

# RECHERCHE DE MUTATIONS EGFR SUR ADN CIRCULANT CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE CANCER BRONCHIQUE NON À PETITES CELLULES (CBNPC)

F. Escande, C. Descarprentries, C. Vermaut  
UF Biologie moléculaire des tumeurs solides  
Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU Lille  
Tél : 03 20 44 42 93

A l'heure des thérapies ciblées, un des enjeux de l'oncologie est **l'identification d'une cible moléculaire pour chaque tumeur** afin d'adapter le traitement et ce tout au long de la prise en charge du patient. Dans le CBNPC, la recherche de mutation du gène *EGFR* est essentielle pour la décision thérapeutique, le statut EGFR muté étant nécessaire pour assurer l'efficacité des traitements par inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) anti-EGFR. La recherche des mutations somatiques nécessite l'accès à un prélèvement tissulaire obtenu soit par exérèse chirurgicale d'une métastase ou de la tumeur primitive soit par biopsie. Le prélèvement est ensuite fixé et inclus en paraffine. La recherche de mutation est alors réalisée à partir de l'ADN extrait de ces prélèvements. Outre les problèmes liés au préanalytique (ADN dégradés, matériel épuisé...), la réalisation des prélèvements tissulaires est parfois compliquée du fait de l'accessibilité du site à biopsier et du risque de morbidité associé à un geste invasif. Ainsi, selon les études, il est estimé qu'environ 10 à 30% des patients atteints de CBNPC ne peuvent pas avoir accès à leur statut mutationnel faute de matériel disponible pour l'analyse moléculaire.

Ainsi, il était important de développer des techniques innovantes adaptées au diagnostic et au suivi des patients atteints de cancer et il est aujourd'hui possible d'étudier le profil mutationnel d'une tumeur à partir d'un prélèvement sanguin appelé, dans ce contexte, « biopsie liquide ». Plusieurs types de biomarqueurs moléculaires peuvent être analysés à partir d'un prélèvement de sang périphérique : cellules tumorales circulantes, ADN circulant libre, micro-ARN et exosomes (figure 1). Parmi ceux-ci, **l'ADN tumoral circulant (ADNtc)** est l'un des plus prometteurs.

