

GROUPE HOSPITALIER SAINT- LOUIS – LARIBOISIERE – F. WIDAL

Contacts :

Dr M. BATTISTELLA SERVICE DE PATHOLOGIE Hôpital Saint Louis, 1 av C. Vellefaux-75475 Paris T : 0142494561 / F : 014249422
Dr S. MOURAH, LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE Hôpital Saint Louis, 1 av C. Vellefaux-75475 Paris – T : 0142494885

**BON DE DEMANDE D'EXAMEN POUR GENOTYPAGE
BRAF, C-KIT ET AMPLIFICATION C-KIT**

PATIENT	<input type="checkbox"/> Monsieur	<input type="checkbox"/> Madame
Nom :	Née :	
Prénom :	Date de naissance :	

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

NOM :
ADRESSE :
TEL : MAIL :

EXAMEN DEMANDE :

COCHER : Génotypage BRAF / / Génotypage c-KIT / / Amplification c-KIT / /

JUSTIFICATION DE LA DEMANDE (si recherche de mutation c-Kit en l'absence d'indication connue) :

DATE DE LA DEMANDE :

MATERIEL TRANSMIS

NATURE DU MELANOME INITIAL : Cutané ALM Dubreuil Nodulaire Autre (préciser)
 Muqueux Pas de Primitif connu Autre (préciser)...

COCHER : CONGELATION / / FIXE / /

FIXATEUR UTILISE :** DUREE DE FIXATION :

Diagnostic anatomo-pathologique : (ou double compte-rendu)

Référence Laboratoire : Date du prélèvement :

**** PAS DE BOUIN**

CONCERNANT LE BLOC SELECTIONNE POUR ANALYSE

Taille du fragment : mm/mm

% de cellules tumorales :

% de nécrose :

Pathologiste validant l'analyse morphologique :

CLINICIEN REFERENT (coordonnées précises)

Nom :
Adresse :
TEL : MAIL :

FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

HOPITAL SAINT-LOUIS

1, AVENUE CLAUDE VELLEFAUX, 75475 PARIS CEDEX 10
STANDARD : 01 42 49 49 49 INTERNATIONAL : 33 1 42 49 49 49

SERVICE DE PATHOLOGIE (PR A. JANIN) - CONTACT: DR M BATTISTELLA - J RIVET
TEL : 01 42 49 45 65/FAX: 01 42 49 49 22

LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE (DR S. MOURAH) - CONTACT: DR S. MOURAH - TEL: 01 42 49 48 85/FAX: 01 42 49 49 89

Informations pratiques concernant le génotypage de BRAF dans les mélanomes

Pour quels patients :

Patients atteints de mélanome métastatique inopérables.

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Mélanome / BRAF de l'AP-HP.

Dans quels buts :

- Identifier les patients atteints de mélanome métastatique éligibles pour un traitement par un inhibiteur de BRAF. Seuls les patientes/patients dont la tumeur présente la mutation BRAF. Environ 50 pour cent des mélanomes présentent la mutation BRAFV600E peuvent bénéficier de ces traitements ciblés.

Sur quels prélèvements :

Tumeur primitive ou localisation métastatique fixée (préférentiellement formol, le liquide de Bouin est formellement exclu) et incluse en paraffine ou **biopsie congelée**.

Pour l'analyse moléculaire quantitative in vitro (Q-PCR), le prélèvement doit comporter **plus de 30%** de cellules tumorales (par rapport au nombre total de cellules du prélèvement). Cette donnée chiffrée doit être indiquée dans la fiche de prescription pour une interprétation pertinente des résultats.

Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à l'hôpital St Louis.

➔ Le prélèvement sera initialement réceptionné, validé et préparé par le laboratoire d'anatomie pathologique :

Référent : Dr M. Battistella, J Rivet ; maxime.battistella@sls.aphp.fr

Laboratoire : Service d'anatomie pathologique

Hôpital Saint Louis
1 av Claude Vellefaux
75 475 Paris cedex 01

Réception : **tel 01 42 49 45 65 - fax 01 42 49 49 22**

➔ Des coupes de tissus seront adressées pour analyse moléculaire quantitative au laboratoire d'oncologie moléculaire qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation :

Référent : Dr S. Mourah ; samia.mourah@sls.aphp.fr

Laboratoire : Laboratoire de Pharmacologie

Hôpital Saint Louis
27, rue Juliette Dodu
75 010
Réception : **tel 01 42 49 48 85/86 - fax 01 42 49 49 89**

Que faut-il envoyer :

→ au laboratoire d'anatomie pathologique :

- le **bloc** tumoral le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon) ou une **biopsie congelée**.
- le compte rendu d'anatomo pathologie correspondant au prélèvement
- le Bon de demande d'examen (téléchargeable sur le site) dûment rempli, comportant notamment les **coordonnées complètes des correspondants** pour leur assurer une bonne transmission des résultats.

→ au laboratoire de Pharmacologie:

- une copie de la fiche de prescription.

