

MODÈLE DE COMPTE RENDU DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE POUR LA RECHERCHE DE MUTATIONS SOMATIQUES DANS LES TUMEURS SOLIDES

Octobre 2012



Mesure 21 : Garantir un accès égal aux traitements et aux innovations

Ce document est mis à la disposition des professionnels de santé pour les guider dans la conception de leurs comptes rendus de génétique moléculaire.

Il a été élaboré à partir des propositions d'un groupe de travail composé de membres des plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers afin d'aider à l'harmonisation des rendus de résultats de recherche de mutations somatiques d'intérêt thérapeutique dans les tumeurs solides. Il a été soumis à la relecture des 28 plateformes de génétique moléculaire des cancers et de plusieurs cliniciens.

Le document s'articule en trois parties :

- I. Un modèle de compte rendu de génétique moléculaire pour la recherche de mutations à visée somatique
- II. Une note d'accompagnement expliquant les références utilisées pour établir ce document
- III. Un exemple de compte rendu pour la recherche de mutations somatiques chez un patient avec un cancer du poumon.

I. MODÈLE DE COMPTE RENDU DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE POUR LA RECHERCHE DE MUTATIONS SOMATIQUES

IDENTIFICATION DU LABORATOIRE	
Titre de l'examen	
<p>EXAMEN N° : [code ou identifiant unique de l'échantillon par le laboratoire de génétique somatique]</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Patient : Nom Prénom né(e) le Sexe : F/H ▪ Réalisé à partir du prélèvement référencé [n° identification du bloc dans le laboratoire pathologie d'origine] datant du [date du prélèvement] ▪ Reçu le [date d'arrivée du prélèvement sur la plateforme] ▪ Prescrit par : [nom, prénom et coordonnées du prescripteur] le [date de la prescription] ▪ Motif de l'analyse demandée : [préciser ici le contexte clinique de la demande] 	
RENSEIGNEMENTS ANATOMO-CYTO-PATHOLOGIQUES :	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Type de prélèvement [pièce opératoire, biopsie, cytologie...] et organe : ▪ Type histologique et état tumoral (primitif, métastase et origine) : ▪ Pathologiste responsable du diagnostic : [nom, prénom et coordonnées du pathologiste responsable du diagnostic initial] ▪ Analyse réalisée sur une zone sélectionnée par le Dr [pathologiste de la plateforme] comportant X % de cellules tumorales. 	
RÉSULTATS [pour chaque gène analysé, préciser] :	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Absence de mutation détectable du gène X. ▪ Présence d'une mutation [notée selon la nomenclature HGVS, par exemple c.2573T>G (p.Leu858Arg)] au niveau de l'exon X du gène X. <i>Si le résultat a été vérifié par deux analyses indépendantes le mentionner ici.</i> ▪ Résultat non interprétable ▪ Analyse non réalisable 	
CONCLUSION / INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS EN L'ÉTAT ACTUEL DES CONNAISSANCES :	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dans la limite des techniques utilisées, aucune mutation n'a été détectée dans le(s) exon(s) X du gène X. <i>Commentaire éventuel pour un patient ayant un cancer colorectal et sans mutation de KRAS : Il n'est pas détecté de mutations de résistance aux traitements par des anticorps anti-EGFR.</i> ▪ Présence de la mutation [nom usuel, par exemple L858R] du gène X conférant une sensibilité à [nom de la classe de thérapie ciblée]. ▪ Présence de la mutation [nom usuel, par exemple T790M] du gène X conférant une résistance à [nom de la classe de thérapie ciblée]. ▪ Présence d'une mutation du gène X de valeur prédictive indéterminée de réponse à [nom de la classe de thérapie ciblée]. ▪ Présence d'une mutation du gène X [gène du programme biomarqueur émergent] pour laquelle des thérapies ciblées sont en phase de développement clinique. Les essais cliniques en cours sont consultables sur le site http://biomarqueurs.e-cancer.fr. ▪ Dans la limite des techniques utilisées, aucune mutation n'a été détectée dans le(s) exon(s) X du gène X. Étant donné le faible % (< X %) de cellules tumorales présentes dans l'échantillon analysé, ce résultat est non contributif : il est donc recommandé d'effectuer un contrôle sur un prélèvement plus riche en cellules tumorales. ▪ Étant donnée la qualité et/ou [au choix] quantité de l'ADN extrait du prélèvement transmis, l'analyse n'est pas réalisable et/ou [au choix] interprétable. Un nouveau prélèvement serait nécessaire. ▪ Analyse non réalisable car [tissu nécrosé, bloc épuisé]. 	
Fait à Signature	le [date du compte rendu]

