

**GROUPE HOSPITALIER STARTT**

(SAINT-ANTOINE – ROTHSCHILD – TENON - TROUSSEAU)

**SITE HOPITAL TENON - 4, rue de la Chine 75020 PARIS**

**DEPARTEMENT DE GENOMIQUE DES TUMEURS SOLIDES (PR R. LACAVE)**

CONTACTS : Pr Roger LACAVE, Virginie POULOT, Sylvain HUGONIN

TEL LABORATOIRE : 01 56 01 65 15 / 88 29 / TEL SECRETARIAT : 01 56 01 78 79

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

**PATIENT (ou étiquette à coller)**

☐ Monsieur

☐ Madame

Nom :

Née :

Prénom :

Date de naissance :

**PATHOLOGISTE DEMANDEUR**

NOM : .....

ADRESSE: .....

**EXAMEN DEMANDE :**

**RECHERCHE DE MUTATION DU GENE EGFR**

**MOTIF DE LA DEMANDE :**

☐ Stratégie / Adaptation thérapeutique

☐ Dépistage

☐ Autre : .....

DATE DE LA DEMANDE .....

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

**FIXATEUR UTILISE\*** : ☐ Formol ☐ Formol neutre ☐ AFA ☐ Autres (préciser): ..... \* PAS DE BOUIN

**DECALCIFICATION** : ☐ non ☐ oui (préciser la méthode) : .....

Type de prélèvement : ☐ Cytologie ☐ Biopsie ☐ Pièce opératoire

Site du prélèvement (organe) : ..... Date du prélèvement : .....

Référence Laboratoire : ..... Diagnostic histologique : .....

Nature (coupes, blocs, lames....) :

**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 TENON**  
4, RUE DE LA CHINE 75020 PARIS

PLATEFORME DE GENOMIQUE DES TUMEURS SOLIDES (Pr R LACAVE)

CONTACTS : Pr Roger LACAVE, Virginie POULOT, Sylvain HUGONIN

TEL LABORATOIRE : 01 56 01 65 15 / 88 29

TEL SECRETARIAT : 01 56 01 78 79

### Informations pratiques concernant la recherche du statut mutationnel de **EGFR** dans les **cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules (CBNPC)** à l'Hôpital Tenon

#### Pour quels patients :

**Patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules stade IIIB ou IV**

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

#### Dans quels buts :

**1/ Identifier les patients susceptibles de bénéficier d'un traitement ciblé anti-EGFR (gefitinib ou erlotinib) par recherche de mutations activatrices sur les exons 18-21 prédictives d'une réponse au traitement.**

**2/ Rechercher des mutations de résistance sur l'exon 20 (T790M ou insertion) au diagnostic ou lors de la rechute après traitement initial par TKi.**

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

#### Sur quels prélèvements :

##### PRELEVEMENTS TISSULAIRES :

tumeur primitive ou localisation métastatique

tissus fixés préférentiellement en formol ou AFA, *proscrire formellement le liquide de Bouin* inclus en paraffine

la cellularité tumorale sera systématiquement évaluée sur coupe après coloration HES

##### PRELEVEMENTS CYTOLOGIQUES :

produits de cyto-ponctions, brossage bronchique, LBA, liquide pleural

prélèvement à acheminer dans un liquide de conservation stérile (NaCl, milieu de culture, proscrire les milieux hypotoniques)

la cellularité tumorale de l'échantillon communiqué devra être systématiquement précisée sur la fiche de demande

#### Où adresser sa demande (courrier médical urgent mentionné sur l'enveloppe) et le prélèvement

Réfèrent : Virginie Poulot

Laboratoire : Hôpital Tenon

Service d'Histologie Biologie Tumorale, Pr JF BERNAUDIN

**Plateforme de génomique des tumeurs solides**

4, rue de la Chine  
75971 PARIS Cedex 20  
**01.56.01.65.15 ou 88.29**

- Le prélèvement sera aussi enregistré dans le logiciel de gestion du Service d'Anatomie Pathologique
- Le prélèvement reçu sera validé pour l'analyse moléculaire après examen par le Dr Martine Antoine ([martine.antoine@tnn.aphp.fr](mailto:martine.antoine@tnn.aphp.fr))
- Les coupes de tissus, après macro-dissection éventuelle, sont préparées pour l'extraction de l'ADN dans le service d'Anatomie Pathologique, sous la responsabilité du Dr Martine Antoine, puis transmises pour les études moléculaires dans le service d'Histologie-Biologie Tumorale
- Le bloc tissulaire vous sera réadressé en même temps que le résultat

**Que faut-il envoyer :**

- **le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales** (par rapport aux cellules totales de l'échantillon) ainsi que la lame HES correspondante
- **le compte rendu d'examen** anatomo-pathologique correspondant au prélèvement
- **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.
- la fiche de dédommagement pour désarchivage, le cas échéant.

**Quel est le délai de rendu de l'analyse ?**

Délai de rendu des résultats à partir de la réception du prélèvement : 8 à 18 jours

En cas de situation d'urgence, la mention **URGENT** sur le Bon de demande d'examen permettra, si possible, de réduire le délai de rendu.

**Le résultat est adressé aux correspondants cliniciens dont les coordonnées sont précisées dans le bon de demande d'examen.**

**Quelles techniques d'analyse utilisons-nous ?**

- Après analyse de la lame HES pour sélectionner une zone suffisamment tumorale, le bloc tumoral est coupé (avec ou sans macro-dissection) sur un microtome : 4 à 5 coupes de 20µm sont réalisées et transférées dans un tube identifié.
- L'extraction de l'ADN est réalisée à partir des coupes tissulaires à l'aide du kit d'extraction QIAmp (QIAgen) selon un protocole standardisé. L'ADN est ensuite dosé en spectrophotométrie.
- La recherche de délétions/insertions des exons 19 et 20 est réalisée par analyse de produits d'amplification par « sizing » en électrophorèse capillaire.
- La recherche de mutations ponctuelles des exons 18 (G719S), 20 (T790M) et 21 (L858R) est effectuée par sonde Taqman.

**Quel est le délai de rendu de l'analyse ?**

Délai de rendu des résultats à partir de la réception du prélèvement : 8 à 18 jours

En cas de situation d'urgence, la mention **URGENT** sur le Bon de demande d'examen permettra, si possible, de réduire le délai de rendu.

**Le résultat est adressé aux correspondants cliniciens dont les coordonnées sont précisées dans le bon de demande d'examen.**

## 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 |