

**GROUPE HOSPITALIER SAINT- LOUIS – LARIBOISIERE – F. WIDAL**

**Contacts :**

Dr J.NEMETH, SERVICE DE PATHOLOGIE Hôpital Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré 75475 Paris–T : 0 1 4 9 9 5 8 3 3 0 / F : 0 1 4 9 9 5 8 5 3 6  
Dr H. SOLIMAN, SERVICE DE BIOCHIMIE Hôpital Saint Louis, 1 av C. Vellefaux-75475 Paris–T : 0 1 4 2 4 9 9 3 8 5 / F : 0 1 4 2 4 9 9 2 4 7

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

<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\*\*** (PAS DE BOUIN) : DUREE DE FIXATION :

Diagnostic anatomo-pathologique : (ou double compte-rendu)

Référence Laboratoire : Date du prélèvement :

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

**PRECISER DANS LA ZONE SELECTIONNEE POUR ANALYSE**

**% de noyaux de cellules tumorales :**

**% de substance colloïde :**

Autres Commentaires (nécrose, fibrose, tissus non tumorale....) :

**CLINICIEN REFERENT (coordonnées précises)**

Nom : .....

Adresse : .....

**RECOMMANDATIONS DE TRANSPORT ET DELAI DE RENDU DE RESULTAT**

## FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

### HOPITAL LARIBOISIÈRE

2, RUE AMBROISE PARE, 75475 PARIS Cedex10

STANDARD : 01 49 95 65 65 INTERNATIONAL : + 33 1 49 95 65 65

SERVICE DE PATHOLOGIE (PR G.GRAY) - CONTACT : DR J.NEMETH - TEL SECRETARIAT : 01 49 95 83 30 /FAX: 01 49 95 85 36

SERVICE DE BIOCHIMIE (PR H. DE THE) - CONTACT : DR H. SOLIMAN - TEL RECEPTION : 01 42 49 93 85 /FAX : 01.42.49.92.47

### Informations pratiques concernant la recherche **MSI** (Instabilité des microsatellites) dans les adénocarcinomes du colon

#### Pour quels patients :

Patients atteints de **cancer colorectal** et/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** 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 30% (idéalement plus de 50%) de cellules tumorales** (par rapport au nombre total de cellules) **dans la zone à analyser** (éventuellement obtenue après macro-dissection qui sera effectuée dans le laboratoire d'Anatomie Pathologique).

-**Indiquer** le % de la composante colloïde muqueuse pour permettre d'amplifier la technique, si nécessaire.

#### Que faut-il envoyer :

1. **Le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales** (par rapport aux cellules totales de l'échantillon) et si possible avec 1 lame HES correspondante et 1 bloc non-tumoral.
2. Le **compte rendu** d'anatomo-pathologie correspondant au prélèvement.
3. 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,
4. **La fiche de dédommagement** pour désarchivage, le cas échéant.

#### Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à l'hôpital Lariboisière

Référent : Dr Judith Nemeth [judith.nemeth@lrb.aphp.fr](mailto:judith.nemeth@lrb.aphp.fr)

Laboratoire : Service d'Anatomie Pathologique

Hôpital Lariboisière

2, rue Ambroise Paré

75475 Paris Cedex 10

Réception : 01 49 95 83 30/ Fax : 01 49 95 85 36

➔ Le prélèvement sera initialement réceptionné et enregistré dans le logiciel de gestion du laboratoire par le secrétariat, puis validé et préparé pour l'analyse moléculaire par le laboratoire d'anatomie pathologique après macrodissection si nécessaire :

➔ Les coupes de tissus seront ensuite adressées, par l'anatomopathologiste de la plateforme à son correspondant de 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](mailto: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

## Quelles techniques utilisons-nous ?

---

### 1/POUR L'ETUDE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

➔ *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).
- 10 coupes de 7 µm seront réalisées et transmises au laboratoire d'oncologie moléculaire, dans des tubes adaptés et identifiés.

➔ *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.

### 2/POUR L'ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE

➔ *Au service d'anatomie pathologique :*

- Si le prélèvement analysé présente un phénotype **MSI + en biologie moléculaire** (ou si l'ADN extrait du prélèvement n'est pas de qualité suffisante pour permettre cette analyse), la recherche d'une perte d'expression des protéines **MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6** impliquées dans le Mismatch Repair, est réalisée en **immunohistochimie**.
- Cette deuxième technique permet de confirmer les résultats de la biologie moléculaire et d'orienter les analyses moléculaires secondaires dans le cas de syndrome de Lynch.

## 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, avec le résultat.

## 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 monomorphes 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