

**HOPITAUX UNIVERSITAIRES PARIS NORD VAL DE SEINE
(BICHAT - LOUIS MOURIER - BEAUJON -BRETONNEAU - RICHET)**

46, RUE HENRI HUCHARD, 75877 PARIS Cedex 18

STANDARD : 01 40 25 80 80 INTERNATIONAL : 331 40 25 83 05

DEPARTEMENT DE GENETIQUE (Pr B.GRANDCHAMP) - CONTACT : Dr N. THEOU-ANTON - Dr J.LAMORIL - Pr. N. SOUFIR TEL SECRETARIAT : 01 40 25 88 51/FAX : 01.40.25.87.85
DEPARTEMENT DE PATHOLOGIE (Pr. P. BEDOSSA) - CONTACT : Pr.A COUVELARD (BICHAT - TEL : 01 40 25 80 03) - Dr N.GUEDJ (BEAUJON - TEL : 01 40 87 54 59) - Dr M.GROSSIN (LOUIS MOURIER - TEL : 01 47 60 62 61)
BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE

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

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

NOM :
 ADRESSE :
 Tél : Fax :

PRESCRIPTION

 DATE DE LA DEMANDE :/...../..... CONTEXTE DE LA DEMANDE : **Urgent :** oui non

Cochez-ici

- Recherche d'une instabilité de microsatellite (MSI)/ phénotype RER
- Recherche de mutations du gène KRAS exon 2 (dont codon 12 et 13) et exon 3 (dont codon 61)
- Recherche de mutations du gène NRAS exon 2 (dont codon 12 et 13) et exon 3 (dont codon 61)
- Recherche de mutations du gène PI3KCA exon 9 et 20
- Recherche de mutations du gène BRAF exon 11 et 15 (dont V600E)
- Recherche de mutations du gène CKIT exon 9, 10, 11, 13 et 17
- Recherche de mutations du gène EGFR exon 18, 19, 20 et 21

ORIGINE DU PRELEVEMENT
Merci de joindre une copie du compte rendu anapath

<input type="checkbox"/> Colon	<input type="checkbox"/> Poumon	<input type="checkbox"/> Mélanome	Autre :
--------------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	---------------

N° de CR anapath et n° de bloc :

% de cellules tumorales :

Type histologique de la tumeur :

 Type de prélèvement : Biopsie Pièce opératoire Cytologie (culot) Autres :

 Tissu fixé (bloc paraffine) :

COLON, POUMON ou MELANOME

- Si >30% de cellules tumorales : 10 coupes de 10µm (copeaux dans un tube).
- Si <30% de cellules tumorales : 10 coupes de 10µm sur lames. Cerclez la zone d'intérêt avant envoi (+1HPS annoté).

 Tissu congelé : Faire 10 coupes de 10 µm de tissu congelé minimum (ou environ 3 à 5 mm3) dans un cryotube (à envoyer dans la carboglace ou l'azote).

CLINICIEN REFERENT (coordonnées précises)

NOM :	
ADRESSE :	
Tél :	Fax :

FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

HOPITAUX UNIVERSITAIRES PARIS NORD VAL DE SEINE (BICHAT - LOUIS MOURIER - BEAUJON -BRETONNEAU - RICHET)

46, RUE HENRI HUCHARD, 75877 PARIS Cedex 18

STANDARD : 01 40 25 80 80 INTERNATIONAL : 331 40 25 83 05

DEPARTEMENT DE GENETIQUE (Pr B.GRANDCHAMP) - CONTACT : DR N. THEOU-ANTON - DR J.LAMORIL - Pr. N. SOUFIR
TEL SECRETARIAT : 01 40 25 88 51/FAX : 01.40.25.87.85

DEPARTEMENT DE PATHOLOGIE (Pr. P. BEDOSSA) - CONTACT : DR.A COUVELARD (BICHAT - TEL : 01 40 25 80 03) - DR
N.GUEDJ (BEAUJON - TEL : 01 40 87 54 59) - DR M.GROSSIN (LOUIS MOURIER - TEL : 01 47 60 62 61)

Informations pratiques concernant la recherche de l'instabilité des microsatellites (MSI) dans les adénocarcinomes du colon

Pour quels patients :

Patients atteints de cancer colorectal métastatique.

