

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'oncogénétique (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

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

Pathologie	Analyse
Côlon / Endomètre /Adénocarcinome	<i>Phénotype MSI</i>

But : Identification des sujets atteints d'un syndrome de Lynch

Identifier les patients atteints d'un cancer colorectal ou d'un cancer de l'endomètre avec instabilité microsatellitaire, afin d'identifier les sujets susceptibles d'être atteints d'un syndrome de Lynch (ou syndrome HNPCC) et devant bénéficier d'une consultation d'oncogénétique.

Indications

Analyse nécessaire (Expertise collective) : tous les patients atteints d'un cancer colorectal âgés de moins de 60 ans, les patients ayant un antécédent au 1er degré d'une tumeur du spectre étroit du syndrome de Lynch (cancer de l'endomètre, de l'intestin grêle, des voies urinaires excrétrices) quelque soit l'âge, et tous les patients ayant développé deux tumeurs du spectre étroit.

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 <20% de cellules tumorales (Le compte rendu doit indiquer le % de cellules tumorales présentes sur la lame sur laquelle la macrodissection a été réalisée).

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).

Deux techniques sont possibles :

1. Une technique de biologie moléculaire qui teste 5 marqueurs quasi mononomorphes dans la population générale. Il s'agit d'une amplification par PCR de 5 marqueurs, le produit d'amplification est révélé par une électrophorèse. Le résultat est positif si au moins 3 des 5 marqueurs présentent une instabilité génétique.
2. Une technique immunohistochimique qui teste la perte d'expression des 4 protéines de la réparation des mésappariements de l'ADN impliquées dans la survenue du syndrome de LYNCH (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) : une perte d'expression par les cellules tumorales d'au moins une de ces protéines indique la positivité du phénotype.

La place respective de ces deux tests reste discutée. Les deux techniques ont des limitations (faux négatifs) qui nécessitent une analyse critique en cas de discordance entre une histoire clinique personnelle ou familiale évocatrice d'un syndrome de prédisposition et un résultat négatif par l'une des techniques.

Délai moyen de rendu de résultat

30 jours

Informations complémentaires

Références (sur les indications et les techniques)

1. Olschwang et al. Identification et prise en charge du syndrome HNPCC (hereditary non polyposis colon cancer), Prédisposition héréditaire aux cancers du côlon, du rectum et de l'utérus. Bull Cancer 2004 ; 91 (4) : 303-15
2. Vasen et al. Recommendations to improve identification of hereditary and familial cancer in Europe. Fam Cancer 2010;9:109-15

Auteurs

• Rédacteurs V1 : P. Laurent-Puig, JF. Flejou, Y. Parc	le 15/06/2010
• Relecteurs : S. Chaussade	le 18/08/2010
• Validation Comité de Coordination	le 06/10/2010