ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

PLATE FORME ONCOMOLPATH

FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

HOPITAUX UNIVERSITAIRES PARIS NORD VAL DE SEINE
(BICHAT – LOUIS MOURIER – BEAUJON –BRETONNEAU – RICHET)

46, RUE HENRI HUCHARD, 75877 PARIS Cedex 18

STANDARD : 01 40 25 80 80 INTERNATIONAL : 331 40 25 83 05

DEPARTEMENT DE GENETIQUE (PR B.GRANDCHAMP) - **CONTACT :** DR N. THEOU-ANTON - DR J.LAMORIL – PR. N. SOUFIR TEL SECRETARIAT : 01 40 25 88 51/FAX : 01.40.25.87.85

DEPARTEMENT DE PATHOLOGIE (PR. P. BEDOSSA) **- CONTACT :** DR.A COUVELARD (BICHAT - TEL : 01 40 25 80 03) – DR N.GUEDJ (BEAUJON – TEL : 01 40 87 54 59) – DR M.GROSSIN (LOUIS MOURIER – TEL : 01 47 60 62 61)

Informations pratiques concernant la recherche du statut mutationnel de KRAS et BRAF dans les adénocarcinomes du colon

Pour quels patients :

Patients atteints de cancer colorectal métastatique.
Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Colon/ Adénocarcinome - K-RAS/mutations » de l'AP-HP.

Dans quels buts :

Définir l'éligibilité à un traitement ciblé anti EGFR par Cetuximab ou Panitumumab
La présence de mutations sur les exons 2 (codons 12, 13) et 3 (codon 61) est prédictive d'une non réponse au traitement.
(2) Valeur pronostic à priori péjorative de la mutation Val 600Glu de BRAF dans les CCR en situation adjuvante ou métastatique.
Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale « Colon/ Adénocarcinome - K-RAS/mutations» 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%** 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.

Où adresser sa demande :

Votre demande sera traitée à **l'hôpital Bichat** par le département de Génétique Moléculaire pour l'analyse moléculaire après envoi des prélèvements par le service d'anatomie pathologique.

Services d'anatomie pathologique des Hôpitaux extérieurs ou privés
Après validation et préparation des échantillons, les coupes de tissus seront ensuite adressées, par l'anatomopathologiste référent au correspondant biologiste moléculaire du département de Génétique Moléculaire à Bichât qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation (voir ci-dessous les coordonnées).

Services d'anatomie pathologique des Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine
➔ Le prélèvement sera initialement réceptionné, validé et préparé pour l'analyse moléculaire par le laboratoire d'anatomie pathologique référent selon les sites :

Département d'Anatomie Pathologique – Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine		
HOPITAL BEAUJON	**HOPITAL BICHAT**	**HOPITAL LOUIS MOURIER**
Référent : Dr N. GUEDJ 100, boulevard du Général Leclerc 92110 Clichy Réception : 01 40 87 54 59	**Référent** : Dr M. HOURSEAU 46 rue Henri Huchard 75018 Paris Réception : 01 40 25 80 03	**Référent** : Dr M. GROSSIN 178 rue des Renouillers 92700 Colombes Réception : 01 47 60 62 59

➔ Les coupes de tissus seront ensuite adressées, par l'anatomopathologiste du groupe hospitalier au correspondant biologiste moléculaire du département de Génétique Moléculaire qui réalise l'extraction de l'ADN, l'analyse moléculaire et son interprétation :

Référents : Dr Nathalie Théou-Anton (nathalie.theou-anton@bjn.aphp.fr)
Dr Jérôme Lamoril (jerome.lamoril@bch.aphp.fr)
Pr Nadem Soufir (nadem.soufir@bch.aphp.fr)

Laboratoire : Département de Génétique Moléculaire
Hôpital Bichat
46 rue Henri Huchard
75877 Paris cedex 18
Réception: **01.40.25.88.51 / fax 01.40.25.87.85**

Que faut-il envoyer :

➔ **Si envoi des blocs directement à un service d'anatomie pathologique des Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine**

- Le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon)
- Le **compte rendu d'anatomopathologie** 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.

Le laboratoire d'anatomie pathologique transmet au Département de Génétique Moléculaire, une copie du dossier administratif et les copeaux du prélèvement dûment identifié pour analyse.

➔ **Si envoi des copeaux du prélèvement directement au département de Génétique Moléculaire** :

- 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.
- le **compte rendu d'anatomo pathologie** correspondant au prélèvement
- Les **copeaux du prélèvement** dûment identifié pour analyse
- 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 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. Le résultat est signé par les référents 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 ré adressé secondairement par le service d'anatomie pathologique.

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).

- Plusieurs situations sont possibles, fonction du % de cellules tumorales de l'échantillon :

- Si >30% de cellules tumorales :

Retirer la paraffine au maximum avant de réaliser 5 coupes de 10µm et les placer dans un tube de 1,5ml (type microtube à centrifuger TREFF 1,5 ml click-cap, Ref 8288601, VWR)

- Si <30% de cellules tumorales :

Réaliser 5 coupes de 10µm sur lames. Cercler la zone d'intérêt avant envoi (1HPS annoté).

➔ **Au service de génétique 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.

- L'analyse systématique se fait par la technique PCR-HRM (High Resolution Melting) sur LightCycler 480 suivi le cas échéant, du séquençage sur ABI 3130 (Applied Biosystems). Cette analyse porte sur les exons 2 et 3 du gène codant pour KRAS (dont les codons 12, 13 et 61).