

**GROUPE HOSPITALIER PITIÉ-SALPÉTRIÈRE – CH. FOIX – J.ROSTAND**

47-83, boulevard de l'Hôpital - 75651 PARIS Cedex 13

UNITÉ FONCTIONNELLE D'ONCOGENETIQUE MOLECULAIRE (Pr F.SOUBRIER) - CONTACT : DR F.COULET - TEL SECRETARIAT: 01 42 17 76 64 /FAX : 01 42 17 76 18

SERVICE DE PATHOLOGIE (Pr F.CAPRON) - CONTACT : DR A.BARDIER DUPAS - TEL SECRÉTARIAT : 01 42 17 77 73/FAX: 01 42 17 77 77

**BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE**

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

**PATHOLOGISTE DEMANDEUR**

NOM : .....

ADRESSE : .....

**EXAMEN DEMANDE :** .....

CONTEXTE DE LA DEMANDE : .....

DATE DE LA DEMANDE : .....

**MATERIEL TRANSMIS**

**FIXATEUR UTILISÉ\*\* :** DUREE DE FIXATION :

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

Référence Laboratoire : Date du prélèvement :

Nature (coupes, blocs, lames....) : ..... \*\* PAS DE BOUIN

**PRECISER DANS LA ZONE SELECTIONNEE POUR ANALYSE**

% de noyaux de cellules tumorales :

% de noyaux de cellules non tumorales :

% superficie de plages acellulaires      colloïde :      nécrose :      fibrose :

Pathologiste validant l'analyse morphologique :

**CLINICIEN RÉFÉRENT (coordonnées précises)**

Nom : .....

Adresse : .....

**RECOMMANDATIONS DE TRANSPORT ET DELAI DE RENDU DE RESULTAT**

\* A leur convenance, les laboratoires peuvent rajouter ici (à la suite) des items spécifiques à leur laboratoire.

## FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

### GROUPE HOSPITALIER PITIE-SALPETRIERE - CH. FOIX - J.ROSTAND

47-83, boulevard de l'Hôpital - 75651 PARIS Cedex 13

STANDARD : 01 42 16 00 00

UNITE FONCTIONNELLE D'ONCOGENETIQUE MOLECULAIRE (Pr F.SOUBRIER) - CONTACT : DR F.COULET

TEL SECRETARIAT: 01 42 17 76 64 /FAX : 01 42 17 76 18

SERVICE DE PATHOLOGIE (Pr F.CAPRON) - CONTACT : DR A.BARDIER DUPAS

TEL SECRETARIAT : 01 42 17 77 73/FAX: 01 42 17 77 77

### Informations pratiques concernant les recherches : statut mutationnel de KRAS, BRAF et statut MSI dans les cancers du colon dans le GROUPE HOSPITALIER PITIE-SALPETRIERE

#### Pour quels patients :

Patients atteints de cancer colorectal métastatique (1).

Patients nécessitant une détermination du statut MSI/BRAF dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique (2).

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Colon/Adénocarcinome - K-RAS/mutations » de l'AP-HP.

#### Dans quels buts :

(1) Définir l'éligibilité à un traitement ciblé anti EGFR par Cetuximab ou Panitumumab

La présence de mutations sur les codons 12 et 13 est prédictive d'une absence de réponse au traitement.

(2) Identifier un éventuel syndrome HNPCC

#### Sur quels prélèvements :

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

Le prélèvement doit comporter **plus de 20%** de cellules tumorales (par rapport au nombre total de cellules du prélèvement). La cellularité tumorale du prélèvement sera estimée par le pathologiste de la plateforme AP-HP, elle peut néanmoins être précisée sur la demande si connue du prescripteur.

#### Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée dans le Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière.

➔ Le prélèvement sera initialement réceptionné,

- Soit par le service d'Anatomopathologie (en cas d'envoi de bloc).

Référent : Pr F. CAPRON

Laboratoire : Anatomo-Pathologie

Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière

Bât. La Peyronie 10

47/83 bd de l'hôpital

75651 PARIS Cedex 13

L'anatomo pathologiste de la plateforme prépare les coupes et valide le pourcentage de cellules tumorales au sein de l'échantillon et retourne les copeaux et le bloc.

- Soit directement par l'Unité Fonctionnelle d'ondogénétique (en cas d'envoi de coupes) :

Référent : DR F. COULET

Laboratoire : Unité fonctionnelle d'Oncogénétique moléculaire  
Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière  
Bât. La Peyronie 10  
47/83 bd de l'hôpital  
75651 PARIS Cedex 13

La plateforme de biologie moléculaire qui assure l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation. Les résultats seront transmis au prescripteur et à l'anatomo-pathologiste, ils peuvent être obtenus en contactant la plateforme:

Dr F.COULET [florence.coulet@psl.aphp.fr](mailto:florence.coulet@psl.aphp.fr)

## Que faut-il envoyer :



- le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon) ou des coupes (en mentionnant le % de cellules tumorales)
- 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.
- la fiche de dédommagement pour désarchivage, le cas échéant.

