérations moléculaires est devenue indispensable afin d'orienter la prise en charge thérapeutique vers une médecine personnalisée.

Parmi les biomarqueurs actuellement utilisés, les mutations du gène **EGFR** occupent une place centrale. Leur recherche permet d'identifier les patients susceptibles de bénéficier d'un traitement ciblé par inhibiteurs de tyrosine kinase (**TKI)**. Cependant, l'analyse tissulaire, qui demeure la méthode de référence, présente plusieurs limites Dans ce contexte, la biopsie liquide s'impose comme une approche innovante, peu invasive, permettant l'analyse de l'**ADN** tumoral circulant.

Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'intérêt de la biopsie liquide dans la détection des mutations du gène **EGFR** chez des patients atteints de **CBNPC** à un stade avancé. Une étude observationnelle transversale à composante prospective a été menée au Centre de Lutte Contre le Cancer (**CLCC**) de Sétif. **29** patients atteints de **CBNPC** ont été inclus. L'analyse des mutations de l**'EGFR** (exons **18 à 21**) a été réalisée à partir de l'**ADN** tumoral circulant extrait du plasma. Après extraction de l'**ADN**, la recherche des mutations a été effectuée par amplification en chaîne par polymérase (**PCR**), permettant l'identification des principales altérations moléculaires du gène **EGFR**.

Les résultats ont montré une prédominance masculine ainsi qu'une majorité de cas d'adénocarcinome et de stades métastatiques. Les mutations activatrices de l'**EGFR** ont été détectées chez **13,64 %** des patients analysés sur biopsie liquide, avec une prédominance des délétions de l'exon **19**. La mutation de résistance **T790M** a également été retrouvée chez certains patients. L'analyse comparative entre biopsie liquide et biopsie tissulaire a révélé une **concordance** de **100 %**, avec une **sensibilité**, une **spécificité**, une **valeur prédictive positive** et une **valeur prédictive négative** de **100 %**.

Cette étude a montré que la biopsie liquide constitue un outil diagnostique complémentaire pertinent pour la détection des mutations de l'**EGFR** chez les patients atteints de **CBNPC**. Son caractère peu invasif, sa rapidité de mise en œuvre et sa forte spécificité en font une alternative particulièrement intéressante lorsque la biopsie tissulaire est difficile à réaliser ou fournit un matériel insuffisant. Néanmoins, en raison de sa sensibilité modérée et du risque de résultats faussement négatifs, la biopsie tissulaire demeure la méthode de référence lorsqu'elle est disponible.

Mots-clés : Cancer bronchique non à petites cellules, **CBNPC**, **EGFR**, biopsie liquide, **ADN** tumoral circulant, biopsie tissulaire, thérapies ciblées.

Abstract

Non-small cell lung cancer (**NSCLC**) is currently a major public health problem both globally and nationally. It remains one of the most common and deadly cancers, primarily because it is often diagnosed at an advanced stage. In this context, the identification of molecular alterations has become essential for guiding therapeutic management toward personalized medicine.Among the biomarkers currently in use; mutations in the **EGFR** gene play a central role. Screening for these mutations helps identify patients likely to benefit from targeted therapy with tyrosine kinase inhibitors (**TKIs**). However, tissue analysis, which remains the gold standard, has several limitations. In this context, liquid biopsy has emerged as an innovative, minimally invasive approach that allows for the analysis of circulating tumor **DNA**.

The objective of this study was to evaluate the utility of liquid biopsy in detecting **EGFR** gene mutations in patients with advanced **NSCLC**.

A cross-sectional observational study with a prospective component was conducted at the Cancer Control Center (**CLCC**) in Sétif. Twenty-nine patients with **NSCLC** were included.. Analysis of **EGFR** mutations (exons **18** through **21**) was performed using circulating tumor **DNA** extracted from plasma. After **DNA** extraction, mutations were detected using polymerase chain reaction (**PCR**), which allowed for the identification of the main molecular alterations in the **EGFR** gene.

