

GROUPE HOSPITALIER SAINT- LOUIS – LARIBOISIERE – F. WIDAL

Contacts :

Pr P. BERTHEAU, SERVICE DE PATHOLOGIE Hôpital Saint Louis, 1 av C. Vellefaux-75475 Paris-T: 0142499385/F: 0142499247
Dr H. SOLIMAN, SERVICE DE BIOCHIMIE Hôpital Saint Louis, 1 av C. Vellefaux-75475 Paris-T: 0142499385/F: 0142499247

BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE : MSI

PATIENT	<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 nécrose : fibrose :

% de composante in situ :

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 SAINT-LOUIS

1, AVENUE CLAUDE VELLEFAUX, 75010 PARIS

STANDARD : 01 42 49 49 49 INTERNATIONAL : + 33 1 42 49 49 49

SERVICE DE BIOCHIMIE (PR H. DE THE) - CONTACT : DR H. SOLIMAN - TEL RECEPTION : 01 42 49 93 85 / FAX : 01 42 49 92 47

SERVICE DE PATHOLOGIE (PR A. JANIN) - CONTACT : PR .PH. BERTHEAU - TEL SECRETARIAT : 01 42 49 45 75 / FAX: 01 42 49 45 16

Informations pratiques concernant la recherche de l'instabilité des microsatellites (MSI) dans les adénocarcinomes du colon à l'hôpital Saint-Louis

Pour quels patients :

Patients atteints de cancer colorectal ou de cancer de spectre du syndrome de Lynch II

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 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.

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 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. Enfin, indiquer le % de la composante colloïde muqueuse.

Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à l'hôpital Saint-Louis

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

Référent : Pr Ph. Bertheau philippe.bertheau@sls.aphp.fr

Laboratoire : Service d'anatomie pathologique

Hôpital Saint-Louis
1, Avenue Claude Vellefaux
75010 Paris

Réception : 01 42 49 45 75 / Fax : 01 42 49 45 16

➔ Les coupes de tissus seront ensuite adressées, par l'anatomopathologiste de la plateforme à son correspondant biologiste moléculaire, au laboratoire d'oncologie moléculaire qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation :

Référent : Dr Hany Soliman hany.soliman@sls.aphp.fr

Laboratoire : Service de Biochimie
Lab. d'Oncologie Moléculaire
Hôpital Saint-Louis
1, Avenue Claude Vellefaux
75010 Paris
Réception : 01 42 49 93 85 / Fax : 01 42 49 45 46

Que faut-il envoyer :

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

➔ au Service d'Anatomie Pathologique :

-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.

➔ ou au Service de Biochimie (Oncologie Moléculaire) **et exclusivement après accord avec ce service:**

- 10 coupes de 7 µm d'un fragment tumoral fixé en formol neutre et inclus en paraffine placés dans un microtube (tube conique de 1,5 mL) et *DNAse-free* et 1 coupe contiguë colorée (HES) avec indication claire de la zone tumorale.

N.B. : **Le prélèvement doit impérativement comporter plus de 20% de cellules tumorales.**

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.

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 secondairement.

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 macroadissection).
- 10 coupes de 7 µm seront réalisées et transmises au laboratoire d'oncologie moléculaire

➔ Au laboratoire d'oncologie moléculaire:

- L'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée.
- Statut **MSI**: Analyse de fragments amplifiés par PCR sur ABI 3130 (effectuée en duplicate) à l'aide des marqueurs microsatellites consensus validés BAT25, BAT25, NR21, NR22 et NR24.

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 |