## Quel est le délai de rendu de l'analyse ?

A partir de la réception du prélèvement, un délai général de **15 jours** est à prévoir. Le résultat est adressé aux correspondants qui seront mentionnés dans le Bon de demande d'examen.

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 en même temps que le résultat.

## Quelles techniques utilisons nous ?

→ au service d'anatomie pathologique :

- le bloc tumoral sera coupé et analysé en HES pour sélection de la zone la plus richement tumorale (la richesse tumorale pourra être augmentée par macrodissection).
- 5 coupes de 10µ seront réalisées et transmises au laboratoire d'oncologie moléculaire

Statut MSI : IHC hMLH1, hMSH2 et hMSH6

→ au service d'oncologie moléculaire:

- l'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée.
- l'analyse des mutations :

**KRAS : Fusion haute Résolution et séquençage de l'exon 2**

Cette technique est sensible (elle permet de détecter jusqu'à 5% de cellules mutées).

**BRAF : Fusion haute Résolution et séquençage de l'exon 15**

Cette technique est sensible (elle permet de détecter jusqu'à 5% de cellules mutées).

**Statut MSI** : Analyse de fragment à l'aide des marqueurs microsatellites validés BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27.

**FICHE MEDICALE**

<b>Pathologie</b>	<b>Analyse</b>
Colon / Adénocarcinome	<i>KRAS / mutations</i>

**But : Accès à une thérapie ciblée**

Identifier les patients atteints de carcinome colorectal qui pourront bénéficier d'un traitement par anticorps anti-EGFR. En effet, seuls les patients non mutés peuvent bénéficier d'un traitement par Ac anti-EGFR.

**Indications**

Analyse nécessaire : Pour les patients métastatiques (stade IV, M+) avant 1ère à nième ligne de chimiothérapie.

Analyse exploratoire : Patients stade III avec risque élevé de rechute ; Patients stade I, II et III.

**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 ou biopsie), primitif ou métastase.
- De préférence sur blocs de tumeur fixée en formol tamponné pendant moins de 48h.
- Contrôle histologique indispensable de la cellularité de l'échantillon tumoral.
- Macrodissection sur lame nécessaire si la cellularité tumorale est inférieure à la sensibilité théorique de la méthode de dépistage, de façon à enrichir le prélèvement analysé en cellules tumorales (le compte rendu doit indiquer le % de cellules tumorales après macrodissection présentes sur la lame).

**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. Discrimination allélique : détection des 7 mutations les plus fréquentes des exons 12 et 13 de KRAS
2. HRM + séquence

**Délai moyen de rendu de résultat**

7-14 jours

**Informations complémentaires**

Les 7 mutations les plus fréquentes concernent les codons 12 et 13. Il est clairement établi que ces mutations confèrent une résistance au panitumumab (1) et au cetuximab (2-4), et elles doivent être impérativement recherchées :

- Codon 12: p.G12D, p.G12A, p.G12V, p.G12S, p.G12R, p.G12C
- Codon 13 : p.G13D

Les codons 61 et 146 peuvent également faire l'objet de mutations. Celles-ci sont beaucoup plus rares et de ce fait les données cliniques sont limitées. D'après (Loupakis) les patients présentant ces altérations ne répondent pas aux anti-EGFR. Toutefois un nombre trop

restreint de patients a été étudié. Aussi, ces premières observations nécessitent d'être confirmées par des études cliniques prospectives.

### Références (sur les indications et les techniques)

1. Bibeau F, Frugier H, Denouel A, Sabourin JC, Boissiere-Michot F. Technical considerations for KRAS testing in colorectal cancer. The pathologist's point of view. Bull Cancer. 2009 Dec;96 Suppl:S15-22. French.
2. Blons H, Laurent-Puig P. Technical considerations for KRAS testing in colorectal cancer. The biologist's point of view. Bull Cancer. 2009 Dec;96 Suppl:S47-56. Review. French
3. Chang YS, Yeh KT, Hsu NC, Lin SH, Chang TJ, Chang JG. Detection of N-, H-, and KRAS codons 12, 13, and 61 mutations with universal RAS primer multiplex PCR and N-, H-, and KRAS-specific primer extension. Clin Biochem. 43(3):296-301.
4. Edkins S, O'Meara S, Parker A, Stevens C, Reis M, Jones S, et al. Recurrent KRAS codon 146 mutations in human colorectal cancer. Cancer Biol Ther. 2006;5(8):928-32.
5. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C, Vincenzi B, Salvatore L, Santini D, et al. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. Br J Cancer. 2009;101(4):715-721.

### Auteurs

- |   |                |
|---|----------------|
| • Rédacteurs V1 : JF. Emile, T. André, P.Laurent-Puig | le 15/06/2010  |
| • Relecteurs : S. Chaussade, C. Guettier, JF Fléjou   | le 18/08/2010  |
| • Validation Comité de Coordination                   | le 06/10 /2010 |