

 Centre Universitaire inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 1 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

1. Objet

Le manuel de prélèvement des échantillons primaires du laboratoire CurePath contient toutes les instructions relatives aux traitements des échantillons primaires (prélèvements).

2. Domaine d'application

Ce manuel est un document externe mis à la disposition des médecins prescripteurs du laboratoire CurePath dans le but de leur fournir des informations précises concernant les processus pré-analytiques des prélèvements de manière à ce que ceux-ci puissent être acheminés au laboratoire dans des conditions optimales.

3. Abréviations – Définitions

CurePath : Centre Universitaire inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique hospitalière
Prélèvement : matériel humain destiné à un examen anatomo-pathologique (macroscopie, cytologie, histologie, immunohistochimie, biologie moléculaire).

Cavell : Centre Médical Edith Cavell

CPL : Centre Médical du Parc Léopold

DELTA : Hôpital Delta

SARE : Clinique Ste-Anne St-Rémy

HBW : Hôpital de Braine l'Alleud-Waterloo

Basilique : Clinique de la Basilique

Lambermont : Centre Médical Europe-Lambermont

City Clinic : City Clinique Louise

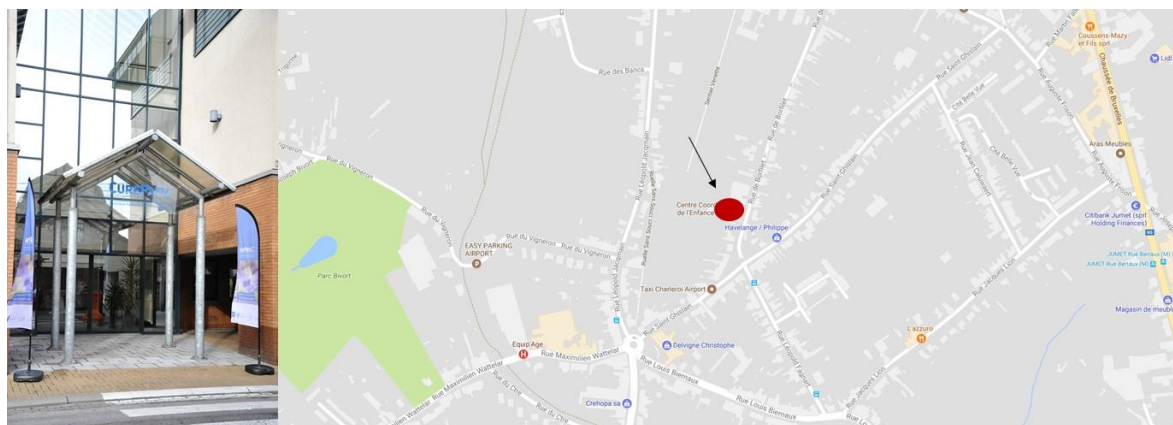
Tivoli : CHU Tivoli

ST : sous-traitance

4. Contenu

4.1. Informations administratives

Nom : CurePath Asbl
Adresse : Rue de Borfilet 12A
6040 Jumet



 Centre Universitaire inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 2 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

Heures d'ouverture : de 8h00 à 18h00 du lundi au vendredi.

Numéros de téléphone utiles :

Secrétariat de Direction :	+32 71 92 74 24
Secrétariat Médical :	+32 71 92 74 41 +32 71 92 74 42 +32 71 92 74 43
Direction Administrative / Commande	+32 71 92 74 44
Réception et encodage des prélèvements :	+32 71 92 74 03
Histologie :	+32 71 92 74 08
Cytologie :	+32 71 92 74 10
Immunohistochimie :	+32 71 92 74 11
Fax :	+32 71 92 74 45
E-mail :	info@curepath.be

4.1.1. Equipe médicale du LAP

Nom Prénom	Fonction	Bips	E-mail
Sandrine Rorive	Directeur Médical, Médecin pathologiste, Réfèrent des sites Delta et SARE	+32 71 92 74 20	Sandrine.Rorive@curepath.be
Calliope Maris	Réfèrent du site HBW Médecin pathologiste,	+32 71 92 74 30	Calliope.Maris@curepath.be
Xavier Catteau	Réfèrent du site CHU Tivoli, Médecin pathologiste	+32 71 92 74 28	Xavier.Catteau@curepath.be
Jorge Arrese	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 25	Jorge.Arrese@curepath.be
Gloria Butorano	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 26	Gloria.Butorano@curepath.be
Myriam Remmelink	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 44 +32 2 555 31 15	Myriam.Remmelink@curepath.be
Nicky D'Haene	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 44 +32 2 555 31 15	Nicky.D.Haene@curepath.be
Jean-Christophe Noël	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 44 +32 2 555 31 15	Jean.Christophe.Noel@erasme.ulb.ac.be
Anne-Laure Trepant	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 25	Anne-Laure.Trepant@curepath.be
Dominique Bafort	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 31	Dominique.Bafort@curepath.be
José-Luis Rodriguez	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 29	Jose.rodriguez@curepath.be
Fernanda Garcia Pimenta	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 31	Fernanda.garcia@curepath.be
Patricia Stinga	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 25	Patricia.stinga@curepath.be
Françoise Hulet	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 26	Françoise.hulet@curepath.be
Sarah Bouri	Médecin pathologiste	+32 71 92 74 23	Sarah.bouri@curepath.be

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 3 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

4.1.2. Rôle de CurePath

CurePath assure le traitement des prélèvements cytologiques et histologiques (biopsies, pièces opératoires et examens extemporanés) pour tous les secteurs cliniques.