Quel est le délai de rendu de l'analyse ?

A partir de la réception du prélèvement en anatomie pathologique, un délai maximum de **15 jours** est à prévoir. Le résultat est adressé aux correspondants qui seront mentionnés dans le Bon de demande d'examen. Le résultat est co-signé par les référents anatomo pathologistes et biologistes moléculaires.

En cas de situation d'urgence, la mention **URGENT** sur le Bon de demande d'examen permet de réduire le délai de rendu au maximum.

Le bloc tumoral vous sera réadressé secondairement.

Quelles techniques utilisons-nous ?

- Extraction des ADN à partir de prélèvements biopsiques congelés ou de blocs de tumeurs incluses en paraffine après vérification histologique et macrodissection afin d'assurer au sein de l'échantillon un pourcentage maximal de cellules tumorales.
- Génotypage BRAF : Discrimination allélique en sondes fluorescentes et séquençage Sanger

FICHE MEDICALE

Pathologie	Analyse
Mélanome	<i>BRAF / mutations</i>

But : Accès à une thérapie ciblée

Identifier les patients atteints de mélanome qui pourront bénéficier d'un traitement par un inhibiteur de BRAF.

Indications

Analyse nécessaire : Pour les patients adultes atteints d'un mélanome cutané localement évolué inopérable ou métastatique porteur d'une mutation BRAF V600.

Analyse nécessaire (expertise collective) : Mélanome avec atteinte ganglionnaire; mélanome avec métastases à distance

Recommandations générales concernant les prélèvements

ATTENTION : ces informations restent générales et le demandeur d'analyses doit se référer aux « Bon de demande et Fiche d'informations pratiques » avant d'envoyer son échantillon.

- Prélèvements tumoraux (pièce opératoire, biopsie,...) sur lésion primitive ou métastatique. La recherche de mutation est généralement plus facile sur les métastases ganglionnaires ou à distance, en raison de la petite taille des tumeurs primitives.
- De préférence sur prélèvement fixé en formol tamponné pendant moins de 48H.
- Contrôle histologique indispensable permettant d'indiquer le pourcentage de cellules tumorales
- Macrodissection sur lame préférable si moins de 50% de cellules tumorales.

Principales techniques utilisées et validées

ATTENTION : ces informations restent générales et chaque site d'analyse peut utiliser des techniques qui lui sont spécifiques (cf Fiche d'informations pratiques).

1. Séquençage des produits d'amplification (méthode de Sanger ou pyroséquençage).
2. Discrimination allélique par PCR temps réel : détection des 2 mutations les plus fréquentes V600E et V600K
3. HRM + séquençage des produits de PCR

Délai moyen de rendu de résultat

7 à 15 jours

Informations complémentaires

Le mélanome métastatique est une affection de pronostic redoutable (médiane de survie 6,2 mois). La chimiothérapie de référence, le Déticène ®, permet d'obtenir des taux de réponse de 7,5% de courte durée. L'ipilimumab, anticorps monoclonal anti CTLA4, augmente la survie de patients prétraités de 30%. Environ 40 à 50% des mélanomes métastatiques

présentent des mutations activatrices sur le gène *BRAF*. La quasi-totalité des mutations de *BRAF* des mélanomes sont localisées sur le codon 600, et les 2 mutations les plus fréquentes sont la V600E (74%) et la V600K (20%) (Long et al. J Clin Oncol 2011).

Plus de la moitié des patients porteurs de la mutation V600 sont répondeurs aux inhibiteurs de *BRAF* (Flaherty et al. 2010). Le vemurafenib a obtenu l'AMM le 17 février 2012 pour le traitement des patients atteints de mélanome non résécable ou métastatique avec mutation *BRAF* V600. Les dernières données de BRIM3 (1^{ère} ligne) et BRIM2 (2^{ème} ligne) montrent une survie globale médiane entre 13 et 16 mois sous vemurafenib (Zelboraf ®).

Le Dabrafénib (Tafinlar®) est également disponible dans la même indication depuis novembre 2014 avec des résultats comparables. Des associations de *BRAF* et MEK inhibiteurs sont en cours d'évaluation.

Références (sur les indications et les techniques)

1. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, O'Dwyer PJ, Lee RJ, Grippo JF, Nolop K, Chapman PB.
Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma
N Engl J Med. 2010; Aug 26;363 (9):809-19.
2. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R et al
Survival in BRAF V600-Mutant Advanced Melanoma Treated with Vemurafenib
N Engl J Med. 2012 ; february 23; 366 (8) : 707-14
3. Chapman PB, Hauschild A, Robert C et al
Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation
N Engl J Med. 2011 ; june 5; 364 : 2507-16

Auteurs

• Rédacteurs V3 : S. Mourah, C. Lebbé, J.F. Emile	Le 26/05/2014
• Relecteurs : M.F. Avril, B. Crickx, E. Maubec	Le 27/05/2014
• Validation Comité de Coordination	Le 27/05/2014