

GROUPE HOSPITALIER AVICENNE – JEAN VERDIER – RENE MURET

Contacts :

Pr O. SCHISCHMANOFF, service de BIOCHIMIE, Hôpital Avicenne, 125 rue de Stalingrad, 93009 BOBIGNY – T : 01 48 95 56 24 / F : 01 48 95 56 27

Dr C. LAGORCE, service de PATHOLOGIE, Hôpital Avicenne, 125 rue de Stalingrad, 93009 BOBIGNY – T : 01 48 95 56 07 / F : 01 48 95 56 02

BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE

PATIENT

☐ Monsieur

☐ Madame

Nom :

Née :

Prénom :

Date de naissance :

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

NOM :

ADRESSE :

EXAMEN DEMANDE :

CONTEXTE DE LA DEMANDE :

DATE DE LA DEMANDE :

MATERIEL TRANSMIS

FIXATEUR UTILISE :**

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 REFERENT (coordonnées précises)

Nom :

Adresse :

RECOMMANDATIONS DE TRANSPORT ET DELAI DE RENDU DE RESULTAT

FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

HOPITAL AVICENNE

135, ROUTE DE STALINGRAD, 93009 BOBIGNY CEDEX
STANDARD : 01 48 95 55 55 INTERNATIONAL : 33 1 48 95 55 55

SERVICE DE BIOCHIMIE (Pr N.) - CONTACT : Pr O. SCHISCHMANOFF - TEL SECRETARIAT : 01 48 95 50 21/FAX : 01 48 95 56 27

SERVICE DE PATHOLOGIE (Pr A. MARTIN) - CONTACT : DR C. LAGORCE - TEL SECRETARIAT : 01 48 95 56 01/FAX: 01 48 95 56 02

Informations pratiques concernant les recherches : statut mutationnel de KRAS, BRAF et statut MSI dans les cancers du colon à l'hôpital Avicenne

Pour quels patients :

Patients atteints de cancer colorectal métastatique (1).

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

Patients nécessitant une détermination du statut MSI/BRAF dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique (2).

Dans quels buts :

(1) 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 - K-RAS/ mutations » de l'AP-HP.

(2) Identifier un éventuel syndrome HNPCC

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). Si nécessaire, la cellularité tumorale du prélèvement sera estimée par le pathologiste de la plateforme, elle peut néanmoins être précisée sur la fiche de prescription si elle est connue du prescripteur.

Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à l'hôpital Avicenne.

➔ Le prélèvement sera réceptionné par le service de biochimie et biologie moléculaire.

Référent : Pr O. SCHISCHMANOFF

laboratoire : Biochimie et biologie moléculaire, *Unité d'oncologie moléculaire*
Hôpital Avicenne

135 route de Stalingrad, 93009 Bobigny cedex

Réception : 01 48 95 50 21 poste 66 24

Qui transmet, le cas échéant, à son correspondant pathologiste.

Référent : Dr C. LAGORCE (56 07) christine.lagorce@avc.aphp.fr
Secrétariat : 01 48 95 56 01

Si nécessaire, le pathologiste de la plate-forme sélectionne le bloc tumoral et détermine le pourcentage de cellules tumorales sur la coupe correspondante colorée par l'HES. Des coupes épaisses ou des copeaux sont préparés et transmis à l'unité d'oncologie moléculaire qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation.

Les résultats seront transmis au prescripteur, ils peuvent être obtenus en contactant la plateforme :

référent : Pr O. SCHISCHMANOFF (01 48 95 56 24) olivier.schischmanoff@avc.aphp.fr

Que faut-il envoyer :

- Tumeur primitive ou localisation métastatique fixée (préférentiellement formol, le liquide de Bouin est formellement exclu) et incluse en paraffine.

→ Préférentiellement, au laboratoire de biochimie et biologie moléculaire :

- **Plusieurs copeaux** d'un fragment tumoral fixé en formol neutre et inclus en paraffine, placés dans un microtube tube cône de 1,5 mL et *DNAse-free*.
- Ou : 4 coupes épaisses ($\geq 7 \mu\text{m}$) d'un fragment tumoral fixé en formol neutre et inclus en paraffine et 1 coupe contiguë colorée (HES) avec indication claire de la zone tumorale.

N.B. : **Le prélèvement doit comporter plus de 30% de cellules tumorales.**

→ A défaut, au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques :

- le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon).

→ Dans tous les cas :

- 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 moyen de 15 jours** (maximum 21 jours) est à prévoir. Le résultat est adressé aux correspondants qui seront mentionnés dans le Bon de demande d'examen. Le résultat est co-signé par les référents anatomo pathologistes et 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 en même temps que le résultat.

Quelles techniques utilisons-nous ?

→ à l'unité d'oncologie moléculaire :

- l'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée.

KRAS : discrimination allélique à l'aide de 7 sondes couvrant les 7 mutations à rechercher (G12S, G12R, G12C, G12D, G12A G12V et G13D) Taqman 7000 ou 7500 (Applied). Cette technique est sensible (5%) mais ne détecte que les mutations citées ci-dessus.

BRAF : discrimination allélique à l'aide d'une sonde permettant l'identification de la **mutation V600E**. Cette technique est sensible (5%).

Statut MSI : Analyse de fragment à l'aide des marqueurs microsatellites validés BAT25, BAT26, NR21, NR24 et NR27.

Ces analyses sont effectuées en duplicate.

→ 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 10µm seront réalisées et transmises au laboratoire d'oncologie moléculaire

Statut MSI : IHC hMLH1, hMSH2 et hMSH6. Cette technique est réalisée à la demande du prescripteur, et après mise en évidence d'une instabilité microsatellitaire (MSI) par biologie moléculaire.

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