4.2. La demande d'examen :

La demande (**FO-CU-QUAL-03**) doit contenir :

- Une identification **univoque** du patient et du médecin prescripteur ;
- Une liste précise et numérotée des différents prélèvements ;
- Les informations cliniques utiles à l'analyse et à l'interprétation des résultats.

Pour être accepté à l'encodage (conforme), le prélèvement doit être accompagné d'une demande qui doit comporter les informations suivantes :

1. Identification du patient :
 - Nom – prénom ;
 - Sexe ;
 - Date de naissance ;
 - Numéro d'identifiant.
 -
2. Renseignements cliniques.
3. Identification du prélèvement :
 - Nom – prénom du patient ;
 - Numéro d'identifiant ;
 - Date et heure de prélèvement ;
 - Site de prélèvement.
4. Identification du médecin prescripteur :
 - Origine du prélèvement (centres d'activité) ;
 - Nom – prénom ;
 - Numéro INAMI ;
 - Date de prescription ;
 - Le ou les destinataire(s) des résultats avec l'adresse exacte.

Vous comprendrez aisément que certains prélèvements non-conformes aux indications reprises ci-dessus sont bloquants pour l'analyse alors que d'autres permettent l'analyse sous-réserve (AN-CU-QUAL-26**).**

L'encodeur du laboratoire CurePath a la responsabilité de vérifier la concordance des informations présentes sur la demande et le prélèvement. Toute discordance ou absence d'information conduit à une procédure de prélèvement non-conforme (**PR-CU-QUAL-04**).

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 4 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

4.3. Transport et points de collecte centrale au niveau des sites hospitaliers (centres d'activité)

4.3.1. Hygiène et sécurité

Tous les tissus biologiques sont considérés comme potentiellement infectieux ; il faut donc leur appliquer les mesures préventives de base tels qu'indiquées dans le code de bonne pratique du personnel des laboratoires qui est disponible dans une farde du même nom dans le local **L-00-01**.

Les pots doivent être **hermétiquement fermés et propres** lors de l'enlèvement pour le transport.

4.4. Prélèvements histologiques et cytologiques

Les prélèvements histologiques comportent des biopsies et des pièces opératoires. Pour certaines interventions, le chirurgien demande au pathologiste de réaliser un examen extemporané ; les lames et les inclusions des prélèvements extemporanés accompagnent la ou les pièces opératoires.

Les prélèvements sont fixés au formol (4%) pH neutre ; le temps de fixation est minimum de 6 heures et maximum de 48 heures. Le volume de fixateur doit être égal à au moins deux fois le volume du prélèvement ([IN-CU-CA-02](#)).

Les liquides (cytologie exfoliative) et les frottis (lames sèches ou fixées) constituent les prélèvements cytologiques. **Tous les prélèvements liquides doivent être fixés immédiatement au Cytolyt ou au Saccomano (uniquement pour les cytologies urinaires).** Le matériel cytologique est analysé après avoir été préparé et coloré suivant des procédures spécifiques variant en fonction du type d'échantillon reçu. En cas de très petit volume, l'entièreté de l'échantillon est analysée.

Pour les pièces opératoires reçues à frais et les prélèvements extemporanés provenant des quartiers opératoires, il est essentiel de respecter un délai d'acheminement inférieur à 30 minutes (temps d'ischémie tissulaire ; cf. [IN-CU-CA-12](#)). Ces prélèvements doivent obligatoirement être accompagnés d'une feuille de demande (feuille de demande d'examen extemporané ou feuille de demande définitive).

Pour chaque centre d'activité ou polycliniques, les instructions relatives à la prise en charge des prélèvements provenant des salles d'opération, des consultations, des salles d'hospitalisation, de l'endoscopie et du service de radiologie (en termes d'identification, de fixation, de conditionnement et d'acheminement) sont reprises dans les documents ci-dessous.
Ces documents sont accessibles sur les sites intranet des centres d'activité et sur le site internet de CurePath.

Nom	Référence du document
DELTA	IN-CU-CA-29 IN-CU-CA-30
HBW	IN-CU-CA-02 IN-CU-CA-03
SARE	IN-CU-CA-26 IN-CU-CA-27
Tivoli	IN-CU-CA-09

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 5 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

	<u>IN-CU-CA-10</u>
Cavell	<u>IN-CU-CA-16</u>
	<u>IN-CU-CA-17</u>
CPL	<u>IN-CU-CA-19</u>
	<u>IN-CU-CA-13</u>
Lambermont	<u>IN-CU-CA-18</u>
City Clinic	<u>IN-CU-CA-20</u>
Basilique	<u>IN-CU-CA-21</u>
	<u>IN-CU-CA-22</u>

Les diagnostics anatomo-pathologiques font l'objet d'un protocole qui est délivré dans les 7 jours pour une pièce opératoire et les 3 jours pour une biopsie après réception du prélèvement au Laboratoire CurePath (délai calculé hors immunohistochimie et examens de biologie moléculaire).
Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez contacter le secrétariat : +32 71 92 74 44.

4.5. Examen extemporané

Il s'agit d'un examen histologique demandé en urgence par le chirurgien. Le but de cet examen est d'orienter et d'adapter la procédure chirurgicale aux caractéristiques de la pathologie mise en évidence durant l'intervention. Un examen extemporané n'est indiqué que si la réponse du pathologiste peut changer le geste chirurgical et doit se réaliser en accord avec les guidelines internationaux.

