

**GROUPE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE
ALBERT CHENEVIER - HENRI MONDOR**

51 AVENUE DU MARECHAL DE LATTRE DE TASSIGNY - 94010 CRETEIL Cedex

 Contact : DEPARTEMENT DE PATHOLOGIE : Dr Christiane COPIE (FISH), Dr Marie-Luce AURIAULT (IHC)
 tel secrétariat : 01 49 81 27 28

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 :	
Adresse (pour facturation):		

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

 NOM :
 ADRESSE:

EXAMEN DEMANDE : Expression de la protéine HER2 (IHC) FISH HER2

 MOTIF DE LA DEMANDE : Patient métastatique Oui : Non :
 DATE DE LA DEMANDE :

MATERIEL TRANSMIS : DOUBLE DU COMPTE-RENDU A JOINDRE IMPERATIVEMENT A LA DEMANDE

 FIXATEUR UTILISE** : Formol Formol neutre AFA Autres (préciser): ** PAS DE BOUIN
 DECALCIFICATION : non oui (préciser la méthode) :
 Type de prélèvement : Biopsie Pièce opératoire
 Site du prélèvement (organe) : Sein Estomac Autre : à préciser
 Diagnostic histologique :
 Référence Laboratoire : Date du prélèvement :

PIECES A JOINDRE OBLIGATOIUREMENT

1. Bloc paraffine HES
2. IHC HER2 pour les demandes de FISH HER2
3. Compte-rendu histologique et d'immunohistochimie HER2 (en cas de demande de FISH)

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 HENRI MONDOR
51, AVENUE DU MARECHAL DE LATTRE DE TASSIGNY, 94010 CRETEIL CEDEX

DEPARTEMENT DE PATHOLOGIE (Pr ES ZAFRANI)

CONTACTS : Dr Christiane COPIE (FISH), Dr Marie-Luce AURIAULT (IHC)

TEL SECRETARIAT : 01 49 81 27 28 / Fax : 01 49 81 27 33

Informations pratiques concernant la recherche d'une surexpression de la protéine HER2 par immunohistochimie (IHC) ou d'une amplification du gène HER2 par hybridation in situ fluorescente (FISH) dans les adénocarcinomes gastriques

Pour quels patients :

Patients atteints de cancer gastrique, ou de la jonction œsogastrique, métastatique

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Estomac / Adénocarcinome - HER2/surexpressions -HER2/amplifications » de l'APHP.

Dans quels buts :

Définir l'éligibilité à un traitement ciblé par anticorps anti-HER2 (trastuzumab).

Seuls les patients dont la tumeur présente une surexpression de la protéine HER2 (IHC score 3+) ou une amplification du gène HER2 (rapport HER2/CEN17 >2.2 ou un nombre de copies du gène HER2/noyau > 6) en première ligne de traitement en situation métastatique, peuvent actuellement bénéficier d'un traitement par anticorps anti-HER2 (Autorisation Européenne du 17 décembre 2009).

Sur quels prélèvements :

Pièce opératoire ou biopsie de la tumeur primitive ou d'une métastase

Fixée (préférentiellement en formol, le liquide de Bouin est formellement exclu) et incluse en paraffine.

Que faut-il envoyer :

1. **Un bloc tumoral.** S'il s'agit d'une biopsie de la tumeur primitive : un minimum de 5 à 8 fragments biopsiques tumoraux est indispensable à l'analyse compte-tenu de l'hétérogénéité de l'expression/amplification de HER2 par les carcinomes gastriques. S'il s'agit d'une pièce opératoire, privilégier un bloc comportant, s'il existe, un secteur de différenciation intestinale. En cas d'analyses moléculaires, le pourcentage de cellules tumorales doit être spécifié dans la demande.
2. **Une lame HES correspondante**
3. **Le compte rendu d'examen anatomo-pathologique**
4. **En cas de demande d'analyse FISH, joindre impérativement la lame d'immunohistochimie HER2 et le compte-rendu d'immunohistochimie**
5. **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.**
6. **Coordonnées du patient (Nom, prénom et adresse de la patiente) pour facturation.**

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

Référent : Dr Christiane Copie (FISH), Dr Marie-Luce AURIAULT (IHC)

Laboratoire : Hôpital Henri Mondor,

Département de Pathologie (RDC haut)

51 av du Mal de Lattre de Tassigny

94010 CRETEIL Cedex

Réception : 01 49 81 27 28 ou 27 32

→ Le prélèvement sera enregistré dans le logiciel de gestion du laboratoire par le secrétariat.

→ **A réception, la demande est validée par le médecin concerné : en l'absence des documents requis, le prélèvement sera retourné.**

Quelles techniques d'analyse utilisons-nous ?

