

**GROUPE HOSPITALIER PAUL BROUSSE – BICETRE – A.BECLERE**

12, avenue Paul-Vaillant-Couturier - 94804 VILLEJUIF Cedex

Contact : PLATE-FORME DE BIOPATHOLOGIE - Prs C Guettier & A.Lemoine- tel secrétariat : 0145533690

**BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE**

<b>PATIENT</b>	<input type="checkbox"/> Monsieur	<input type="checkbox"/> 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

**GROUPE HOSPITALIER PAUL BROUSSE - BICETRE - ANTOINE BECLERE**  
**14, avenue Paul-Vaillant Couturier - 94804 VILLEJUIF Cedex**

**DEPARTEMENT DE BIO-PATHOLOGIE DES TUMEURS SOLIDES ET HEMOPATHIES**

**CONTACTS : PRS C. GUETTIER & A. LEMOINE - TEL SECRETARIAT : 0145593690**

### **Informations pratiques concernant la recherche du statut mutationnel EGFR dans les carcinomes non à petites cellules du poumon**

#### **Pour quels patients :**

Patients atteints de cancer du poumon métastatique.

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

#### **Dans quels buts :**

Définir l'éligibilité à un traitement ciblé anti EGFR par Iressa (géfitinib).

La présence de mutations activatrices sur les codons 18 à 21 du gène EGFR est prédictive de la réponse au traitement.

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Poumon/  
Adénocarcinome - EGFR/mutations » 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 20%** 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 :**

Dans le GH Paris-Sud (Bicêtre, Paul Brousse, Antoine Béchère), l'échantillon tissulaire prélevé au bloc opératoire et analysé par le service de Pathologie correspondant (Pr C. Guettier, Bicêtre-Paul Brousse ; Pr S. Prévost, A. Béchère) est analysé au sein du Département de Bio-Pathologie des Tumeurs de Paul Brousse où sont diagnostiquées les mutations (Prs A.Lemoine et B.Debuire).

**Les prélèvements adressés par un laboratoire extérieur au GH** (Centres Hospitaliers, Etablissements privés) à l'adresse ci-dessus sont préalablement évalués pour la cellularité et sélectionnés par le service de Pathologie Bicêtre/Paul Brousse (Pr C. Guettier) avant l'analyse moléculaire au sein du Département de Bio-Pathologie des Tumeurs de Paul Brousse.

#### **Que faut-il envoyer :**

→ A la Plateforme :

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

Un délai maximum d'**une semaine** est à prévoir à réception de l'examen sur la plate-forme de Bio-Pathologie. Le résultat est adressé aux correspondants qui seront mentionnés dans le Bon de demande d'examen. Le résultat est rendu sous la co-responsabilité des 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 à **3 jours**.

Le bloc tumoral vous sera ré-adressé secondairement.

## Quelles techniques utilisons-nous?

→ Préparation de l'échantillon tumoral à analyser :

- 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 macro-dissection).
- 5 coupes de 10µm seront réalisées et transmises au laboratoire d'oncologie moléculaire.

→ Analyse moléculaire:

- l'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée.
- l'analyse systématique des 4 exons se fait en duplicate, par une analyse globale des anomalies des exons 18 à 21 par HRM, par **discrimination allélique** à la recherche de la mutation L858R et par **analyse de fragments** à la recherche des délétions dans l'exon 19. Ces techniques ont une sensibilité d'environ 5%.
- en cas d'anomalie par la **technique HRM**, et en l'absence de délétions dans l'exon 19 ou de mutations L858R, l'exon présentant une anomalie sera recherchée par **séquençage**
- en cas de résultat « *Egfr* muté », une recherche de la **mutation de résistance 790M** sera effectuée.
- en cas de résultat « *Egfr* non muté », une recherche de la mutation *Kras* sera effectuée.

## FICHE MEDICALE

Pathologie	Analyse
Poumon / Carcinome bronchique non à petites cellules (CBNPC)	<i>EGFR</i> / mutations activatrices

### But : Accès à une thérapie ciblée

Identifier les malades atteints de CBNPC qui pourront bénéficier d'un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase de l'EGFR (ITK-EGFR) : gefitinib (Iressa®), l'erlotinib (Tarceva®), ou l'afatinib (Giotrif®), dès la première ligne et identifier les patients qui pourront bénéficier d'une thérapie ciblée quelle que soit la ligne de traitement. Seuls les malades dont la tumeur présente une mutation activatrice de l'EGFR bénéficient du gefitinib en comparaison d'une chimiothérapie par un doublet de platine en première ligne de traitement. Ce bénéfice est encore plus grand en cas de délétion dans l'exon 19.

