

## 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 PITIÉ-SALPÉTRIÈRE - CH. FOIX - J.ROSTAND**

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

STANDARD : 01 42 16 00 00

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 : PR F.CAPRON - TEL SECRÉTARIAT : 01 42 17 77 73/FAX: 01 42 17 77 77

**Informations pratiques concernant  
la recherche du statut mutationnel de EGFR et de KRAS  
dans les cancers du poumon  
dans le GROUPE HOSPITALIER PITIÉ-SALPÉTRIÈRE**

**Pour quels patients :**

Patients atteints d'un cancer du poumon métastatique.

**Dans quels buts :**

Définir l'éligibilité à un traitement ciblé anti EGFR par IRESSA à partir de la première ligne de traitement.

**Sur quels prélèvements :**

Tumeur primitive ou localisation métastatique fixée (préférentiellement formol, le liquide de Bouin est formellement exclu) et incluse en paraffine. Les liquides de cytologie inclus en paraffine peuvent faire l'objet d'une demande si la cellularité tumorale est suffisante (20%)

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 :**

- ➔ au laboratoire de biochimie, UF de pharmacogénétique et Oncologie moléculaire
- le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon)
  - 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 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

- ➔ 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)

#### **EGFR: Fusion haute Résolution et séquençage des exons 18, 19, 20 et 21**

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

## FICHE MEDICALE

<b>Pathologie</b>	<b>Analyse</b>
Poumon / Carcinome bronchique non à petites cellules (CBNPC)	<i>EGFR</i> / mutations activatrices

### **But : Accès à une thérapie ciblée**

Identifier les malades atteints de CBNPC qui pourront bénéficier d'un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase de l'EGFR (ITK-EGFR) : gefitinib (Iressa®), l'erlotinib (Tarceva®), ou l'afatinib (Giotrif®), dès la première ligne et identifier les patients qui pourront bénéficier d'une thérapie ciblée quelle que soit la ligne de traitement. Seuls les malades dont la tumeur présente une mutation activatrice de l'EGFR bénéficient du gefitinib en comparaison d'une chimiothérapie par un doublet de platine en première ligne de traitement. Ce bénéfice est encore plus grand en cas de délétion dans l'exon 19.

### **Indications**

Analyse nécessaire : CBNPC stades IV ou IIIB non irradiables, avant traitement par un ITK-EGFR en première ligne de traitement ou avant traitement par thérapie ciblée pour les autres lignes de traitement. En priorité : 1) les adénocarcinomes en particuliers chez les non- ou ex-fumeurs, les asiatiques et les femmes ; 2) les malades avec un CBNPC non éligibles pour une chimiothérapie comportant un doublet de platine (PS  $\geq 2$  ; comorbidités).

Analyse recommandée : CBNPC stades IV ou IIIB non irradiables, avant traitement par ITK-EGFR, quelle que soit la ligne de traitement.

Analyse exploratoire : CBNPC stades IV ou IIIB non irradiables, recherche des mutations de résistance au diagnostic et lors de la rechute à l'occasion d'une nouvelle biopsie (insertion de l'exon 20, T790M de l'exon 20).

Patients stades I, II et IIIA, notamment les tumeurs multiples.

### **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, cytologie...) sur lésion primitive ou métastatique.
- La référence est le prélèvement frais ou congelé rapidement qui induit le moins de résultats non-interprétables. Dans la pratique, sur prélèvement fixé en formol tamponné pendant moins de 48H.
- Contrôle histologique indispensable permettant d'indiquer le % de cellules tumorales.
- Macrodissection sur lame préférable si <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. Recherche des mutations dans les exons 19 (délétions) et 21 (mutation L858R) représentant > 85% des mutations activatrices.
2. Recherche de mutations activatrices plus rares dans les exons 18 (G719S, G719A, G719C) et 21 (L861Q).
3. Il n'y a pas d'indication avérée à la recherche des mutations des exons 20. La

mutation T790M est le plus souvent associée à une mutation activatrice et sa présence réduit l'efficacité des ITK-EGFR. Les délétions/insertions de l'exon 20 ont une signification thérapeutique incertaine.

4. Le séquençage a longtemps été considéré comme la technique de référence “gold standard”, mais présente cependant plusieurs limites. En effet, le STIC ERMETIC a montré dans sa partie prospective incluant plus de 500 malades consécutifs que 25% des échantillons analysés contenaient moins de 50% de cellules tumorales, ce qui est au dessous du seuil nécessaire pour assurer la fiabilité des résultats (Eberhard 2008, Pao 2007). Le taux d'échantillons non amplifiables pour les 4 exons était de l'ordre de 10% et de 15% pour le seul exon 18, 10% pour l'exon 19, 24% pour l'exon 20, 13% pour l'exon 21. Ces constatations également faites dans la phase rétrospective étaient améliorées par la suppression des prélèvements de mauvaise qualité (ancien, fixation au Bouin). Des techniques alternatives ont été développées et plusieurs d'entre elles sont utilisées par les plateformes de génétique moléculaire : le pyroséquençage ; le HRM (high resolution melting analysis), couplé ou non au séquençage ; la discrimination allélique ; l'extension d'amorces de type Snap Shot ; l'analyse de fragments...

### **Délai moyen de rendu de résultat**

7 à 14 jours

### **Informations complémentaires**

La probabilité de détecter une mutation activatrice dans un CBNPC est d'autant plus probable que la tumeur est un adénocarcinome (pulmonaire périphérique : TTF1 positif) (OR=4,4) et le malade non ou ancien fumeur (OR=6,5), d'origine asiatique (OR=3,3) et de sexe féminin (OR=1,7).

Néanmoins, l'association de ces 5 facteurs ne correspond que dans 60% des cas à une tumeur présentant une mutation activatrice de l'EGFR.

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

1. Cadranel J, Zalcman G, Sequist L.  
Genetic profiling and EGFR-directed therapy: evidence en clinical implications.  
Eur. Respir. J. 2011; Jan;37(1):183-93
2. Laurent-Puig P, Lièvre A, Blons H.  
Mutations and response to epidermal growth factor inhibitors.  
Clin Cancer Res. 2009; 15:1133.
3. Mok TS, Wu Y, Thongprasert S, Yang C, Chu D, Saijo N, et al.  
Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma.  
N. Engl. J. Med. 2009; 361:947.
4. Mitsudomi T, Yatabe Y.  
Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer.  
Cancer Sci. 2007; 98:1817.
5. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.  
Nat. Rev. Cancer. 2007; 7:169.

### **Auteurs**

- |   |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rédacteurs V1 : J. Cadranel, R. Lacave, P. Laurent-Puig</li> <li>• Relecteurs : M. Antoine, D. Damotte, F Goldwasser, C. Guettier, JF Fléjou</li> <li>• Validation Comité de Coordination</li> </ul> | le 06/06/2014<br>le 06/06/2014<br>le 16/06/2014 |
|---|---|