The results showed a predominance of male patients, as well as a majority of adenocarcinoma cases and metastatic stages. **EGFR**-activating mutations were detected in **13.64%** of patients analyzed via liquid biopsy, with a predominance of exon **19** deletions. The **T790M** resistance mutation was also found in some patients. A comparative analysis between liquid biopsy and tissue biopsy revealed **100% concordance**, with **sensitivity, specificity, positive predictive value**, and **negative predictive value** all at **100%.**

This study demonstrated that liquid biopsy is a relevant complementary diagnostic tool for detecting **EGFR** mutations in patients with **NSCLC**. Its minimally invasive nature, rapid turnaround time, and high specificity make it a particularly attractive alternative when a tissue biopsy is difficult to perform or yields insufficient material. Nevertheless, due to its moderate sensitivity and the risk of false-negative results, tissue biopsy remains the gold standard when available.

Keywords: Non-small cell lung cancer, **NSCLC**, **EGFR**, liquid biopsy, circulating tumor **DNA**, tissue biopsy, targeted therapies.

Table des matières

Résumé..... **II**
Remerciements.....**X**
IDédicaces…….. VI
Liste des figures…….XI
Liste des tableaux……..XX
Liste des abréviations……XXII

PREMIÈRE PARTIE : PARTIE THÉORIQUE

INTRODUCTION 12

Chapitre I : Cancer broncho-pulmonaire non à petite cellule (CBNPC).....2

1. Définition**……2**

2. Epidémiologie **……....2**

2.1. Incidence, Mortalité et Distribution……..…3

2.1.1. Dans le monde…….….3

2.1.1.1. Chez les hommes……...4

2.1.1.2. Chez les femmes……....6

2.1.2. En Algérie……9

2.1.2.1. Chez l'homme……..10

2.1.2.2. Chez la femme……10

2.1.3. Au niveau régional (wilaya de Sétif).....11

2.2. Étiologies et facteurs de risque 12

2.2.1. Tabagisme..... 12

2.2.2. Facteurs environnementaux 14

2.2.3. Facteurs professionneles..... 16

3. Classification Histologique **..... 18**

3.1. Les adénocarcinomes (ADK)..... 18

3.2. Les Carcinomes épidermoïdes 20

3.3. Les carcinomes à grandes cellules 21

4. Classification TNM et stadification **22**

4.1. Classification TNM 22

4.2 Classification par stad**e** 23

5. Prise en charge thérapeutique **25**

Chapitre II : Voies de signalisation de l'EGFR 27

1. Généralités sur l'EGFR **27**

1.1. Définition **27**

1.2. Classification de l'EGFR 28

1.3. Rôle physiologique de l'EGFR 28

2. voies de signalisation **28**

2.1. La voie RAS/RAF/MAPK (ERK) 29

2.2. La voie PI3K / AKT /mTOR 30

2.3. La voie JAK / STAT 31

3. Altérations de l'EGFR **33**

3.1. L'amplification du gène de l'EGFR 33

3.2. La surexpression de la protéine EGFR 33

3.3. Les mutations du gène de l'EGFR 34

3.3.1. Types de mutations 34

3.3.2. Profil des patients présentant une mutation de l'EGFR 36

3.3.3. Impact des mutations de l'EGFR sur l'efficacité des ITK 37

Chapitre III : Méthodes de détection des mutations EGFR dans le CBNPC 39

1. La biopsie liquide **39**

1.1.1. Définition de la biopsie liquide 39

1.1.2. Avantages de la biopsie liquide 40

1.1.3. Limites de la biopsie liquide……...41

1.2. Biomarqueurs détectés **..... 41**

1.2.1. ADN tumoral circulant (ADNtc) 41

1.2.2. Cellules tumorales circulantes (CTCs**)**.....43

1.2.3. ARN tumoral circulant (ARNtc) 44

1.2.4 Exosomes..... 44

1.3. Intérêts de la biopsie liquide **..... 45**

1.4. Détection des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide (ADNtc)**..... 46**

1.4.1. Étapes Pré-analytiques..... 46

1.4.1.1. Le Prélèvement..... 46

1.4.1.2. Séparation du plasma 47

1.4.1.3. Extraction ADNc..... 48

1.4.2. Étape analytique : les techniques de détection 51

1.4.2.1. PCR en temps réel..... 51

1.4.2.2. PCR digitale 51

1.4.2.3 Le Séquençage de nouvelle génération (NGS) 52

2. La biopsie tissulaire**..... 52**

2.1. Définition de la biopsie tissulaire**..... 52**

2.2. Technique de prélèvement de la biopsie tissulaire..... 53

2.3. Intérêt de la biopsie tissulaire**..... 53**

2.4. Limites de la biopsie tissulaire**..... 54**

3. Le bloc cellulaire**.....54**

DEUXIÈME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Objectif ……..….....56

