
	Formulaire	EXAMEN D'ONCOLOGIE MOLECULAIRE			PLATFORME ONCOMOLPATH
	Réf. : ANAP/FO/008/V5	Date d'application : 28/07/2014	Page : 1/1		
Laboratoire de Biochimie (Service du Pr. BEAUNE) UF Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire Contacts : Dr Hélène Blons, Dr Céline Narjoz Tél. : 01 56 09 3935/2435/3882 Fax : 3393		Laboratoire d'Anatomopathologie (Service du Pr. BRUNEVAL) Contacts : Dr Laure Gibault Tél. : 01 56 09 2336/3886 Fax : 3889			

Patient	Nom :	Prénom :
Né(e) :	Date de naissance : ____/____/____	Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>

Pathologiste demandeur :	Clinicien référent :
Date de la demande :	Contexte de la demande :
Nom, adresse :	Nom, adresse :


Matériel transmis (Prélèvement fixé de préférence dans du formol moins de 48 heures)		
Date prélèvement :	URGENT <input type="checkbox"/>	
Délai prélèvement/fixation :	Fixateur :	Durée fixation :
Diagnostic anatomopathologique (double du CR) :		
Référence laboratoire :	Nature: copeaux <input type="checkbox"/> lames <input type="checkbox"/> Blocs <input type="checkbox"/>	
% de cellules tumorales dans la zone sélectionnée :		

Tumeur primitive : Poumon ☐ **Colon** ☐ **Mélanome** ☐ **Ovaire** ☐ **Autres tumeurs** ☐ :

Gènes à analyser:	Date réception plateforme :
<input type="checkbox"/> Typage colon (KRAS, BRAF, NRAS)	<input type="checkbox"/> Bétacaténine
<input type="checkbox"/> Typage poumon (EGFR, KRAS, BRAF, HER2)	<input type="checkbox"/> Autre typage :
<input type="checkbox"/> Typage mélanome (BRAF, NRAS)	<input type="checkbox"/> Exome/RNAseq :
<input type="checkbox"/> Phénotype RER (MSI)	<input type="checkbox"/> Protocole (joindre demande spécifique) :

Estimation du % de cellules tumorales (réservé au Service de Pathologie de la plateforme)		
Date de réception : ____/____/____	Prélèvement conforme: OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> N° d'examen en T </div>
Date de coupe : ____/____/____	Technicien : _____	
Copeaux <input type="checkbox"/> ou Macro-dissection <input type="checkbox"/>		
IHC MSI <input type="checkbox"/>	IHC Alk5A4 +3 LB <input type="checkbox"/>	
LB <input type="checkbox"/> , nombre : _____		
% de cellules tumorales : <10% <input type="checkbox"/> 10-20% <input type="checkbox"/> 20-50% <input type="checkbox"/> >50% <input type="checkbox"/>		
Commentaires : _____		
Pathologiste : _____	Date : ____/____/____	Code ADICAP : ____/____/ 0181

	Fiche	MODALITES PRE-ANALYTIQUES POUR LES ECHANTILLONS TUMORAUX DEVANT FAIRE L'OBJET D'UNE ANALYSE MOLECULAIRE		
	Réf. : ANAP/FI/010/V1	Date d'application : 09/08/2013	Page : 1/2	

Rédaction		Validation		Approbation 
Nom, fonction	Date	Nom, fonction	Date	
HELENE BLONS Maître de conférences à l'université praticien hospitalier 17/07/2013 SOPHIE MAILLARD Technicien d'analyse en biologie médicale 19/06/2013	19/06/2013	PATRICK BRUNEVAL Médecin professeur d'université - praticien hospitalier 09/08/2013	09/08/2013	

1- Références et documents

Guide « Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides »

<http://www.e-cancer.fr/soins/les-traitements/laces-aux-therapies-ciblees/les-plateformes-de-genetique-moleculaire-des-cancers>

Site web de la plateforme INCA APHP « Oncomolpath ». Sont disponible des fiches médicales consultables par gènes, sites ou organes

<http://portail-web.aphp.fr/zoncomolpath/public/index/recherche/type/F>

2- Le prélèvement

2.1 Type de prélèvement

La recherche de mutations somatiques peut être effectuée sur tout prélèvement contenant des cellules tumorales : pièce opératoire, biopsies ou cytologie.