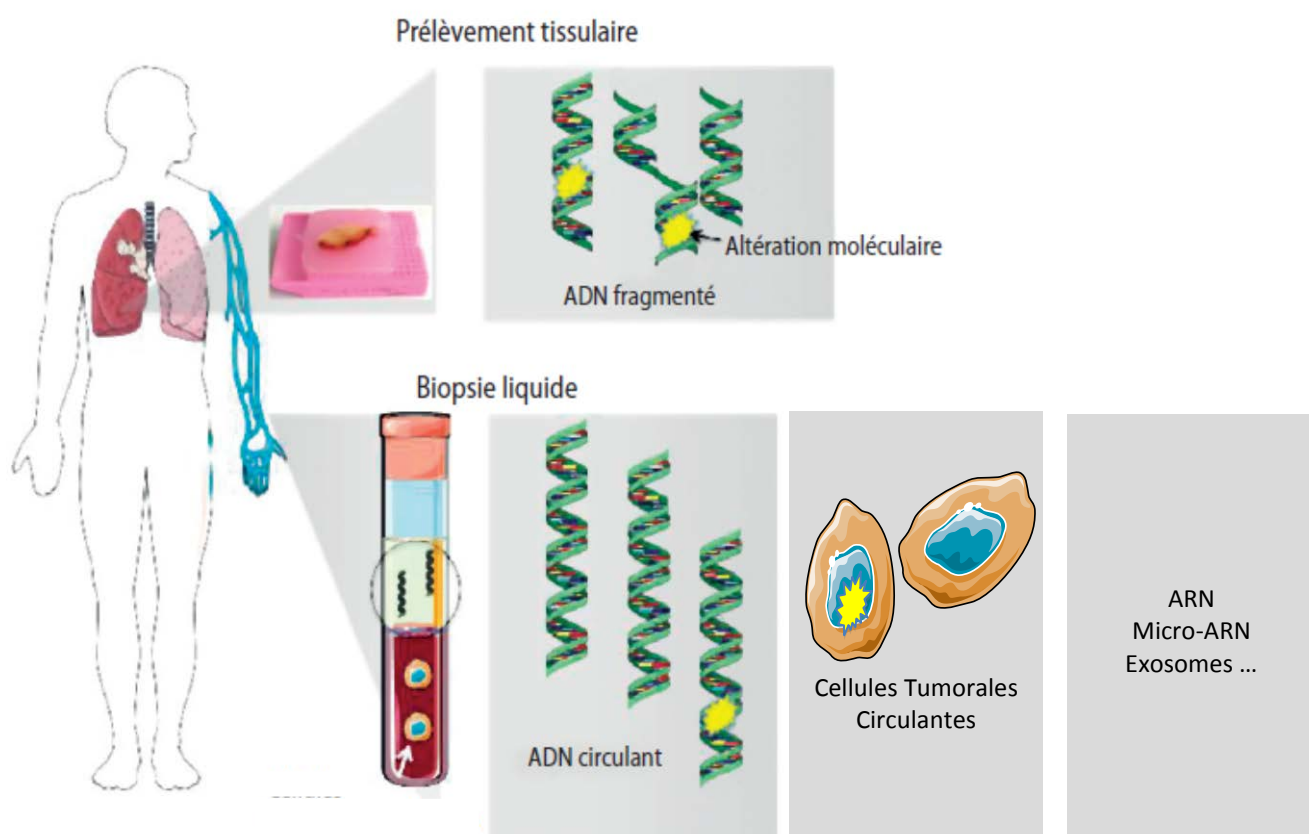


Figure 1 : Alternative aux prélèvements tissulaires. Adapté de A. Vallée et al. (*Correspondances en Theranostic* 2013)

La présence d'ADN dans le plasma est connue depuis 1948. Des fragments d'ADN sont libérés dans les fluides corporels, comme le sang, par le biais de différents processus physiologiques (apoptose, nécrose ou une sécrétion active). Tout comme les cellules saines, les cellules tumorales libèrent de l'ADN dans le sang. L'ADN tumoral circulant est caractérisé par des défauts génétiques (mutations ponctuelles, réarrangements chromosomiques, motifs épigénétiques anormaux...) spécifiques de la tumeur (figure 2). Il est donc possible de caractériser cet ADN tumoral et de l'utiliser comme traceur tumoral non invasif dans le diagnostic et le suivi des patients atteints de cancer.