### Indications

Analyse nécessaire : CBNPC stades IV ou IIIB non irradiables, avant traitement par un ITK-EGFR en première ligne de traitement ou avant traitement par thérapie ciblée pour les autres lignes de traitement. En priorité : 1) les adénocarcinomes en particuliers chez les non- ou ex-fumeurs, les asiatiques et les femmes ; 2) les malades avec un CBNPC non éligibles pour une chimiothérapie comportant un doublet de platine ( $PS \geq 2$  ; comorbidités).

Analyse recommandée : CBNPC stades IV ou IIIB non irradiables, avant traitement par ITK-EGFR, quelle que soit la ligne de traitement.

Analyse exploratoire : CBNPC stades IV ou IIIB non irradiables, recherche des mutations de résistance au diagnostic et lors de la rechute à l'occasion d'une nouvelle biopsie (insertion de l'exon 20, T790M de l'exon 20).

Patients stades I, II et IIIA, notamment les tumeurs multiples.

### 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, cytologie...) sur lésion primitive ou métastatique.
- La référence est le prélèvement frais ou congelé rapidement qui induit le moins de résultats non-interprétables. Dans la pratique, sur prélèvement fixé en formol tamponné pendant moins de 48H.
- Contrôle histologique indispensable permettant d'indiquer le % de cellules tumorales.
- Macrodissection sur lame préférable si <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. Recherche des mutations dans les exons 19 (délétions) et 21 (mutation L858R) représentant > 85% des mutations activatrices.
2. Recherche de mutations activatrices plus rares dans les exons 18 (G719S, G719A, G719C) et 21 (L861Q).
3. Il n'y a pas d'indication avérée à la recherche des mutations des exons 20. La

mutation T790M est le plus souvent associée à une mutation activatrice et sa présence réduit l'efficacité des ITK-EGFR. Les délétions/insertions de l'exon 20 ont une signification thérapeutique incertaine.

4. Le séquençage a longtemps été considéré comme la technique de référence "gold standard", mais présente cependant plusieurs limites. En effet, le STIC ERMETIC a montré dans sa partie prospective incluant plus de 500 malades consécutifs que 25% des échantillons analysés contenaient moins de 50% de cellules tumorales, ce qui est au dessous du seuil nécessaire pour assurer la fiabilité des résultats (Eberhard 2008, Pao 2007). Le taux d'échantillons non amplifiables pour les 4 exons était de l'ordre de 10% et de 15% pour le seul exon 18, 10% pour l'exon 19, 24% pour l'exon 20, 13% pour l'exon 21. Ces constatations également faites dans la phase rétrospective étaient améliorées par la suppression des prélèvements de mauvaise qualité (ancien, fixation au Bouin). Des techniques alternatives ont été développées et plusieurs d'entre elles sont utilisées par les plateformes de génétique moléculaire : le pyroséquençage ; le HRM (high resolution melting analysis), couplé ou non au séquençage ; la discrimination allélique ; l'extension d'amorces de type Snap Shot ; l'analyse de fragments...

### Délai moyen de rendu de résultat

7 à 14 jours

### Informations complémentaires

La probabilité de détecter une mutation activatrice dans un CBNPC est d'autant plus probable que la tumeur est un adénocarcinome (pulmonaire périphérique : TTF1 positif) (OR=4,4) et le malade non ou ancien fumeur (OR=6,5), d'origine asiatique (OR=3,3) et de sexe féminin (OR=1,7).

Néanmoins, l'association de ces 5 facteurs ne correspond que dans 60% des cas à une tumeur présentant une mutation activatrice de l'EGFR.

### Références (sur les indications et les techniques)

1. Cadranet J, Zalcman G, Sequist L.  
Genetic profiling and EGFR-directed therapy: evidence in clinical implications.  
Eur. Respir. J. 2011; Jan;37(1):183-93
2. Laurent-Puig P, Lièvre A, Blons H.  
Mutations and response to epidermal growth factor inhibitors.  
Clin Cancer Res. 2009; 15:1133.
3. Mok TS, Wu Y, Thongprasert S, Yang C, Chu D, Saijo N, et al.  
Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma.  
N. Engl. J. Med. 2009; 361:947.
4. Mitsudomi T, Yatabe Y.  
Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer.  
Cancer Sci. 2007; 98:1817.
5. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.  
Nat. Rev. Cancer. 2007; 7:169.

### Auteurs

- |  |               |
|--|---------------|
| • Rédacteurs V1 : J. Cadranet, R. Lacave, P. Laurent-Puig                      | le 06/06/2014 |
| • Relecteurs : M. Antoine, D. Damotte, F Goldwasser,<br>C. Guettier, JF Fléjou | le 06/06/2014 |
| • Validation Comité de Coordination  | le 16/06/2014 |