

HOPITAL COCHIN
Service d'Anatomie Pathologique
27 rue du Faubourg Saint-Jacques, 75679 Paris Cedex 14

Contacts : Service d'Anatomie Pathologique, Pr B. TERRIS, Dr F. BEUVON ; Tél : 01 58 41 22 77/FAX : 01 58 41 14 80

BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE

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

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

NOM :

ADRESSE :

EXAMEN DEMANDE : KRAS BRAF MSI

CONTEXTE DE LA DEMANDE :

DATE DE LA DEMANDE :

MATERIEL TRANSMIS : DOUBLE DU COMPTE-RENDU ET LAME HES A JOINDRE A LA DEMANDE

FIXATEUR UTILISE* : Formol Formol neutre DFAA Autres (préciser) : * PAS DE BOUIN

Type de prélèvement : Cytologie Biopsie Pièce opératoire

Site du prélèvement (organe) : Diagnostic histologique :

Référence Laboratoire du bloc communiqué : Date du prélèvement :

PRECISER DANS LA ZONE SELECTIONNEE POUR ANALYSE (prélèvement le plus tumoral possible)

% de noyaux de cellules tumorales :

Commentaire (nécrose, fibrose, substance colloïde....) :

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 COCHIN

SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE

27 RUE DU FAUBOURG SAINT-JACQUES, 75679 PARIS CEDEX 14

SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE (Pr MC. VACHER LAVENU) - CONTACT : Pr B. TERRIS - Dr F. BEUVON
TEL SECRETARIAT: 01 58 41 22 77/FAX : 01 58 41 14 80

LABORATOIRE D'ONCOGENETIQUE - CONTACT : Pr E. CLAUSER - Dr MO. NORTH - Dr N. HAMZAOUI
TEL SECRETARIAT : 01 58 41 12 21 FAX: 01 58 41 12 23

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

Pour quels patients :

- (1) Mutation de KRAS : patients atteints de cancer colorectal métastatique.
Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Colon/Adénocarcinome - K-RAS/mutations» de l'AP-HP.
- (2) Patients nécessitant une déterminantion du statut MSI/BRAF dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique

Dans quels buts :

- (1) Mutation de KRAS : 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 20%** de cellules tumorales (par rapport au nombre total de cellules du prélèvement). La cellularité tumorale du prélèvement sera estimée par le pathologiste de la plateforme AP-HP, elle peut néanmoins être précisée sur la demande si connue du prescripteur.

Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à l'hôpital Cochin.

➔ Le prélèvement sera initialement réceptionné, par le service d'Anatomie Pathologique:

Référents : Pr B. TERRIS ou Dr F. BEUVON

Laboratoire : Service d'Anatomie Pathologique,
27 rue du Faubourg Saint-Jacques
75679 Paris Cedex 14

Réception : 01 58 41 14 68

L'anatomo pathologiste valide le pourcentage de cellules tumorales au sein de l'échantillon et assure l'extraction de l'ADN. Il transmet ce dernier aux correspondants du laboratoire d'Oncogénétique (PR E. CLAUSER - DR MO. NORTH - DR N. HAMZAOUI) qui effectue l'analyse moléculaire et son interprétation.

Les résultats seront transmis au prescripteur, ils peuvent être obtenus en contactant le service d'Oncogénétique (secrétariat : 01 58 41 12 21)

Que faut-il envoyer :

→ 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.

Quel est le délai de rendu de l'analyse ?

A partir de la réception du prélèvement, un délai maximum de **20 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 en même temps que le résultat.

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).
- l'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée.
- Pour la recherche d'un statut MSI, une immunohistochimie est parallèlement réalisée avec les anticorps anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 et anti-PMS2.

→ au laboratoire d'Oncogénétique:

KRAS : **Amplification par Nested-PCR et séquençage de l'exon 1**

BRAF : **Amplification par Nested-PCR et séquençage de l'exon 15**

Statut MSI : Analyse de fragments à l'aide des marqueurs microsatellites quasi-monomorphes validés BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27

FICHE MEDICALE

Pathologie	Analyse
Colon / Adénocarcinome	<i>KRAS / mutations</i>

But : Accès à une thérapie ciblée

Identifier les patients atteints de carcinome colorectal qui pourront bénéficier d'un traitement par anticorps anti-EGFR. En effet, seuls les patients non mutés peuvent bénéficier d'un traitement par Ac anti-EGFR.

Indications

Analyse nécessaire : Pour les patients métastatiques (stade IV, M+) avant 1ère à nième ligne de chimiothérapie.

Analyse exploratoire : Patients stade III avec risque élevé de rechute ; Patients stade I, II et III.

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 la cellularité tumorale est inférieure à la sensibilité théorique de la méthode de dépistage, de façon à enrichir le prélèvement analysé en cellules tumorales (le compte rendu doit indiquer le % de cellules tumorales après macrodissection présentes sur la lame).

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. Discrimination allélique : détection des 7 mutations les plus fréquentes des exons 12 et 13 de KRAS
2. HRM + séquence

Délai moyen de rendu de résultat

7-14 jours

Informations complémentaires

Les 7 mutations les plus fréquentes concernent les codons 12 et 13. Il est clairement établi que ces mutations confèrent une résistance au panitumumab (1) et au cetuximab (2-4), et elles doivent être impérativement recherchées :

- Codon 12: p.G12D, p.G12A, p.G12V, p.G12S, p.G12R, p.G12C
- Codon 13 : p.G13D

Les codons 61 et 146 peuvent également faire l'objet de mutations. Celles-ci sont beaucoup plus rares et de ce fait les données cliniques sont limitées. D'après (Loupakis) les patients présentant ces altérations ne répondent pas aux anti-EGFR. Toutefois un nombre trop

restreint de patients a été étudié. Aussi, ces premières observations nécessitent d'être confirmées par des études cliniques prospectives.

Références (sur les indications et les techniques)

1. Bibeau F, Frugier H, Denouel A, Sabourin JC, Boissiere-Michot F.
Technical considerations for KRAS testing in colorectal cancer. The pathologist's point of view.
Bull Cancer. 2009 Dec;96 Suppl:S15-22. French.
2. Blons H, Laurent-Puig P.
Technical considerations for KRAS testing in colorectal cancer. The biologist's point of view
Bull Cancer. 2009 Dec;96 Suppl:S47-56. Review. French
3. Chang YS, Yeh KT, Hsu NC, Lin SH, Chang TJ, Chang JG.
Detection of N-, H-, and KRAS codons 12, 13, and 61 mutations with universal RAS primer multiplex PCR and N-, H-, and KRAS-specific primer extension.
Clin Biochem. 43(3):296-301.
4. Edkins S, O'Meara S, Parker A, Stevens C, Reis M, Jones S, et al.
Recurrent KRAS codon 146 mutations in human colorectal cancer.
Cancer Biol Ther. 2006;5(8):928-32.
5. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C, Vincenzi B, Salvatore L, Santini D, et al.
KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer.
Br J Cancer 2009;101(4):715-721.

Auteurs

- | | |
|---|----------------|
| • Rédacteurs V1 : JF. Emile, T. André, P.Laurent-Puig | le 15/06/2010 |
| • Relecteurs : S. Chaussade, C. Guettier, JF Fléjou | le 18/08/2010 |
| • Validation Comité de Coordination | le 06/10 /2010 |