MÉTHODE

- Analyse réalisée à partir d'un prélèvement (bloc / nombre de lames blanches / copeaux / tissu congelé) fixé au [si information disponible], après macrodissection [ou selon autre méthode] de la zone d'intérêt.
- Méthode d'extraction de l'ADN génomique tumoral [si un kit commercial est utilisé : nom et version]
- Méthode d'analyse [si un kit commercial est utilisé : nom et version], sensibilité, liste des mutations recherchées et séquence de référence [accession number].

II. NOTE D'ACCOMPAGNEMENT

Cette proposition de compte rendu de génétique moléculaire a été élaborée afin d'aider à l'harmonisation des rendus de résultats de recherche de mutations somatiques d'intérêt thérapeutique dans les tumeurs solides. Un modèle de compte rendu spécifique aux recherches de remaniements chromosomiques (*ALK*) sera également réalisé.

Lorsque plusieurs gènes sont étudiés, il apparaît important de faire **un seul compte rendu** pour l'ensemble de ces analyses afin de faire une **interprétation globale** du résultat. Si l'ensemble des biomarqueurs ne sont pas étudiés en parallèle, les résultats seront envoyés de façon séquentielle et un compte rendu définitif devra faire la synthèse des résultats.

DOCUMENTS DE TRAVAIL

Pour élaborer ce modèle de compte rendu, le groupe de travail s'est appuyé sur les documents suivants :

- Bonnes pratiques pour la recherche à visée thérapeutique de mutations somatiques dans les tumeurs solides (document INCa, Août 2010).
- Rapport final du programme pilote européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutation de l'*EGFR* dans les cancers du poumon non à petite cellules (pilot EQA scheme for *EGFR* mutation testing in non-small cell lung cancer).
- Rapport final du programme européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutation *KRAS* dans le cancer colorectal (General report – ESP *KRAS* External Quality Assessment Scheme 2011). Les comptes rendus ont été analysés selon une liste de critères basés sur quatre référentiels : (1) ISO15189: 2007 and ISO DIS 15189:2011 Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence (International Organization for Standardization), (2) ISO17025: 2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (International Organization for Standardization), (3) van Krieken JH et al. *KRAS* mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch.* 453(5):417-31 (Nov. 2008) et (4) Gulley M.L. et al. Clinical laboratory reports in molecular pathology. *Arch. Pathol. Lab Med.* 131, 852-863 (2007).
- Comptes rendus de génétique moléculaire de plateformes participant au groupe de travail.

ÉLÉMENTS FIGURANT DANS LE MODÈLE DE COMPTE RENDU

Les éléments figurant dans le modèle de compte rendu ont été déterminés à partir du guide des bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique (document INCa) et des recommandations établies par les contrôles qualité européens pour la recherche de mutations d'*EGFR* et de *KRAS*.

- Les items définis par les « bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides » ont été regroupés en fonction du type de renseignements qu'ils fournissent afin d'assurer une meilleure lisibilité.

Renseignements concernant l'examen : code ou identifiant unique de l'échantillon par le laboratoire / Nom, prénom et date de naissance du patient / N° identification du bloc dans le laboratoire d'origine / Date du prélèvement / Date d'arrivée du prélèvement dans la plateforme / Nom, prénom et coordonnées du prescripteur (si disponibles) / Date de la prescription / Type d'analyse demandée.

Renseignements anatomopathologiques : type de prélèvement (chirurgie, biopsie, cytologie...) / Type histologique / Organe et état tumoral (primitif, métastase...) / Nom, prénom et coordonnées du pathologiste responsable du diagnostic initial / Pourcentage de cellules tumorales dans l'échantillon analysé / Nom et adresse simplifiée du pathologiste ayant qualifié le prélèvement.

Renseignements concernant la méthode : liste exhaustive des mutations recherchées / Méthode utilisée avec sensibilité analytique / Séquence de référence.

Renseignements concernant le résultat : mutation identifiée et notée selon la nomenclature HGVS / Commentaire sur les résultats.

