

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 détermination 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
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