

**GROUPE HOSPITALIER STARTT**

(SAINT-ANTOINE – ROTHSCHILD – TENON - TROUSSEAU)

**SITE SAINT-ANTOINE** 184, rue du Faubourg Saint-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12

**SERVICE DE PATHOLOGIE** : Pr JF.Fléjou - Dr P.Cervera

**GENETIQUE MOLECULAIRE** : Dr O. Lascols - Dr R.Hamelin

Secrétariat : 01 49 28 21 77

Secrétariat : 01 49 28 28 09

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

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

**PATHOLOGISTE DEMANDEUR**

NOM : .....  
ADRESSE : .....

**EXAMEN DEMANDE** : **Expression des protéines MMR et statut MSI (instabilité des microsatellites)**

CONTEXTE DE LA DEMANDE : .....  
DATE DE LA DEMANDE : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**MATERIEL TRANSMIS** : Double du compte-rendu et Lame HES à JOINDRE A LA DEMANDE

**FIXATEUR UTILISE\*** :  Formol  Formol neutre  AFA  Autres (préciser): ..... \* **PAS DE BOUIN**  
Type de prélèvement :  Biopsie  Pièce opératoire  
Site du prélèvement (organe) : ..... Diagnostic histologique : .....  
Référence Laboratoire : ..... Date du prélèvement : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
Nature (coupes, blocs, lames....) : .....

**PRECISER DANS LA ZONE SELECTIONNEE POUR ANALYSE**

**% de noyaux de cellules tumorales** : .....

% superficie de plages acellulaires colloïde : ..... nécrose : ..... fibrose : .....

Pathologiste validant l'analyse morphologique : .....

**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

### GROUPE HOSPITALIER STARTT

(SAINT-ANTOINE – ROTHSCHILD – TENON - TROUSSEAU)

**SITE SAINT-ANTOINE** 184, rue du Faubourg Saint-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12

#### SERVICE D'ANATOMIE ET DE CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES (Pr J-F Fléjou)

Contact : Pr JF Fléjou Tél : 01 49 28 30 12 Secrétariat : 01 49 28 21 70 Fax: 01 49 28 28 78

#### LABORATOIRE COMMUN DE BIOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRES (Dr O. Lascols)

Contact : Dr O.Lascols - Dr R.Hamelin Secrétariat : 01 49 28 28 09 Fax : 01 49 28 22 06

### Informations pratiques concernant l'expression des protéines MMR et la recherche de l'instabilité des microsatellites (MSI) dans les adénocarcinomes du côlon

#### Pour quels patients

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

#### Dans quels buts

Identifier les patients atteints d'un cancer colorectal susceptibles d'être atteints d'un syndrome de Lynch (ou syndrome HNPCC) et devant bénéficier d'une consultation d'oncogénétique.

En immunohistochimie, phénotype positif avec la perte d'expression d'une des 4 protéines du système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR) en immunohistochimie.

En PCR, l'instabilité de 3 marqueurs sur les 5 testés est nécessaire et suffisante pour affirmer une instabilité des microsatellites.

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale de l'APHP :  
« Côlon/Endomètre/Adénocarcinome - Phénotype MSI ».

#### 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%** 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. Dans la mesure du possible, il est souhaitable de choisir un bloc comportant en outre un secteur de muqueuse normale (témoin interne)

#### Où adresser sa demande

Votre demande sera traitée à l'hôpital Saint-Antoine dans le service d'anatomie et de cytologie pathologiques.

→ Le prélèvement sera réceptionné, validé, techniqué pour l'analyse immunohistochimique, et préparé pour l'analyse moléculaire :

**Référent : Pr JF Flejou (01 49 28 21 70 ; [jean-francois.flejour@sat.aphp.fr](mailto:jean-francois.flejour@sat.aphp.fr) )**

**Laboratoire : Service d'anatomie et cytologie pathologiques**

Hôpital Saint -Antoine  
184, rue du faubourg Saint-Antoine  
75571 Paris cedex 12

Réception : **01 49 28 48 47**

→ Les coupes de tissu seront ensuite adressées, par l'anatomo pathologiste de la plateforme au laboratoire d'oncologie moléculaire qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation :

**Référent : Dr Olivier Lascols (01 49 28 28 09) [olivier.lascols@sat.aphp.fr](mailto:olivier.lascols@sat.aphp.fr)**

**Laboratoire : Laboratoire commun de biologie et génétique et moléculaires (Dr O. Lascols)**

Secrétariat : 01 49 28 28 09

## Que faut-il envoyer

---

→ Au laboratoire d'anatomie pathologique :

- un bloc tumoral riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon), comportant si possible un secteur de muqueuse normale
- 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.

→ Au laboratoire d'oncologie moléculaire :

- une copie de la fiche de prescription.
- 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 en anatomie pathologique, un délai maximum de **20 jours** est à prévoir. Le résultat est adressé aux pathologiste demandeur et clinicien(s) référent(s) qui seront mentionnés dans le bon de demande d'examen. Le résultat est cosigné par les référents anatomo-pathologistes et biologistes moléculaires.

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 macrodissection).
- immunohistochimie sur coupe des 4 protéines du système de réparation des mésappariements (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2).
- 5 coupes de 10 $\mu$ m seront réalisées et transmises au laboratoire d'oncologie moléculaire.

→ Au service d'oncologie moléculaire :

- l'extraction de l'ADN à partir des coupes tissulaires est réalisée sur colonne Qiagen après traitement de la coupe paraffinée par la protéinase K.
- statut **MSI** : technique d'analyse de fragments amplifiés par PCR multiplex sur ABI 3130XL (Applied Biosystem) pour les marqueurs microsatellites BAT25, BAT26, NR21, NR24 et MONO27 (Kit MSI Analysis System, Promega).

## FICHE MEDICALE

<b>Pathologie</b>	<b>Analyse</b>
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 |