Ces examens se basent sur la technique de coupes à congélation. Les coupes sont réalisées au cryostat et colorées selon la technique HE-extemporanée ([FA-CU-HISTO-01](#)).

L'avantage de cette technique est sa rapidité mais la qualité du prélèvement obtenu avec cette technique (prélèvement congelé) est inférieure à la qualité utilisée en routine (prélèvement fixé). Le diagnostic posé extemporanément doit toujours être validé par l'analyse du prélèvement congelé après fixation, inclusion et coloration classique.

Renseignements pratiques :

- **Les examens extemporanés se font sur prise de rendez-vous dès décision de la date opératoire et dans la mesure du possible au minimum 72h avant celle-ci.**
Les consignes relatives à une demande d'examen extemporané pour les médecins prescripteurs sont disponibles sur les sites intranet des centres d'activité (sites hospitaliers) et sur le site internet de CurePath.

Nom	Référence du document
HBW	<u>IN-CU-CA-01</u>
DELTA	<u>IN-CU-CA-28</u>
SARE	<u>IN-CU-CA-24</u>
Tivoli	<u>IN-CU-CA-08</u>

- **La technique se pratique uniquement à partir de matériel frais, ne pas mettre de sérum physiologique ni de fixateur.**

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 6 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

- Le délai d'acheminement doit être le plus court possible : 5 minutes maximum pour garantir la qualité de l'examen. Le prélèvement extemporané doit être accompagné de la feuille de demande d'examen extemporané complétée et signée par le chirurgien.
- Le résultat de l'examen extemporané est transmis dans les 45 minutes. Ce résultat est transmis au chirurgien par téléphone par le pathologiste ou en salle d'opératoire si le pathologiste réalise l'examen directement au sein du quartier opératoire. Il est intégré au protocole final associé à la validation définitive.

4.6. Demande Immunohistochimie (IHC)

- En interne, la demande d'examens immunohistochimiques est informatisée.

- Certains examens immunohistochimiques plus spécifiques peuvent faire l'objet d'une sous-traitance au Laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme. Les pathologistes de CurePath en font la demande de manière informatisée. Pour ces demandes spécifiques, les lames blanches sont acheminées de CurePath au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme en suivant la procédure (**PR-CU-LG-14**).

- Une fois réalisées, les immunomarquages sont transmises au pathologiste demandeur. Celui-ci est responsable de l'analyse des résultats et de l'intégration de ces résultats au protocole anatomo-pathologique ou dans un protocole additionnel.

Aspects pratiques :

- Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (blocs cellulaires, biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 48 heures. La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.
- Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomopathologique complet doit être associé. Le médecin prescripteur vérifiant la fixation adéquate du prélèvement.
- Les tests sont réalisés au minimum 1 fois par semaine et le délai de réponse est de 10 jours.
- Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique ou fera l'objet d'un protocole additionnel. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

Personnes de contact :

- **Laboratoire CurePath :**

Dr Sandrine Rorive (071 92 74 20 (44)) sandrine.rorive@curepath.be

- **Sous-traitance au Laboratoire Anatomie Pathologique d'Erasme :**

Dr. N. D'Haene (02 555 53 91) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Dr. S. De Clercq (02 555 31 15) Sarah.declercq@erasme.ulb.ac.be

4.6.1. Analyse immunohistochimique ALK

Cette analyse fait l'objet d'une sous-traitance au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme.

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 7 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

Domaine d'application :

Des réarrangements du gène ALK (Anaplastic lymphoma kinase) ont été décrits dans environ 3 à 5% des cancers pulmonaires non à petites cellules (NSCLC) et semblent être plus fréquents chez les patients porteurs d'un adénocarcinome, non-fumeurs et ne présentant pas de mutation des gènes EGFR et KRAS.

Une prise en charge thérapeutique inhibant la kinase ALK nécessite la démonstration d'un réarrangement du gène ALK. Actuellement, l'immunohistochimie est considérée comme faisant partie des outils diagnostiques potentiels permettant d'évaluer la présence de la protéine de fusion ALK.

4.6.2. Analyse immunohistochimique Her2-Neu

Domaine d'application :

La détection par immunohistochimie de l'amplification du gène HER2/neu dans le cancer du sein et dans le cancer gastrique est un marqueur pronostic. Cette amplification est également directement corrélée à la réponse au traitement par thérapie ciblée anti-HER2 (Trastuzumab). Une amplification mise en évidence par immunohistochimie doit être validée par FISH.

4.6.3. Analyse immunohistochimique récepteurs œstrogène et progestérone

Domaine d'application :

Il est recommandé pour chaque nouveau cas de cancer du sein de tester le statut des récepteurs œstrogène et progestérone. Leur statut est un des facteurs pronostiques des patientes porteuses d'un cancer du sein et prédit également la réponse aux traitements hormonaux tels que le Tamoxifène® par exemple.

4.6.4. Analyse immunohistochimique EGFR

Domaine d'application :

L'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) est un récepteur transmembranaire de 170 kDa de type tyrosine kinase qui a pour ligands des membres de la famille des EGF (Epidermal growth factor). La liaison d'un ligand à l'EGFR induit l'activation de différentes voies de signalisation qui jouent un rôle dans la prolifération, la mort cellulaire, la migration et l'angiogenèse.

Le Tarceva® (Erlotinib) est utilisé dans le cancer du poumon non à petites cellules, après échec d'au moins une chimiothérapie. En Belgique, pour obtenir le remboursement, il faut qu'au moins 10 % des cellules tumorales expriment l'EGFR.