Objectif principal……..……56

Objectif secondaire…….……...…….56

CHAPITRE I: MATÉRIELS ET MÉTHODES..... 57

I.1. Type d'étude **..... 57**

I.2. Population d'étude **..... 57**

I.2.1. Critères d'inclusion..... 57

I.2.2 Critères de non inclusion 57

I.3. Durée et Lieu d'étude **..... 57**

I.4. Recueil des données**..... 58**

I.5. Protocole de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide**.....** 58

I.5.1. Prélèvement sanguin..... 58

I.5.2. Séparation de plasma 59

I.5.3. Extraction de l'ADNc (KITs QIAamp MinElute ccfDNA)..... 60

I.5.4. Amplification et détection des mutations de l'EGFR..... 63

I.5.4.1. Le kit therascreen® EGFR RGQ PCR……...…….64

I.5.4.2. Dosage de l'ADN circulant (ADNc)……...65

I.5.4.3. Protocole de Test PCR en Temps Réel sur ROTOR-GENE Q……...66

I.5.4.3. Protocole d'analyse des mutations EGFR par EasyPGx EGFR 68

I.5.5. Interprétation des résultats……...…….…...……69

I.6. Analyse des données**…….……..70**

I.7. Évaluation de la performance**…….70**

CHAPITRE II: RÉSULTATS…….……72

II.1. Population**…….……72**

II.2. Critères sociodémographiques**.....72**

II.2.1. Répartition des patients selon le sexe.....72

II.2.2. Répartition des patients selon l'âge.....72

II.2.2.1. Répartition des patients selon les tranches d'âge.....73

II.2.3. Répartition selon le lieu de résidence.....73

II.2.3.1. Répartition selon la wilaya de résidence.....73

II.2.3.2. Répartition selon la commune de résidence dans la wilaya de Sétif.....74

II.2.4. Répartition des patients selon l'exposition au tabagisme.....74

II.2.4.1. Tabagisme actif.....74

II.2.4.1.1.Répartition selon le statut Tabagique actif par genre.....75

II.2.4.2. Tabagisme passif.....75

II.3. Critères clinique**.....76**

II.3.1. Répartition selon le sous type histologique.....76

II.3.2. Répartition des patients selon le stade de la maladie.....76

II.4. Critères biologique **..... 77**

II.4.1. Répartition des patients selon le type de recherche moléculaire demandée sur la biopsie liquide.....77

II.4.2. Profil moléculaire tissulaire..... 78

II.4.2.1. Répartition des patients selon le statut mutationnel de l'EGFR (exons 18–21)..... 78

II.4.2.2. Répartition des patients selon le type de mutation EGFR identifiée au niveau tissulair**e**.....78

II.4.3. Profil moléculaire plasmatique (biopsie liquide).....79

II.4.3.1. Phase pré-analytique.....79

II.4.3.1.1. Répartition des patients selon le volume plasmatique extrait.....79

II.4.3.1.2. Répartition selon la durée de conservation du plasma.....80

II.4.3.1.3. Répartition des échantillons selon l'aspect du plasma.....81

II.4.3.2. Caractéristiques de l'ADNc circulant.....81

II.4.3.2.1. Concentrations d'ADNc obtenues après extraction……..81

II.4.3.2.2. Durée de conservation des extraits d'ADNc.....82

II.4.3.3. Résultats moléculaires de la biopsie liquide.....83

II.4.3.3.1. Répartition selon les résultats de la recherche des mutations de l'EGFR (exons 18–21)……83

II.4.3.3.2. Répartition selon le type de mutation de l'EGFR (exons 18–21) identifiée sur biopsie liquide.....83

II.4.3.3.3. Répartition selon les résultats de la recherche de la mutation de résistance T790M.....84