→ **En première intention** : détection immunohistochimique avec anticorps A0485. Résultats donnés selon les recommandations de l'ASCO pour le cancer du sein (Wolff 2007), modifiées pour l'estomac (Hofman 2008) :

Sur pièce opératoire :

- a. **Score 3+** considéré comme positif : >10% de cellules tumorales avec marquage membranaire intense (vu au plus faible grossissement, confirmé à l'objectif x 10), en cadre (complet) ou baso-latéral,
- b. **Score 2+** considéré comme équivoque : >10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire modéré (vu à l'objectif x 10, confirmé à l'objectif x 20), en cadre (complet) ou baso-latéral,
- c. **Score 1+** considéré comme négatif : >10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire faible (vu à l'objectif x 20, confirmé à l'objectif x 40), généralement partiel
- d. **Score 0** considéré comme négatif : absence de marquage, ou marquage de < 10% de cellules tumorales.

Sur biopsie :

- sont considérés comme positifs 3+ tous les cas avec des groupes de cellules cohésives ayant un marquage membranaire intense, en cadre (complet) ou baso-latéral quel que soit le pourcentage de cellules tumorales marquées.
- sont considérés comme positifs 2+ tous les cas avec des groupes de cellules cohésives avec marquage membranaire modéré, en cadre (complet) ou baso-latéral, quel que soit le pourcentage de cellules tumorales marquées.

→ **En cas de résultat équivoque** de l'IHC (score 2+), une technique d'**hybridation in situ**, recherchant l'amplification du gène HER2 sur le chromosome 17, est réalisée.

Résultats donnés selon les recommandations de l'ASCO (Wolff 2007) :

- i. **cas amplifié** : > 6 copies du gène HER2 / noyau (en l'absence de sonde centromérique CEN17 du chr 17) OU un rapport nombre de copies du gène HER2 / nombre de copies du centromère 17 > 2,2.
- ii. **cas non amplifié** : < 4 copies de HER2 / noyau OU un rapport HER2 / CEN 17 < 1.8
- iii. **cas demeurant équivoque** : copies HER2>4 mais <6 ou HER2/CEN17>1.8 mais <2.2

Quel est le délai de rendu de l'analyse ?

A partir de la réception du prélèvement, la technique prend en moyenne :

- **7 jours** pour l'immunohistochimie (technique groupée)
- **14 à 21 jours** pour l'hybridation in situ (technique groupée)

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 réadressé avec le résultat.

FICHE MEDICALE

Pathologie	Analyse
Estomac / Adénocarcinome	ERBB2 (HER2) / surexpression - <i>ERBB2 (HER2)</i> / amplification

But : Accès à une thérapie ciblée

Identifier les patients atteints d'adénocarcinome de l'estomac ou de la jonction oesogastrique éligibles pour un traitement par anticorps anti-HER2 (trastuzumab).

Seuls les patients dont la tumeur présente une surexpression (IHC score 3+) ou une expression équivoque (IHC score 2+) avec amplification d'ERBB2 (ERBB2/CEN17 supérieure ou égale à 2; nombre de copies ERBB2/noyaux > 6) en première ligne de traitement en situation métastatique, peuvent actuellement bénéficier d'un traitement par anticorps anti-ERBB2 (Autorisation Européenne du 17 décembre 2009).

Indications

Analyse nécessaire : pour tous les adénocarcinomes de l'estomac ou de la jonction oesogastrique en situation métastatique.

Analyse recommandée : pour tous les adénocarcinomes de l'estomac ou de la jonction oesogastrique localement avancés (stade AJCC – TNM 7^{ème} édition 2010 ≥ IB) ou récidivants.

Analyse exploratoire : sans objet.

Recommandations générales concernant les prélevements

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.

- **Nature des prélevements tumoraux :**
 - pièce opératoire ou biopsie de la tumeur primitive ou d'une métastase.
- **Type du prélevement :**
 - fixé en formol tamponné de préférence, pendant moins de 48h (éventuellement en AFA)
 - convient pour l'IHC, la FISH, la CISH et les études moléculaires sur l'ADN.
 - la fixation en AFA doit être précisée (pour adapter les techniques).
- **Analyses avant envoi :**
 - Contrôle histologique préalable avant envoi pour s'assurer de la cellularité de l'échantillon tumoral.