4.6.5. Analyse immunohistochimique c-kit/CD117

Domaine d'application :

Les tumeurs stromales gastrointestinales (GIST) sont rares mais constituent les tumeurs mésenchymateuses gastrointestinales les plus fréquentes.

Ces tumeurs sont caractérisées par des mutations activatrices du proto-oncogène c-kit, un récepteur tyrosine kinase. Certains GIST présentent des mutations activatrices du gène codant pour le récepteur alpha au facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFRA).

Le Glivec® (Imatinib) est utilisé dans le traitement des GIST.

4.6.6. Analyse immunohistochimique ROS1

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 8 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

Cette analyse fait l'objet d'une sous-traitance au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme.

Domaine d'application :

Des réarrangements du gène ROS1 ont été décrits dans environ 1 à 3% des cancers pulmonaires non à petites cellules (NSCLC). La présence d'un tel réarrangement dans le NSCLC serait associée à une réponse thérapeutique au crizotinib.

Actuellement, l'immunohistochimie est considérée comme faisant partie des outils diagnostiques potentiels permettant d'évaluer la présence de la protéine de fusion ROS1.

4.6.7. Analyse immunohistochimique PD-L1

Cette analyse fait l'objet d'une sous-traitance au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme.

Domaine d'application :

Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) est une protéine transmembranaire, exprimée à la surface de certains macrophages et induite par des cytokines pro-inflammatoires dans divers tissus. PD-L1 se lie au récepteur Programmed Death-1 (PD-1) qui est exprimé à la surface de diverses cellules immunitaires (lymphocytes T cytotoxiques, lymphocytes B, cellules présentatrices d'antigènes...). En condition normale, les cellules utilisent l'interaction PD-1/PD-L1 comme mécanisme de protection contre les réactions auto-immunes en inhibant l'action des lymphocytes T.

De nombreux types de tumeurs surexpriment PD-L1 (mélanome, carcinome rénal, carcinome du poumon non à petites cellules...), échappant ainsi à la réponse immunitaire en induisant un état de tolérance immunitaire par inhibition de l'activation lymphocytaire.

KEYTRUDA® (pembrolizumab) est un anticorps monoclonal anti-PD-1 qui bloque l'interaction PD-1/PD-L1 permettant aux lymphocytes T d'être actifs et entraînant une réponse immunitaire contre les cellules tumorales. L'immunothérapie anti-PD-1 pembrolizumab a prouvé son efficacité en première ligne du traitement des cancers du poumon non à petites cellules. L'expression de PD-L1 dans > 50 des cellules tumorales est associée à une meilleure réponse au pembrolizumab⁽⁵⁾.

La détection de l'expression de PD-L1 au sein des cellules tumorales est donc un biomarqueur pour la réponse à l'immunothérapie anti-PD-1.

4.7. Demande de Biologie moléculaire

Toutes les analyses de biologie moléculaire font l'objet d'une sous-traitance au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme.

Aspects pratiques :

- Une demande d'analyse de biologie moléculaire (**FO-CU-QUAL-26**) doit être remplie par le prescripteur. Cette demande peut être envoyée par courrier interne, postal ou par email à l'adresse Biomol.Anapath@erasme.ulb.ac.be. Si les demandes sont effectuées par un autre biais l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme.
- **Remarque : Toutes les informations demandées sur l'échantillon sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.**

- Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre.
 - La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 48 heures.
 - La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.
 - Si le fixateur ou le temps de fixation n'est pas précisé, l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme (**AN-CU-QUAL-26**).
 - **Pour les analyses de FISH/CISH les prélèvements fixés avec fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**
 - Les prélèvements de sang en vue d'une biopsie liquide doivent être prélevés dans les tubes appropriés (cell-free DNA BCT – Streck). Ces prélèvements sont à conserver à température ambiante pendant tout le transport et doivent arriver au laboratoire sous 48h (pour plus de détails voir point 4.5)
 - Les kits de prélèvement de biopsies liquides sont fournis par le LAP sous demande par téléphone (02/555 8508) ou par email Biomol.Anapath@erasme.ulb.ac.be.
- Récapitulatif des critères de non-conformité

Nature de la non-conformité	Analyses	
	FISH/CISH	Autres
Utilisation d'un mauvais fixateur (autre que le formol tamponné 4%)	Bloquant	Non Bloquant
Prélèvement décalcifié		
Délai <u>avant</u> fixation supérieur à 1 heure ou non mentionné	Non Bloquant	Non Bloquant
Temps de fixation <6h ou >48 ou non renseigné		
Prélèvement coloré à l'éosine		

- Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomo-clinique complet doit être associé.
- Le résultat fera l'objet d'un protocole qui sera inclus au dossier du patient. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

4.7.1. Analyses basées sur l'hybridation in-situ (FISH/CISH)

4.7.1.1. FISH HER2-Neu

Domaine d'application :

L'amplification du gène HER2/neu est associée à un moins bon pronostic pour les patients atteints d'un carcinome mammaire ou d'un carcinome gastrique. La présence de cette amplification est associée à une réponse thérapeutique à l'anti- HER2/neu (Trastuzumab).

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Médecins responsables :

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Pr. Jean-Christophe Noël (02 555 54 04) Jean-Christophe.Noel@erasme.ulb.ac.be

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 10 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

4.7.1.2. FISH ALK

Domaine d'application :

Les réarrangements du gène ALK (Anaplastic lymphoma kinase) sont des altérations génétiques qui ont été observées dans différents types de cancer dont les NSCLC. La présence d'un tel réarrangement dans le NSCLC est associée à une réponse thérapeutique au crizotinib, un inhibiteur de ALK.