- Le rapport final du programme pilote européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutation de l'*EGFR* dans les cancers du poumon non à petites cellules recommande les points suivants :

Le patient doit être identifié par 3 items : nom/prénom – date de naissance – identifiant du patient/échantillon dans le laboratoire.

Les items suivants doivent figurer sur le compte rendu :

- contexte clinique de la demande ;
- date de la demande, date de réception de la demande, date d'édition du compte rendu ;
- référence du laboratoire d'origine ;
- méthode : technique utilisée (si un kit commercial est utilisé son nom et sa version doivent être mentionnés) et sensibilité analytique ;
- résultat : caractériser la mutation par un changement nucléotidique selon la nomenclature HGVS (sauf pour les délétions de l'exon 19) et donner la séquence de référence (accession number).

- Le rapport final du programme européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutations de *KRAS* dans le cancer colorectal, recommande de :

- mentionner les coordonnées du prescripteur et du laboratoire de pathologie ayant fourni le prélèvement analysé.

ÉLÉMENTS POUVANT FIGURER DANS LE MODÈLE DE COMPTE RENDU DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE À TITRE OPTIONNEL

L'« EQA scheme for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer » propose la double signature du compte rendu **afin de s'affranchir des erreurs de saisies**. Ceci ne paraît pas toujours réalisable mais est proposé à titre optionnel. Le second signataire peut être pathologiste, biologiste médical ou ingénieur biologiste.

CONCLUSION/ INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Le rapport final du programme pilote européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutation de l'*EGFR* dans les cancers du poumon non à petites cellules mentionne que :

L'interprétation est indispensable et doit : (1) faire référence aux « inhibiteurs de tyrosine kinase de l'*EGFR* » et non à une molécule spécifique et (2) établir l'association mutation/sensibilité aux *EGFR*-TKI sans dicter le traitement. Il n'y a pas d'intérêt à rapporter des variants sans conséquence sur la clinique

- Le rapport final du programme européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutations de *KRAS* dans le cancer colorectal, précise le point suivant :

En cas de mutation de *KRAS* dans le cancer colorectal, il est nécessaire d'établir l'association mutation/résistance aux anticorps anti-*EGFR* et **en cas d'absence de mutation**, il est nécessaire de préciser que le patient ne présente pas de résistance aux anticorps anti-*EGFR*

- Par ailleurs, le groupe de travail a émis les propositions suivantes :

Références bibliographiques : il n'apparaît pas nécessaire de citer une publication de référence pour les molécules dont l'AMM restreint l'administration à la présence ou l'absence d'une altération moléculaire

Mutations de l'*EGFR* dans les cancers du poumon non épidermoïdes :

- mutations interprétées comme conférant une sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'*EGFR* : les délétions de l'exon 19 et les mutations ponctuelles G719X, L858R et L861Q. Aucun commentaire modulant la sensibilité en fonction de la mutation identifiée n'est retenu. Aucun commentaire sur l'effet activateur de la mutation n'est retenu
- mutations interprétées comme conférant une résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'*EGFR* : la mutation T790M
- mutations interprétées de valeur prédictive indéterminée de réponse aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'*EGFR* : mutations autres que les mutations sus citées

Mutations de *KRAS* dans les cancers colorectaux :

- En cas d'absence de mutation de *KRAS*, préciser que le patient ne présente pas de résistance aux anticorps anti-*EGFR*

Mutations identifiées pour les biomarqueurs émergents :

- ne pas faire d'interprétation thérapeutique pour les mutations qui ne sont pas en lien avec une molécule ayant déjà obtenue une AMM
- faire figurer le lien vers la page internet du site de l'INCa qui répertorie les thérapies ciblées en phase de développement clinique (<http://biomarqueurs.e-cancer.fr>)

Mutations identifiées pour les biomarqueurs émergents dans les cancers du poumon :

- le caractère mutuellement exclusif des mutations peut être utilisé pour interpréter un résultat. En effet la détection d'une mutation KRAS dans le cancer du poumon pour les prélèvements sans mutation EGFR et dont le pourcentage de cellules tumorales est inférieur au seuil de sensibilité de la technique utilisé peut être un argument supplémentaire en faveur d'une absence de mutation de l'EGFR

Les informations détaillées sur les indications thérapeutiques et la surveillance des médicaments sont consultables sur les sites internet de [l'ANSM](#) et de [l'EMA](#)

MISE EN FORME DU COMPTE RENDU

Le rapport final du programme pilote européen 2011 de contrôle qualité externe pour la recherche de mutation de l'*EGFR* dans les cancers du poumon non à petites cellules recommande que :

Formatage du compte rendu sur une page : lorsque cela n'est pas possible l'identification du patient, le résultat, l'interprétation et la signature doivent figurer sur la première page. Les pages doivent également être numérotées.

