

GROUPE HOSPITALIER STARTT
(SAINT-ANTOINE – ROTHSCHILD – TENON - TROUSSEAU)
SITE HOPITAL TENON - 4, rue de la Chine 75020 PARIS

DEPARTEMENT DE GENOMIQUE DES TUMEURS SOLIDES (PR R. LACAVE)
CONTACTS : Pr Roger LACAVE, Virginie POULOT, Sylvain HUGONIN
TEL LABORATOIRE : 01 56 01 65 15 / 88 29 / TEL SECRETARIAT : 01 56 01 78 79

BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE :

PATIENT (ou étiquette à coller)	<input type="checkbox"/> Monsieur	<input type="checkbox"/> Madame
Nom :	Née :	
Prénom :	Date de naissance :	

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

NOM :
ADRESSE:.....

EXAMEN DEMANDE : RECHERCHE DE MUTATION DU GENE KRAS

MOTIF DE LA DEMANDE : Stratégie / Adaptation thérapeutique Dépistage
 Autre :

DATE DE LA DEMANDE

MATERIEL TRANSMIS : DOUBLE DU COMPTE-RENDU ET LAME HES A JOINDRE A LA DEMANDE

FIXATEUR UTILISE* : Formol Formol neutre AFA Autres (préciser): * PAS DE BOUIN
DECALCIFICATION : non oui (préciser la méthode) :
 Type de prélèvement : Cytologie Biopsie Pièce opératoire
 Site du prélèvement (organe) : Date du prélèvement :
 Référence Laboratoire : Diagnostic histologique :
 Nature (coupes, blocs, lames....) :

PRECISER DANS LA ZONE SELECTIONNEE POUR ANALYSE (prélèvement le plus tumoral possible)

% de noyaux de cellules tumorales :
 Commentaire (nécrose, fibrose, substance colloïde....) :

CLINICIEN REFERENT (coordonnées précises) : ORDONNANCE A JOINDRE

Nom :
 Adresse :

RECOMMANDATIONS DE TRANSPORT ET DELAI DE RENDU DE RESULTAT :

Voir fiche pratique

FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

HOPITAL TENON 4, RUE DE LA CHINE 75020 PARIS

PLATEFORME DE GENOMIQUE DES TUMEURS SOLIDES (Pr R LACAVE)

CONTACTS : Pr Roger LACAVE, Virginie POULOT, Sylvain HUGONIN

TEL LABORATOIRE : 01 56 01 65 15 / 88 29

TEL SECRETARIAT : 01 56 01 78 79

Informations pratiques concernant la recherche du statut mutationnel de KRas dans les cancers du colon à l'Hôpital Tenon

Pour quels patients :

Patients atteints de cancer colorectal métastatique

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

Dans quels buts :

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.

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

Sur quels prélèvements :

PRELEVEMENTS TISSULAIRES :

tumeur primitive ou localisation métastatique

tissus fixés préférentiellement en formol ou AFA, proscrire formellement le liquide de Bouin inclus en paraffine

la cellularité tumorale sera systématiquement évaluée sur coupe après coloration HES

PRELEVEMENTS CYTOLOGIQUES :

liquide péritonéal

prélèvement à acheminer dans un liquide de conservation stérile (NaCl, milieu de culture, proscrire les milieux hypotoniques)

la cellularité tumorale de l'échantillon communiqué devra être systématiquement précisée sur la fiche de demande

Où adresser sa demande (courrier médical urgent mentionné sur l'enveloppe) et le prélèvement

Référent : Virginie Poulot

Laboratoire : Hôpital Tenon

Service d'Histologie Biologie Tumorale, Pr JF BERNAUDIN

Plateforme de génomique des tumeurs solides

4, rue de la Chine

75971 PARIS Cedex 20

01.56.01.65.15 ou 88.29

- Le prélèvement sera aussi enregistré dans le logiciel de gestion du Service d'Anatomie Pathologique
- Le prélèvement reçu sera validé pour l'analyse moléculaire après examen par le Pr Isabelle Brocheriou (isabelle.brocheriou@tnn.aphp.fr)
- Les coupes de tissus, après macro-dissection éventuelle, sont préparées pour l'extraction de l'ADN dans le service d'Anatomie Pathologique, sous la responsabilité du Pr Isabelle Brocheriou, puis transmises pour les études moléculaires dans le service d'Histologie-Biologie Tumorale
- Le bloc tissulaire vous sera réadressé en même temps que le résultat

Que faut-il envoyer :

- **le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales** (par rapport aux cellules totales de l'échantillon) ainsi que la lame HES correspondante
- **le compte rendu d'examen** anatomo-pathologique correspondant au prélèvement
- **le Bon de demande d'examen** (téléchargeable sur le site) dûment rempli, comportant notamment les **coordonnées complètes du clinicien demandeur** pour une transmission optimale des résultats.
- la fiche de dédommagement pour désarchivage, le cas échéant.

Quel est le délai de rendu de l'analyse ?

Délai de rendu des résultats à partir de la réception du prélèvement : 8 à 18 jours

En cas de situation d'urgence, la mention **URGENT** sur le Bon de demande d'examen permettra, si possible, de réduire le délai de rendu.

Le résultat est adressé aux correspondants cliniciens dont les coordonnées sont précisées dans le bon de demande d'examen.

Quelles techniques d'analyse utilisons-nous ?

- Après analyse de la lame HES pour sélectionner une zone suffisamment tumorale, le bloc tumoral est coupé (avec ou sans macro-dissection) sur un microtome : 4 à 5 coupes de 20µm sont réalisées et transférées dans un tube identifié.
- L'extraction de l'ADN est réalisée à partir des coupes tissulaires à l'aide du kit d'extraction QIAmp (QIAgen) selon un protocole standardisé. L'ADN est ensuite dosé en spectrophotométrie.
- La recherche de mutations ponctuelles des mutations G12S, G12R, G12C, G12D, G12A, G12V et G13D est effectuée par sonde Taqman. Cette technique est sensible mais ne détecte que les mutations recherchées (citées ci-dessus)

FICHE MEDICALE

Pathologie	Analyse
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 |