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Dr. M. Rummelink (02 555 31 16) Myriam.Rummelink@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.3. FISH ROS1

Domaine d'application :

Les réarrangements du gène ROS1 sont des altérations génétiques observées dans différents types de cancer dont les NSCLC. La présence d'un tel réarrangement dans le NSCLC serait associée à une réponse thérapeutique au crizotinib.

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Dr. M. Rummelink (02 555 31 16) Myriam.Rummelink@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.4. FISH MET

Domaine d'application :

L'amplification du gène MET est observée dans différents types de cancer dont les NSCLCs.

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Dr. M. Rummelink (02 555 31 16) Myriam.Rummelink@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.5. FISH RET

Domaine d'application :

Les réarrangements du gène RET sont des altérations génétiques rares observées dans environ 1% des NSCLCs.

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 11 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be
Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be
Dr. M. Remmelink (02 555 31 16) Myriam.Rommelink@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.6. FISH 1p19q

Domaine d'application :

La co-délétion 1p/19q est un marqueur diagnostique des tumeurs gliales de type oligodendrogial (oligodendrogliomes, oligodendrogliomes anaplasiques et oligoastrocytomes). La co-délétion 1p19q est un marqueur de meilleur pronostic, associé à une meilleure sensibilité des patients aux traitements chimiothérapeutiques.

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be
Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.7. FISH p16 (CDKN2A)

Domaine d'application :

La délétion du gène CDKN2A (p16) est un marqueur diagnostique des tumeurs gliales de haut grade. La délétion du gène CDKN2A (p16) est également un marqueur de moins bon pronostic dans les oligodendrogliomes.

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be
Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.8. CISH EGFR

Domaine d'application :

L'amplification du gène EGFR est un marqueur diagnostique des tumeurs gliales de haut grade. Cette amplification est également un marqueur de moins bon pronostic dans les gliomes.

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be
Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 12 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

4.8.1.9. CISH MDM2

Domaine d'application :

L'amplification du gène MDM2 est un marqueur caractéristique des liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés. En revanche l'amplification du gène MDM2 n'est pas observée dans les lipomes. La détection de l'amplification du gène MDM2 constitue donc un outil de choix dans le diagnostic différentiel des lipomes et des liposarcomes.

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Dr. M. Remmelink (02 555 31 16) Myriam.Remmelink@erasme.ulb.ac.be

4.7.1.10. ISH EBV

Domaine d'application :

La recherche d'EBV (Epstein Barr virus) est recommandée dans diverses situations cliniques :

1/ En pathologie hématologique : lymphomes T (extranodal NK, nasal type), lymphomes post-transplantation, lymphome diffus à grandes cellules de la personne âgée, lymphome de Burkitt (cas africains, SIDA). La détection de l'EBV est aussi nécessaire pour proposer ce diagnostic dans les adénopathies réactionnelles liée à la mononucléose infectieuse.

2/ En pathologie ORL : carcinome lympho-épithélial (+), carcinome indifférencié sino-nasal (-), carcinome naso-pharyngés (+),

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Dr. M. Remmelink (02 555 31 16) Myriam.Remmelink@erasme.ulb.ac.be

4.7.2. Analyses basées sur la PCR

4.7.2.1. Détection des mutations du gène BRAF

Domaine d'application :

Les mutations du codon V600 du gène BRAF sont fréquentes dans un grand nombre de cancers tels que les cancers colorectaux, les carcinomes papillaires de la thyroïde ou les mélanomes. Dans les carcinomes papillaires de la thyroïde la présence de mutation BRAF^{V600} est corrélée au diagnostic et au pronostic. Dans les cancers colorectaux la présence de cette mutation est corrélée à un moins bon pronostic. Enfin, dans le cadre du mélanome, la présence de mutation BRAF^{V600} confère une sensibilité aux inhibiteurs de BRAF. La détection des mutations du codon V600 du gène BRAF est faite par PCR à l'aide du test Idylla (CE/IVD)

- Le délai de réponse est de maximum 72 heures.

 Centre Universitaire inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 13 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.2.2. Détection des mutations du gène KRAS

Domaine d'application :

Le gène *KRAS* est fréquemment muté dans le cancer colorectal. Plusieurs grandes études cliniques ont identifié les mutations du gène *KRAS* comme marqueur prédictif d'une absence de réponse aux anticorps monoclonaux anti-EGFR dans le traitement du cancer colorectal métastatique. Selon les directives ESMO, NCCN et CAP/AMP/ASCO récemment publiées, le génotypage des mutations cliniquement pertinentes avec une sensibilité de 5 % sur l'exon 2 (codons 12 et 13), l'exon 3 (codons 59 et 61) et l'exon 4 (codons 117 et 146) est désormais obligatoire pour les tissus tumoraux de tous les cancers colorectaux métastatiques. La détection des mutations du gène *KRAS* est faite par PCR à l'aide du test Idylla (CE/IVD)

- Le délai de réponse est de maximum 72 heures.

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.2.3. Détection des mutations des gènes NRAS et BRAF

Domaine d'application :

En 2013, l'équipe de Douillard a montré qu'en plus des mutations activatrices dans le gène *KRAS*, des mutations activatrices similaires dans les exons 2, 3 et 4 du gène *NRAS* ont le même effet prédictif d'une absence de réponse anticorps monoclonaux anti-EGFR tels que le cetuximab et le panitumumab dans le traitement du cancer colorectal métastatique.