TEXTE INFORMATIF DANS LE CADRE DE L'ÉTUDE « BIOMARQUEURS FRANCE » POUR LES CANCERS DU POUMON

L'étude « Biomarqueurs France » coordonnée par l'IFCT (Intergroupe francophone de cancérologie thoracique), soutenue par l'INCa, a pour objectif de décrire les caractéristiques cliniques et moléculaires combinées des tumeurs du poumon qui auront été analysées en routine au plan moléculaire au sein des laboratoires des 28 plateformes de génétique des cancers.

Conformément à la réglementation en vigueur, les patients inclus dans cette étude devront être informés de leur droit d'accès et de rectification aux informations les concernant. À cet effet, il est nécessaire d'intégrer le texte d'information suivant en pied de page du compte rendu de génétique moléculaire pour tout patient inclus dans l'étude « Biomarqueurs France » :

« Si votre patient présente un CBNPC, les informations contenues dans ce compte rendu feront l'objet d'un traitement informatique dans le cadre de l'étude BIOMARQUEURS France « Observatoire national des patients porteurs d'un CBNPC, bénéficiant d'un test moléculaire sur les plateformes labellisées par l'Institut national du cancer (INCa) ». Ce traitement a été autorisé par la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL). Conformément à la loi « Informatique et Libertés », vous disposez d'un droit d'accès, de modification, de rectification et de suppression des données vous concernant en écrivant à contact@biomarqueurs-france.fr »

MÉTHODE

- Analyse réalisée à partir d'un prélèvement fixé au formol tamponné et inclus dans un bloc paraffine, après macrodissection **ou selon autre méthode** de la zone d'intérêt.
- Méthode d'extraction de l'ADN génomique tumoral. **si un kit commercial est utilisé : nom et version**
- Recherche des mutations du gène *EGFR* par **méthode d'analyse si un kit commercial est utilisé : nom et version**, sensibilité analytique **en % de cellules mutées dans un bruit de fond de cellules sauvages**, liste des mutations cherchées et séquence de référence (NM_005228.3).
- Recherche des mutations du gène *KRAS* par **méthode d'analyse si un kit commercial est utilisé : nom et version**, sensibilité analytique **en % de cellules mutées dans un bruit de fond de cellules sauvages**, liste des mutations cherchées et séquence de référence (NM_033360.2).
- Recherche des mutations du gène *BRAF* par **méthode d'analyse si un kit commercial est utilisé : nom et version**, sensibilité analytique **en % de cellules mutées dans un bruit de fond de cellules sauvages**, liste des mutations cherchées et séquence de référence (NM_004333.4).
- Recherche des mutations du gène *PIK3CA* par **méthode d'analyse si un kit commercial est utilisé : nom et version**, sensibilité analytique **en % de cellules mutées dans un bruit de fond de cellules sauvages**, liste des mutations cherchées et séquence de référence (NM_006218.2) .
- Recherche des mutations du gène *HER2* par **méthode d'analyse si un kit commercial est utilisé : nom et version**, sensibilité analytique **en % de cellules mutées dans un bruit de fond de cellules sauvages**, liste des mutations cherchées et séquence de référence (NM_004448.2).

COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

Michèle Beau-Faller (CHU de Strasbourg)
Karine Durand (CHU de Limoges)
Fabienne Escande (CHU de Lille)
Marie-Pierre Gaub (CHU de Strasbourg)
Lucie Karayan-Tapon (CHU de Poitiers)
Aude Lamy (CHU de Rouen)
Sylvie Lantuejoul (CHU de Grenoble)
Jean-Christophe Sabourin (CHU de Rouen)
Isabelle Soubeyran (CLCC de Bordeaux)

Coordination INCa

Etienne Lonchamp (INCa)
Frédérique Nowak (INCa)

Le modèle de compte rendu a été soumis à la relecture des 28 plateformes de génétique moléculaire des cancers et de plusieurs cliniciens.