

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 BRAF

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 BRAF dans les mélanomes à l'Hôpital Tenon

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.

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Mélanome / BRAF » 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

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 Dr Philippe Moguellet
- 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 Dr Philippe

Moguelet, 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 la mutation V600E est effectuée par sonde Taqman.

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 |