Selon les directives ESMO, NCCN et CAP/AMP/ASCO récemment publiées, le génotypage des mutations cliniquement pertinentes avec une sensibilité de 5 % sur l'exon 2 (codons 12 et 13), l'exon 3 (codons 59 et 61) et l'exon 4 (codons 117 et 146) des gènes *RAS* est désormais obligatoire pour tous les cancers colorectaux métastatiques, depuis qu'il a été établi que la présence de ces mutations est corrélée à l'absence de réponse aux traitements à base d'inhibiteurs anti-EGFR.

De plus, environ 10% des cancers colorectaux présentent une mutation sur le codon V600 du gène *BRAF*. Les mutations du codon V600E de *BRAF* corréleront avec un phénotype très agressif, de plus mauvais pronostic (OS et PFS réduites) que les cas *BRAF* WT, quel que soit le traitement.

Enfin, les guidelines ESMO recommandent de tester tous les cancers colorectaux pour la mutation *BRAF* d'une part afin de différencier les instabilités microsatellitaires germinales et somatiques, et d'autre part pour la valeur pronostique de ce biomarqueur.

La détection des mutations du gène *NRAS* et du codon V600 du gène *BRAF* est faite par PCR à l'aide du test Idylla (CE/IVD).

- Le délai de réponse est de maximum 72 heures.

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

 Centre Universitaire inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 14 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

4.7.2.4. Détection des mutations du gène EGFR

Domaine d'application :

Le dépistage de la présence de mutation dans le domaine tyrosine kinase de l'EGFR des patients atteints de cancer NSCLC a pour but d'aiguiller le médecin vers le traitement adéquat pour son patient :

- Traitement par inhibiteurs de tyrosine kinase pour ceux présentant une ou plusieurs mutations activatrices de l'EGFR (sensibles aux TKI)
- Traitement par chimiothérapie pour ceux ne présentant pas de mutation ou présentant une mutation de résistance au traitement comme la T790M.

La détection des mutations L858R, L861Q, S768I, T790M, des délétions les plus communes dans l'exon 19 et des insertions les plus communes dans l'exon 20 du gène EGFR est faite par PCR à l'aide du test Idylla (CE/IVD).

- Le délai de réponse est de maximum 72 heures.

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.2.5. Analyse l'instabilité des microsatellites (MSI)

Domaine d'application :

L'instabilité des microsatellites (MSI) se caractérise par la variation anormale du nombre de séquences répétées dans l'ADN tumoral. Cette instabilité des microsatellites est le reflet d'un défaut du système de réparation des mésappariements de bases de l'ADN (MMR pour mismatch repair). L'instabilité des microsatellites est présente dans la plupart des cas de syndrome HNPCC (hereditary nonpolyposis colon cancer) ou syndrome de Lynch qui est un cancer héréditaire du colon. La présence d'une instabilité des microsatellites (MSI) suggère donc la présence d'un syndrome héréditaire.

- Les tests sont réalisés tous les 21 jours et le délai de réponse est de maximum 1 mois.

Médecins responsables :

Pr. I. Salmon (02 555 3115) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.2.6. Analyse de la méthylation du promoteur du gène MLH1

Domaine d'application :

Le gène MLH1 code pour une protéine faisant partie du groupe de gènes MMR (Mismatch Repair). Le gène MLH1 est fréquemment muté dans les syndromes de Lynch (ou HNPCC pour hereditary non-polyposis colorectal cancer). Dans les cancers sporadiques, des modifications épigénétiques (hyperméthylation) du promoteur du gène codant pour MLH1 ont également été décrites. Dans les deux cas une instabilité microsatellitaire (MSI) est observée. La présence de méthylation au sein de la région promotrice du gène MLH1 indique donc que le gène est rendu silencieux par des modifications épigénétiques et non pas par des mutations héréditaires. L'analyse de la méthylation du promoteur du gène MLH1 est donc un outil qui peut aider à faire une distinction entre les phénotypes MSI-H dus à des causes héréditaires (syndrome de Lynch) ou présents dans les cancers sporadiques.

- Les tests sont réalisés tous les 12 jours et le délai de réponse est de maximum 21 jours.

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 15 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.2.7. Analyse de la méthylation du promoteur du gène MGMT

Domaine d'application :

MGMT (O₆-méthylguanine-DNA méthyltransférase) est une protéine de réparation des dommages à l'ADN qui joue un rôle essentiel dans la résistance aux agents alkylants. Dans les gliomes de hauts grades la méthylation du promoteur du gène MGMT induit une diminution de l'expression et de l'activité de la protéine et est donc associée à une meilleure réponse des patients aux traitements par des agents alkylants tel que le témozolomide ou la carmustine.

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.2.8. Analyse de la délétion du gène MET par RT-qPCR

Domaine d'application :

Les mutations dans les sites d'épissage de l'exon 14 du gène *MET* peuvent conduire à la délétion de cet exon (*MET* exon14 skipping), occasionnant la suppression du domaine juxtamembranaire de la protéine MET et l'activation de cette voie. Les altérations résultant en un skipping de l'exon 14 sont détectées dans 3-4% des cancers pulmonaires. Le *MET* exon 14 skipping (confirmé au niveau de l'ARN) confère une sensibilité aux inhibiteurs de MET, comme le crizotinib, selon des résultats préliminaires d'essais cliniques de phase I. Environ 130 mutations différentes affectant l'exon 14 et les régions introniques adjacentes ont été décrites comme provoquant un *MET* exon 14 skipping.

