

5. BIOLOGIE MOLECULAIRE

5.1 Bon de demande d'examen recherche de mutation somatique

Une version électronique de la feuille de prescription est disponible sur demande à l'adresse : <https://pathologie.unilabs.fr>

Recommandations pré-analytiques : informations à nous transmettre impérativement :

 CLERMONT-FERRAND 18 avenue Léonard de Vinci 63063 Clermont-Ferrand Cedex 1 Tel: 04 73 28 51 70 Fax: 04 73 28 51 80	Bon de demande d'examen RECHERCHE DE MUTATION SOMATIQUE ET/OU IMMUNOHISTOCHEMIE COMPLEMENTAIRE <small>FE-PRE-C-005-06</small>	Etiquette laboratoire
DATE DE LA DEMANDE : _____ DATE DE RECEPTION (à remplir par SIPATH-Unilabs) : _____		
<input type="checkbox"/> URGENT <input type="checkbox"/> A faxer <input type="checkbox"/> A téléphoner Merci de préciser N° : _____		
IDENTIFICATION PATIENT		
Sexe : <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M Nom de naissance : _____ Nom d'usage (si différent) : _____ Prénom : _____ Date de naissance : _____ Adresse patient(e) : _____		N° SS : _____ Mail : _____ Téléphone : _____ CP : _____ Ville : _____
IDENTIFICATION PRESCRIPTEUR		
Prénom /Nom /Adresse / Service : _____ _____ _____		Signature et cachet _____ _____
FACTURATION : <input type="checkbox"/> HOPITAL <input type="checkbox"/> CLINIQUE <input type="checkbox"/> PATIENT		
INFORMATION PRELEVEMENT		
Date de prélèvement : _____		
Numéro d'examen : _____	Organe concerné : _____	Type de prélèvement : biopsie <input type="checkbox"/> pièce opératoire <input type="checkbox"/>
Diagnostic : _____		Fixateur : _____
Pathologiste responsable du cas : _____		
RECHERCHE DE MUTATION SOMATIQUE		
Panel Colon <input type="checkbox"/> (Recherche des mutations KRAS, NRAS, BRAF) Panel Poumon <input type="checkbox"/> (Recherche des mutations EGFR, KRAS, NRAS, BRAF) Mélanome <input type="checkbox"/> (Recherche des mutations BRAF) MSI +/- BRAF <input type="checkbox"/> BRCA* <input type="checkbox"/> NGS* <input type="checkbox"/> : _____ Autres* <input type="checkbox"/> : _____ <small>*Examen réalisé en sous-traitance</small>		
IMMUNOHISTOCHEMIE COMPLEMENTAIRE		
<input type="checkbox"/> PDL-1 <input type="checkbox"/> HER 2 <input type="checkbox"/> Alk/Ros 1 <input type="checkbox"/> Autres : _____ <input type="checkbox"/> MSI (Recherche d'Instabilité Micro-Satellitaire : MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)		
ENVOI PREFERENTIEL DU BON DE DEMANDE D'EXAMEN PAR COURRIEL : biomol.sipath@unilabs.com		
MERCI DE JOINDRE A CE BON DE DEMANDE D'EXAMEN : > Compte-rendu anatomo-pathologique > <u>Un bloc tumoral représentatif, fixé au formol et inclus en paraffine + la lame HES correspondante</u>		
<small>Cadre réservé au cabinet Sipath Unilabs</small>		
<small>DISCLAIMER : Unilabs France traite avec attention vos données à caractère personnel. Dans le cadre du RGPD, nous reconnaissons vos droits en tant que personne concernée. Pour plus d'informations, veuillez consulter https://unilabs.fr rubrique « Protection des données ». Notre manuel de prélèvement est consultable à l'adresse https://pathologie.unilabs.fr</small>		

Si non renseigné :
Augmentation du délai de rendu du résultat et perte de temps pour nos secrétariats respectifs

Si non renseigné :
Erreur d'identification

Si non renseigné :
Augmentation du délai de technique

5.2 Conditions pré-analytiques

- ☀ - Remplir le bon de demande : Demande de recherche de mutation somatique
- ☀ Identification Nom Prénom du patient
- ☀ Identification du prescripteur
- ☀ Information sur l'échantillon
- ☀ Numéro du ou des bloc(s) transmis
- ☀ Type de mutation à rechercher

5.3 Recommandations techniques

5.3.1 Fixation du matériel

⚠ LES PRELEVEMENTS DOIVENT ETRE FIXES AU FORMOL

Le temps de fixation optimal est compris entre 24h et 48h.

Le liquide de Bouin, l'acide picrique, l'éosine, ainsi que les décalcifiants sont proscrits. Les fixateurs à base d'alcool, l'AFA (alcool/formol/acide acétique) ou les substituts de formol sont déconseillés.

5.3.2 Sélection du matériel

- Transmettre **un bloc représentatif** de la zone d'intérêt inclus en paraffine.

Un bloc suffisamment riche en matériel tumoral doit être sélectionné par un contrôle morphologique microscopique sur lame après coloration standard (Hématoxyline/Eosine +/- Safran) réalisé par un pathologiste.

- Transmettre la **lame HES** correspondante au bloc et le compte-rendu anatomo-pathologique.

Une sélection de la région du prélèvement la plus riche en cellules tumorales et comportant le moins de nécrose possible doit être réalisée.

Le pourcentage de cellules tumorales correspond à l'estimation de la proportion de cellules tumorales sur l'ensemble des cellules (hors nécrose) présente sur la coupe ou sur la zone de prélèvement qui a été sélectionnée.

Une sélection des régions du prélèvement les plus riches en cellules cancéreuses doit être réalisée, et d'une façon générale il est préférable de réaliser une macro-dissection pour les prélèvements contenant moins de 50% de cellules cancéreuses.