Le prélèvement peut être obtenu au moment du diagnostic initial ou à distance sur la tumeur primitive ou une métastase.

2.2 Fixation du prélèvement

La méthode de fixation influe sur la qualité de l'ADN obtenu. La fixation en formol tamponné suivie d'une inclusion en paraffine doit être privilégiée.

La durée de fixation doit être, dans la mesure du possible,

- Pour les biopsies : inférieure à 48 heures.
- Pour les pièces opératoires : supérieure à 24 heures et de préférence inférieure à 96 heures

Les autres fixateurs (liquide de Bouin et autres fixateurs contenant de l'acide picrique, fixateurs contenant des dérivés mercuriels) peuvent interférer avec les analyses de biologie moléculaire et ne sont pas recommandés

Les fixateurs à base d'alcool ou les substituts de formol (type Excell Plus, FineFix ou RCL2) et l'AFA (alcool/formol/acide acétique) ne peuvent être considérés comme des standards.

2.3 Matériel utilisé

Un bloc suffisamment riche en matériel tumoral doit être sélectionné.

Envoi de blocs tumoraux : Le pathologiste responsable du diagnostic de cancer sélectionne les blocs et les envoie à la plateforme. La préparation et la qualification des échantillons sont alors réalisées par un pathologiste de la plateforme.

	Fiche	MODALITES PRE-ANALYTIQUES POUR LES ECHANTILLONS TUMORAUX DEVANT FAIRE L'OBJET D'UNE ANALYSE MOLECULAIRE		
	Réf. : ANAP/FI/010/V1	Date d'application : 09/08/2013	Page : 2/2	

Envoi de copeaux tumoraux (3-5 copeaux de 10 µm à 20 µm) : Le pourcentage de cellules tumorales sera indiqué sur la feuille de demande. Il est rappelé que lorsque ce pourcentage est inférieur à 20%, un envoi de 5 lames blanches 5 µm avec zone tumorale cerclée est préférable à l'envoi des copeaux.

Envoi d'ADN extraits : Le pourcentage de cellules tumorales correspondant au bloc ayant servi pour l'extraction sera indiqué sur la feuille de demande.

Pour ces deux cas de figure : le pathologiste responsable du diagnostic de cancer souhaite prélever, qualifier et/ou préparer lui-même les échantillons. Une collaboration est formalisée par une convention. Le pathologiste ou biologiste moléculaire de la plateforme s'assure que le pathologiste responsable du diagnostic de cancer est formé aux conditions d'assurance-qualité et qu'il s'engage à les respecter par la suite.

3- Réalisation

Afin d'éviter les contaminations par des micro-fragments tissulaires il est recommandé d'utiliser un poste de travail dédié pour la préparation des échantillons.

Les extractions d'ADN doivent être réalisées avec un matériel dédié, dans une zone dédiée.

Le pourcentage de cellules tumorales sera établi comme indiqué dans le guide « Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides »

<http://www.e-cancer.fr/soins/les-traitements/laces-aux-therapies-ciblees/les-plateformes-de-genetique-moleculaire-des-cancers>

Le prélèvement est envoyé accompagné des données mentionnées dans le contrat de sous-traitance. La feuille de demande peut être téléchargée depuis le site ONCOMOLPATH

4- Annexe

Des informations pratiques pourront être consultées sur les sites de l'INCA et ONCOMOLPATH

<http://www.e-cancer.fr/soins/les-traitements/laces-aux-therapies-ciblees/les-plateformes-de-genetique-moleculaire-des-cancers>

<http://portail-web.aphp.fr/zoncomolpath/public/index/recherche/type/F>

Pour toute question vous pouvez joindre la plateforme de l'HEGP

Pathologie

Dr Laure Gibault : 01 56 09 23 36
 Dr Sophie Camilleri : 01 56 09 38 93
 Dr Tchao Méatchi : 01 56 09 39 09
 Sec : 01 56 09 38 86 / 87 / 88

Biologie Moléculaire

Dr H BLONS : 0156093935/5686
 Dr C NARJOZ : 0156092435
 Secrétariat : 0156093882

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 monomorphes 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