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Médecins responsables :

Pr I. Salmon (02 555 31 15) isabelle.salmon@erasme.ulb.ac.be

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.3. Analyses par Next generation sequencing (NGS)

Domaine d'application :

Les analyses de panel de gènes par NGS permettent de séquencer simultanément un grand nombre de gènes. Le nombre d'altérations moléculaires à tester dans les tumeurs ayant considérablement augmenté alors que les prélèvements réalisés sont de plus petite taille (matériel biopsique ou cytologique), cette technologie permet d'optimiser la détection des altérations génétiques au sein de ces tumeurs. En effet, à partir de blocs enrobés en paraffine et d'échantillons tumoraux de petite taille, nous pouvons étudier la présence de mutations dans 20 à 50 gènes impliqués dans la cancérogenèse ou la présence de plusieurs réarrangements. Ceci permet d'offrir, dans un délai minimum, une caractérisation moléculaire la plus complète possible des tumeurs.

Plusieurs panels sont disponibles :

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 16 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

4.7.3.1. Le Colon & Lung panel (22 gènes) (CLP)

Liste des 22 gènes analysés dans le Colon and lung Panel :

AKT1, ALK, BRAF, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB4, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KRAS, MAP2K1, MET, NOTCH1, NRAS, PIK3CA, PTEN, SMAD4, STK11, TP53

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

4.7.3.2. Le Cancer panel (50 gènes) (CHP)

Liste des 50 gènes analysés dans le Cancer Panel :

ABL1, AKT1, ALK, APC, ATM, BRAF, CDH1, CDKN2A, CSF1R, CTNNB1, EGFR, ERBB2, ERBB4, EZH2, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HNF1A, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, JAK3, KDR, KIT, KRAS, MET, MLH1, MPL, NOTCH1, NPM1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, PTPN11, RB1, RET, SMAD4, SMARCB1, SMO, SRC, STK11, TP53, VHL

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

4.7.3.3. Le Gyneco Panel (16 gènes) (GP)

Liste des 16 gènes analysés dans le Gyneco Panel :

AKT1, BRAF, CDKN2A, CTNNB1, DICER1, ERBB2, FBXW7, FGFR2, FOXL2, KRAS, PIK3CA, PIK3R1, POLE, PTEN, RB1, TP53

- Les tests sont réalisés tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

4.7.3.4. Le Lung Fusion Panel (LFP)

Permet la détection de 71 transcrits de fusion connus des gènes ALK, ROS1, RET et NTRK1

- Les tests sont réalisés une tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

Personnes de contact :

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

4.7.3.5. Le Clinical Glioma Panel (CGP)

Liste des 14 gènes analysés dans le Clinical Glioma Panel :

ACVR1, ATRX, BRAF, CDKN2A, EGFR, H3F3A, HIST1H3B, HIST1H3C, IDH1, IDH2, PDGFRA, PTEN, TERT, TP53

- Les tests sont réalisés une tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

4.7.3.6. Le Thyroid Panel (TP)

Liste des 26 gènes analysés dans le Thyroid Panel :

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 17 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

AKT1, APC, AXIN1, BRAF, CDH1, CDKN2A, CHEK2, CTNNB1, EGFR, EIF1AX, FLT3, GNAS, HRAS, IDH1, KRAS, NRAS, PIK3CA, PPM1D, PRKAR1A, PTEN, RASAL1, RET, SMAD4, TERT, TP53, TSHR

- Les tests sont réalisés une tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

4.7.3.7. Le Thyroid Fusion Panel (TFP)

Permet la détection de 28 transcrits de fusion connus des gènes dont RET, ALK, NTRK1, NTRK3, PPARG et BRAF

- Les tests sont réalisés une tous les 15 jours et le délai de réponse est de maximum 18 jours.

4.7.3.8. Le Colon & Lung panel + Oncomine Solid Tumor (22 gènes) (CLP-OST)

Détection possible du MET exon 14 skipping.

Liste des 25 gènes analysés dans le CLP + OST :

AKT1, ALK, BRAF, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB4, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, HRAS, KIT, KRAS, MAP2K1, MET, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, SMAD4, STK11, TP53

- Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Personnes de contact :

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Mme Claude Van Campenhout (02 555 85 08) Claude.van.campenhout@erasme.ulb.ac.be

4.7.4. Analyse HPV

Domaine d'application :

Recherche de séquences virales HPV dit à haut risque (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59,66,68) dans les cytologies cervicales « borderline » de type ASC-US (atypies épithéliales de signification indéterminée), ASC-H (atypies épithéliales devant faire exclure la présence de lésions de haut grade sous-jacentes), AGC (cellules glandulaires endocervicales atypiques) ou dans le suivi du traitement d'une néoplasie cervicale intra-épithéliale de haut grade (CIN2-3) avec prélèvements cervico-vaginaux négatifs .Ce test permet d'identifier simultanément les types d'HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66 et 68 et permet d'identifier simultanément de façon spécifique les types à haut risque : 16, 18, 31, 45, 51, 52 et d'autres génotypes à haut risque reportés par groupe de génotype (P1 :33/58, P2 :56/59/66, P3 :35/39/68).

Aspect pratique :

- Les tests sont réalisés à partir de la solution cytologique résiduelle PreservCyt® de Hologic ayant servi à la réalisation de la cytologie monocouche préalable.
- Les tests sont réalisés sur le système Viper LT de BD.
- Cette recherche HPV ne peut être prescrite que par le médecin spécialiste en anatomie pathologique prestataire de la prestation 588350-588361 ou 588873-588884 ou 588895-588906 selon les cas, accompagnée de la feuille de demande dûment complétée (**FO-HPV-01**).