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

Dans quels buts :

- Identifier les patients atteints d'un cancer colorectal susceptibles d'être atteints d'un syndrome de Lynch (ou syndrome HNPCC) et devant bénéficier d'une consultation d'oncogénétique.
 - Aide à la décision d'une thérapie adjuvante dans les stades II
- Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale
« Colon/Endomètre/Adénocarcinome - Phénotype MSI » de l'AP-HP.

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 30%** de cellules tumorales (par rapport au nombre total de cellules du prélèvement). Cette donnée chiffrée doit être indiquée dans la fiche de prescription pour une interprétation pertinente des résultats.

Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à l'**hôpital Bichat** par le département de Génétique Moléculaire pour l'analyse moléculaire après envoi des prélèvements par le service d'anatomie pathologique.

Services d'anatomie pathologique des Hôpitaux extérieurs ou privés

Après validation et préparation des échantillons, les coupes de tissus seront ensuite adressées, par l'anatomopathologiste référent au correspondant biologiste moléculaire du département de Génétique Moléculaire à Bichat qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation (voir ci-dessous les coordonnées)

Services d'anatomie pathologique des Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine

➔ Le prélèvement sera initialement réceptionné, validé et préparé pour l'analyse moléculaire par le laboratoire d'anatomie pathologique référent selon les sites :

Département d'Anatomie Pathologique - Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine

HOPITAL BEAUJON	HOPITAL BICHAT	HOPITAL LOUIS MOURIER
Référent : Dr N. GUEDJ 100, boulevard du Général Leclerc 92110 Clichy Réception : 01 40 87 54 59	Référent : Dr M. HOURSEAU 46 rue Henri Huchard 75018 Paris Réception : 01 40 25 80 03	Référent : Dr M. GROSSIN 178 rue des Renouillers 92700 Colombes Réception : 01 47 60 62 59

→ Les coupes de tissus seront ensuite adressées, par l'anatomopathologiste référent au correspondant biologiste moléculaire du département de Génétique Moléculaire à Bichat qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation :

Référents : Dr Nathalie Théou-Anton (nathalie.theou-anton@bjn.aphp.fr)
 Dr Jérôme Lamoril (jerome.lamoril@bch.aphp.fr)
 Pr Nadem Soufir (nadem.soufir@bch.aphp.fr)

Laboratoire : Département de Génétique Moléculaire
 Hôpital Bichat
 46 rue Henri Huchard
 75877 Paris cedex 18
 Réception: **01.40.25.88.51** / fax **01.40.25.87.85**

Que faut-il envoyer :

→ Si envoi des blocs directement à un service d'anatomie pathologique des Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine

- Le bloc tumorale le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon)
- Le **compte rendu d'anatomopathologie** 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.

Le laboratoire d'anatomie pathologique transmet au Département de Génétique Moléculaire, le dossier administratif et les copeaux du prélèvement dûment identifié pour analyse.

→ Si envoi des copeaux (ou lames) du prélèvement directement au département de Génétique Moléculaire :

- 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.
- le **compte rendu d'anatomopathologie** correspondant au prélèvement
- Les **copeaux du prélèvement** dûment identifié pour analyse
- 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 au laboratoire de génétique, un délai maximum de **15 jours** est à prévoir. Le résultat est adressé aux correspondants qui seront mentionnés dans le Bon de demande d'examen. Le résultat est signé par les référents biologistes moléculaires.

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 ré-adressé secondairement par le service d'anatomie pathologique.

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).
- Plusieurs situations sont possibles, fonction du % de cellules tumorales de l'échantillon :

- Si >30% de cellules tumorales :

Retirer la paraffine au maximum avant de réaliser 5 coupes de 10µm et les placer dans un tube de 1,5ml (type microtube à centrifuger TREFF 1,5 ml click-cap, Ref 8288601, VWR)

- Si <30% de cellules tumorales :

Réaliser 5 coupes de 10µm sur lames. Cercer la zone d'intérêt avant envoi (IHPS annoté).

- Statut MSI : IHC hMLH1, hMSH2 et hMSH6

→ Au service de génétique moléculaire:

- l'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée sur colonne Qiagen après traitement de la coupe paraffinée par la protéinase K.
- L'étude systématique se fait par analyse de fragments amplifiés par PCR (sur les marqueurs microsatellites validés BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27) sur ABI 3130 (Applied Biosystems).

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 |