II.4.4. Évaluation de la performance diagnostique de la biopsie liquide.....84

II.4.5. Statut EGFR.....86

II.4.5.1. Répartition du statut EGFR en fonction de l'âge.....86

II.4.5.2. Répartition du statut EGFR en fonction du genre.....87

II.4.5.3. Répartition du statut EGFR selon le sous type histologique 87

II.4.5.4. Répartition du statut EGFR en fonction du statut tabagique..... 87

II.4.5.5. Répartition du statut EGFR selon le stade de la maladie 87

II.5. Profile thérapeutique**.....88**

II.5.1. Répartition des patients selon les classes thérapeutiques avant et après la biopsie liquide… 88

CHAPITRE III: DISCUSSION……90

III.1. Facteurs sociodémographiques et cliniques**……90**

III.1.1. Nombre de patients……..…….90

III.1.2. Le Sexe…….90

III.1.3. L'âge…….……91

III.1.4. Lieu de résidence……..91

III.1.5. Tabagisme et exposition au tabac……...92

III.1.6. Sous-type histologique……..…….93

III.1.7. Stade de la maladie et métastases…….…….94

III.2. Profil biologique**……..…….94**

III.2.1. Volume plasmatique obtenues après séparation……..……..94

III.2.2. Concentrations d'ADNc obtenues après extraction……..…….95

III.2.3. L'aspect du plasma récupéré…….95

III.2.4. Durée de conservation du plasma……...……..96

III.2.5. Durée de conservation des extraits l'ADNc……..96

III.3. Profil mutationnel**…….96**

III.3.1. Sur biopsie tissulaire……..97

III.3.2. Sur Biopsie liquide……....97

III.3.3. Performances diagnostiques de la biopsie liquide dans la recherche des mutations de l'EGFR
……..99

III.4. Conduites thérapeutiques**……....100**

III.4.1.Utilisation des thérapies ciblées et lignes d'initiation du traitement…….....…...100

III.4.2. L'intérêt des résultats de recherche des mutations de l'EGFR sur biopsie liquide
…….102

Limites de l'étude…….……104
Perspectives……..….105
Conclusion …..…….…….... 107
Bibliographie…….…..XXV
ANNEXES……..XXXIX

INTRODUCTION

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

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

Le principal facteur de risque associé au cancer pulmonaire est le tabagisme, responsable de la majorité des cas, bien que d'autres facteurs environnementaux puissent intervenir (4).

Sur le plan histologique, le cancer pulmonaire est classé en deux grandes catégories : le cancer bronchique à petites cellules (**CBPC**) et le cancer bronchique non à petites cellules (**CBNPC**) (5). Ce dernier représente environ **85 %** des cas et constitue la forme la plus fréquente (6).

Les avancées en biologie moléculaire ont permis d'identifier plusieurs altérations génétiques impliquées dans la carcinogenèse du **CBNPC**. Parmi elles, les mutations du gène **EGFR** (Epidermal Growth Factor Receptor), notamment les délétions de l'exon **19** et la mutation **L858R** de l'exon **21**, occupent une place centrale (7). Ces altérations activatrices sont associées à une sensibilité aux inhibiteurs de la tyrosine kinase (**TKI**), devenus le traitement standard chez les patients atteints de **CBNPC** avancé porteurs d'une mutation **EGFR** (8).

Traditionnellement, la détection des mutations **EGFR** repose sur l'analyse d'un prélèvement tumoral tissulaire. Toutefois, cette approche présente certaines limites, notamment liées à l'inaccessibilité tumorale, à l'hétérogénéité intratumorale et à l'insuffisance du matériel biologique exploitable (9).

Dans ce contexte, la biopsie liquide, basée sur l'analyse de l'**ADN** tumoral circulant (**ADNtc**) dans le plasma, apparaît comme une alternative diagnostique innovante et moins invasive (10). Les méta-analyses récentes ont montré que la biopsie liquide présente une spécificité élevée et une concordance importante avec la biopsie tissulaire pour la détection des mutations **EGFR** dans le **CBNPC**, confirmant ainsi son intérêt dans la stratégie diagnostique et le suivi thérapeutique des patients (11)