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 18 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

- Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.
- Les tests sont réalisés tous les jours le délai de réponse est de maximum 18 jours.

Médecins responsables :

Pr. Jean-Christophe Noël (02 555 54 04) Jean-Christophe.Noel@erasme.ulb.ac.be

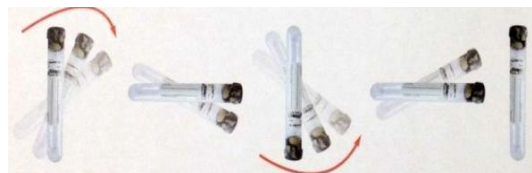
4.8. Demande de biologie moléculaire sur ADN tumoral circulant (biopsies liquides)

Toutes les analyses de biologie moléculaire font l'objet d'une sous-traitance au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Erasme.

Aspects pratiques :

- 2 tubes de sang (tube Streck) doivent être envoyés au laboratoire (cf. Instruction pour le prélèvement des biopsies liquides : [AN-BM-44](#)) :

- Remplir les tubes complètement (au moins 2 x 8ml)
- Mélanger immédiatement en inversant **doucement** le tube 10 fois.
- Stocker les tubes et les transporter à température ambiante.



10X

- Les tubes de sang doivent parvenir au laboratoire dans les 48h (un délai d'acheminement le plus court possible est préférable).
- Si les tubes arrivent au TRI central, ceux-ci doivent être envoyés au laboratoire d'Anatomie Pathologique le plus rapidement possible (cf. Instructions destinées au tri pour l'envoi des tubes de biopsies liquides en anatomie pathologique : [AN-BM-45](#))
- Une demande d'analyse pour biopsie liquide ([FO-BM-96](#)) doit être remplie par le prescripteur. **Cette demande doit être envoyée avec les tubes de sang.**
- La date et l'heure de prélèvement doivent être indiquées sur la feuille de demande.
- Les renseignements cliniques doivent être indiqués sur la feuille de demande. **Les informations demandées sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.**
- Les tests sont réalisés à partir d'ADN tumoral circulant (ctDNA) extrait à partir du plasma.
- Le résultat fera l'objet d'un protocole qui sera inclus au dossier du patient. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

4.8.1. Détection de mutations du gène EGFR sur ADN tumoral circulant

Domaine d'application :

La majorité des patients atteint d'un cancer bronchique de type non à petites cellules (CBNPC) présentant une mutation du gène EGFR et traités par TKI anti-EGFR vont présenter à un moment donné une résistance à ce traitement. Différents mécanismes de résistance ont été décrits, le plus fréquent (environ 50% des cas) consiste en la mutation secondaire T790M du gène EGFR dans le site de fixation des TKI de 1^{ère} et 2^{ème} génération.

Les anti-EGFR de troisième génération tel que l'osimertinib (Tagrisso) sont maintenant donnés dans le cadre du traitement des patients présentant un cancer avancé ou métastatique de type CBNPC avec la

 Centre Universitaire Inter Régional d'Expertise en Anatomie Pathologique Hospitalière	N° du fichier : AN-CU-QUAL-27	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 7
	Approbation : Isabelle Salmon	Date de mise en application : 16 mars 2022
	Validation : Sandrine Rorive	Page 19 sur 19
Manuel des échantillons primaires		

mutation T790M du gène EGFR. En effet, l'osimertinib est, contrairement TKI de 1^{ère} et 2^{ème} génération, actif contre les cellules portant la mutation T790M du gène EGFR. Il est donc nécessaire de répéter au moment de la récurrence, le test de diagnostic moléculaire afin de détecter l'éventuelle présence de la mutation T790M. De nouvelles techniques permettent maintenant de tester la présence de cette mutation sur de l'ADN tumoral circulant (ctDNA) extrait à partir d'un simple prélèvement sanguin, appelé biopsie liquide.

La méthode utilisée au laboratoire d'Anatomie pathologique est une méthode de « Digital droplet PCR (ddPCR) » permettant de détecter les mutations p.L858R, p.E746_A750del et p.T790M du gène EGFR à partir de ctDNA.

- Les tests sont réalisés en fonction des demandes et le délai de réponse est de maximum 10 jours.

Personnes de contact :

Dr. N. D'Haene (02 555 33 35) Nicky.d.haene@erasme.ulb.ac.be

Mr R. De Mendonça (02 555 8492) Ricardo.De.Mendonca@erasme.ulb.ac.be

4. Références – Validations

Néant.

5. Annexes

Néant.

6. Historique des modifications

Décembre 2017 : Adaptation des points 4.1., 4.3. et renumérotation des titres. Adaptation des Contacts, des horaires des navettes.

Mai 2019 : Adaptation des Contacts, des horaires des navettes, des fixateurs utilisés en cytologie, des tests réalisés en sous-traitance avec Erasme. Mise à jour des analyses réalisées en sous-traitance.

Juillet 2019 : adaptation des Contacts et suppression de l'horaire des navettes.

Septembre 2020 : adaptation des Contacts.

Janvier 2021 : mise à jour des Contacts et révision du point 4.4.

Mai 2021 : mise à jour des Contacts

Mars 2022 : mise à jour des Contats

Validé le : 10 mars 2022

Par : Pr. Sandrine RORIVE