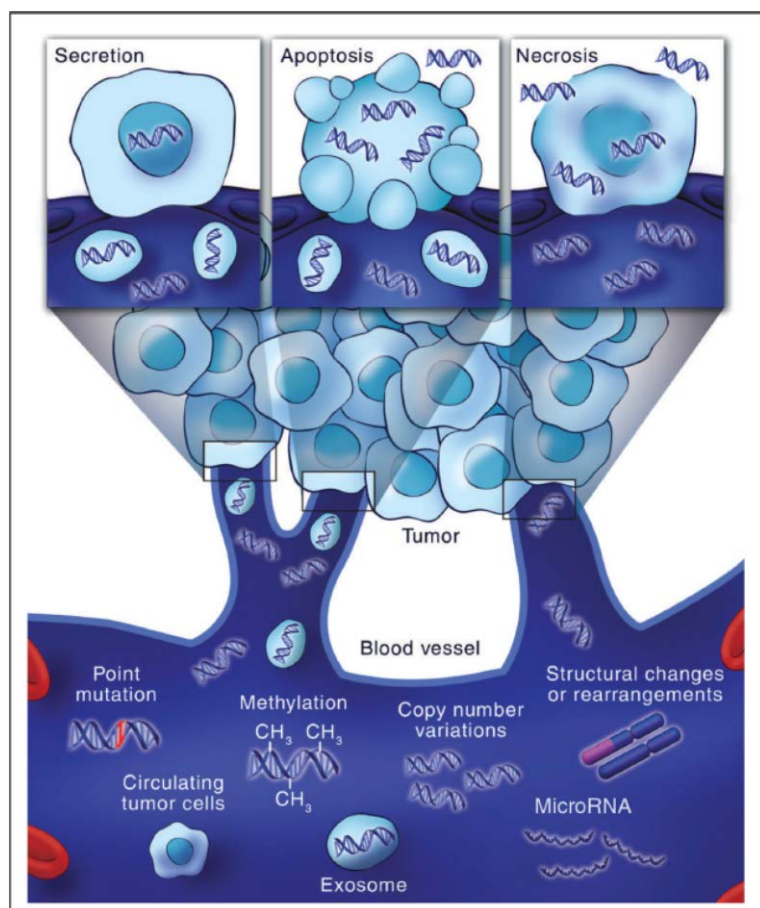


Figure 2 : Origine de l'ADN tumoral circulant d'après Diaz LA *et al.* (*J Clin Oncol* 2014)

La difficulté dans l'utilisation de l'ADNtc en pratique clinique réside dans le fait que l'ADNtc peut se retrouver fortement dilué au sein de l'ADN libre circulant total, provenant lui, des cellules saines de l'organisme. La quantité d'ADNtc varie en fonction du stade de la maladie, de la taille de la tumeur, de sa localisation et du nombre de sites métastatiques. Si l'ADNtc peut représenter jusqu'à 50 % de l'ADN libre total circulant chez les patients métastatiques, il est souvent inférieur à 1 % dans les stades précoces. Ainsi, un des principaux défis de la biopsie liquide est la sensibilité des techniques moléculaires utilisées pour caractériser l'ADN tumoral. Les récents progrès dans l'analyse génomique avec l'utilisation de techniques très sensibles telles que la PCR digitale, la PCR temps réelle ou le NGS optimisé ont permis son utilisation en pratique clinique.

Aujourd'hui, **en oncologie thoracique, l'ADN tumoral circulant a trouvé sa place en tant qu'alternative à la biopsie tissulaire** qui reste néanmoins la méthode de référence pour l'établissement du diagnostic et la mise en place du traitement initial. L'analyse de l'ADN circulant de part son caractère non invasif et sa facilité de réalisation, est intéressante lorsque la biopsie tissulaire est impossible. Le recours à la biopsie liquide est particulièrement intéressant chez les patients en récurrence pour identifier et suivre le mécanisme de progression (recherche de mutation T790M) afin de proposer un traitement adapté.

## EN PRATIQUE :

### Indications :

- primo détermination du statut EGFR si la biopsie tissulaire n'est pas réalisable ou non contributive
- détection de mutation de résistance chez un patient sous traitement, en rechute clinique ou progression sous TKI.

Joindre la [fiche de prescription](#) disponible sur le catalogue des analyses :

[http://biologiepathologie.chru-lille.fr/fichiers/212\\_795egfr\\_adn\\_circula.pdf](http://biologiepathologie.chru-lille.fr/fichiers/212_795egfr_adn_circula.pdf)

**Intitulé de l'analyse :** Recherche de mutations du gène EGFR sur ADN circulant

### Prélèvements et envoi :

- Prélèvement sanguin sur Tube EDTA: **2 tubes EDTA de 7 mL (ou 3 tubes de 5 mL) - Bien les remplir**

#### **Sur EDTA, le pré-analytique doit être réalisé dans les 2 heures**

Tube EDTA



- Envoyer les tubes EDTA en urgence à température ambiante afin qu'ils parviennent **dans les 2 heures** à la plateforme et **prévenir la plateforme (Tel : 03 20 44 42 93)**
- **Centrifuger dans les 2 h** qui suivent le prélèvement à 2000g pendant 10 min - **Noter l'heure de centrifugation**
- Décanter dans un tube à hémolyse
- **Congeler le plasma à -20°C** (volume minimum 2 ml)
- Envoyer le plasma congelé
- **Prévenir la plateforme (Tel : 03 20 44 42 93) : arrivée impérative avant 16h30**

**ou**

- Prélèvement sanguin sur Tubes spécifiques (type tube BCT STREK ou Roche – contenant un stabilisateur) : **1 tube de 10 ml**



Tube BCT

- Prélèvement sur tube spécifique (**non fourni**)
- Conservation possible quelques jours à température ambiante
- **Envoi du prélèvement à température ambiante**

**Délai de rendus des résultats :** 7 à 10 jours ouvrés