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. **En première intention** : détection immunohistochimique avec anticorps validés (herceptest ou CB11 ou 4B5). Résultats donnés selon les recommandations de l'ASCO pour le cancer du sein (Wolff 2007), modifiées pour l'estomac (Hofman 2008) :

Sur pièce opératoire :

- a. **Score 3+** considéré comme positif : >10% de cellules tumorales avec marquage membranaire intense, en cadre (complet) ou baso-latéral,
- b. **Score 2+** considéré comme équivoque : >10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire modéré, en cadre (complet) ou baso-latéral,
- c. **Score 1+** considéré comme négatif : >10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire faible (généralement partiel),
- d. **Score 0** considéré comme négatif : absence de marquage, ou marquage de < 10% de cellules tumorales.

Sur biopsie :

- sont considérés comme positifs 3+ tous les cas avec des groupes de cellules cohésives ayant un marquage membranaire intense, en cadre (complet) ou baso-latéral quel que soit le pourcentage de cellules tumorales marquées.
- sont considérés comme positifs 2+ tous les cas avec des groupes de cellules cohésives avec marquage membranaire modéré, en cadre (complet) ou baso-latéral, quel que soit le pourcentage de cellules tumorales marquées.

2. **En cas de résultat équivoque** de l'IHC (score 2+), une seconde technique est nécessaire :

Il s'agit habituellement d'une technique d'hybridation *in situ* recherchant l'amplification du gène ERBB2 sur le chromosome 17. La FISH est une hybridation *in situ* fluorescente, la CISH et la SISH sont des hybridations *in situ* chromogéniques (Papouchado 2010). Résultats donnés selon les recommandations de l'ASCO (Wolff 2007) :

- i. **cas amplifié** : > 6 copies de ERBB2 /noyau (en l'absence de sonde centromérique du chr 17) OU un rapport nombre de copies ERBB2 / nombre de copies du chr 17 (sonde centromérique sur chr 17) > 2,2.
- ii. **cas non amplifié** : < 4 copies de ERBB2 /noyau OU un rapport ERBB2 / CEP 17 < 1,8
- iii. **cas demeurant équivoque** : copies ERBB2>4 mais <6 ou ERBB2/CEP17>1,8 mais <2,2

Délai moyen de rendu de résultat

7 à 14 jours

Informations complémentaires

Contexte scientifique :

Le gène *ERBB2* (*HER2*) est situé sur le bras long du chromosome 17 et code pour un récepteur membranaire de la famille du récepteur de l'EGF ayant une activité tyrosine kinase lorsqu'il se dimérisé. Il active alors des cascades de phosphorylations intracellulaires,

induisant la prolifération, la survie, et la mobilité cellulaire et stimulant l'angiogenèse. La protéine ERBB2 est surexprimée dans 15 à 20% des cancers du sein, presque toujours à cause d'une amplification du gène *ERBB2* (multiplication du nombre de copies de ce gène). Elle est également surexprimée dans environ 15 à 20% des cancers de l'estomac, plus souvent dans les cancers bien différenciés de type « intestinal » de Lauren, et dans les cancers de la jonction oeso-gastrique. Il faut noter que l'expression en immunohistochimie est souvent hétérogène dans les cancers de l'estomac, et qu'elle peut être baso-latérale, la membrane apicale restant négative dans les cancers différenciés. La corrélation entre la surexpression de *ERBB2* au niveau membranaire et l'amplification au niveau génomique est excellente dans le cancer du sein, mais elle est moins bien établie dans le cancer de l'estomac. Le bénéfice d'un traitement par Trastuzumab associé à la chimiothérapie a été montré dans les adénocarcinomes de l'estomac et de la jonction oeso-gastrique localement avancés, récidivants, ou métastatiques, dans un essai de phase III (Van Cutsem, ASCO 2009). Ce traitement dispose donc d'une autorisation européenne dans l'indication métastatique en première ligne, pour les cancers surexprimant la protéine *ERBB2* (3+ en immunohistochimie), et pour les tumeurs équivoques en immunohistochimie (2+) et présentant une amplification du gène *ERBB2*.

Références (sur les indications et les techniques)

1. Hofmann M et al.
Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study.
Histopathology. 2008;52:797-805.
2. Papouchado BG et al.
Silver in situ hybridization (SISH) for determination of HER2 gene status in breast carcinoma: comparison with FISH and assessment of interobserver reproducibility.
Am J Surg Pathol. 2010 ;34(6):767-76.
3. Van Cutsem E, et al.
Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC).
ASCO 2009.
4. Wolff AC et al.
American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer.
J Clin Oncol. 2007;25(1):118-45.

Auteurs

- | | |
|--|----------------|
| • Rédacteurs V1 : J-F Fléjou, K Leroy, P. Laurent-Puig | le 21/07/2010 |
| • Relecteurs : S. Chaussade, JF Fléjou, C. Guettier | le 10/08/2010 |
| • Validation Comité de Coordination | le 06/10 /2010 |