Type de technique	% cellules tumorales minimum requis
PCR Idylla <i>KRAS, NRAS / BRAF</i>	10 %
PCR Idylla <i>BRAF (mélanome)</i>	50 %
PCR Idylla <i>EGFR</i>	10 %, 100 cellules
PCR Idylla MSI	20%

5.4 Catalogue des analyses réalisées

5.4.1 Recherche de mutation du gène *KRAS*

Utilisation du test **Idylla™ *KRAS* Mutation Test** de Biocartis, est un test utilisant une technique de PCR en temps réel, permettant (le déparaffinage, la lyse tissulaire), l'extraction, l'amplification et la détection simultanée de l'ADN cible des cellules présentes dans les tissus, à l'aide d'amorces d'amplification et de sondes de détection couplées à un marqueur fluorescent (détection qualitative des mutations sur les exons 2, 3 et 4 de l'oncogène *KRAS*).

Ce test détecte les mutations sur les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 du gène *KRAS*.

5.4.2 Recherche de mutation génétique des gènes *NRAS/BRAF*

L'Idylla™ *NRAS-BRAF* Mutation Test (CE-IVD), réalisé sur le Système Biocartis Idylla™, est un test de diagnostic *in vitro* par technique de PCR en temps réel, destiné à la détection qualitative des mutations sur les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 de l'oncogène *NRAS* et sur le codon 600 de l'oncogène *BRAF*.

5.4.3 Recherche de mutation génétique du gène *BRAF*

L'Idylla™ *BRAF* Mutation Test, effectué sur le Système Biocartis Idylla™, est un Test diagnostique *in vitro* pour la détection qualitative des mutations V600E/E2/D et V600K/R/M dans le codon 600 du gène *BRAF*. L'Idylla™ *BRAF* Mutation Test utilise l'ADN libéré de coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) issus de cellules tumorales de mélanome humain. Le Test repose sur une amplification PCR en temps réel de l'échantillon au résultat.

5.4.4 Recherche de mutation génétique du gène *EGFR*

Le test de mutation Idylla™ *EGFR*, effectué sur le système Biocartis Idylla™, est un test moléculaire pour la détection qualitative des mutations des exons 18, 20 et 21, des délétions de l'exon 19 et des insertions de l'exon 20 du gène *EGFR*.

L'Idylla™ *BRAF* Mutation Test utilise l'ADN libéré de coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE)

Le Test repose sur une amplification PCR en temps réel de l'échantillon au résultat.

5.4.5 Recherche de mutation génétique MSI

Le test Idylla™ MSI est destiné à la détection qualitative d'un panel de sept biomarqueurs homopolymères monomorphes pour l'identification des cancers colorectaux (CRC) à instabilité microsatellitaire (MSI). Le test Idylla™ MSI utilise des coupes de tissus fixées au formol et enrobées de paraffine (FFPE) à partir de tissu CRC humain, à partir desquelles les acides nucléiques sont libérés, puis analysés par amplification par PCR et détection de fusion à haute résolution. Le test Idylla™ MSI automatise l'ensemble du processus, de la préparation des échantillons FFPE à la notification de l'état MSI.

5.5 Activité de biologie moléculaire en sous-traitance

Le cabinet Sipath-Unilabs peut sous-traiter à la demande, une partie de son activité de biologie moléculaire, en fonction de la demande du prescripteur (exemple : recherche par NGS, BRCA, ...).

5.6 Délai de rendu des résultats (après réception)

Le délai de rendu des résultats est variable allant de 2 à 10 jours, à compter de l'enregistrement du prélèvement au cabinet*.

Il résulte du temps technique nécessaire à la réalisation des examens moléculaires prescrits.

Si ce délai est dépassé et si nous ne vous avons pas prévenu, contactez-nous.

*Délais supérieurs en cas de sous-traitance

5.7 Réalisation de recherche de mutation génétique en SOUS TRAITANCE au cabinet Sipath Unilabs

AIDE AUX PRELEVEMENTS DE BIOLOGIE MOLECULAIRE POUR LES EXAMENS EN SOUS-TRAITANCE au cabinet Sipath-Unilabs

1 - Le prescripteur (ou cabinet demandeur) :

- Identifie, remplit, date et signe le **bon de demande d'examen recherche de mutation génétique ***
- Fait la demande de bloc au pathologiste responsable du prélèvement

2 - Pathologiste responsable :

- Complète le **bon de demande d'examen recherche de mutation génétique***
- Envoie le bloc sélectionné pour analyse
- Envoie de la lame HES avec marquage zone tumorale et % de cellule tumorales
- Envoie du compte-rendu d'anatomo-cytopathologie correspondant.

3 - Réception au cabinet Sipath-Unilabs :

- Etape d'identitovigilance et enregistrement de la demande
- Cerclage de la zone d'intérêt avec évaluation du pourcentage de cellules tumorales sur lame HES
- Recherche de mutation génétique sur le bloc sélectionné
- Une fois l'analyse faite, le bloc de paraffine sera retourné au pathologiste responsable du dossier avec le résultat de l'analyse moléculaire.

En fonction de la quantité de matériel transmis, ce bloc pourrait ne plus être utilisable pour des analyses ultérieures, mais sera dans tous les cas, renvoyé à l'expéditeur.

* Une version électronique de la feuille de prescription est disponible sur demande à l'adresse : <https://pathologie.unilabs.fr>

6. HYGIENE ET SECURITE

Les fiches de données de sécurité sont disponibles dans un document annexe sur le site internet du cabinet : <https://pathologie.unilabs.fr/documents-pratiques-unilabs-sipath>

Informations usage et transport du formol 10% tamponné PBS

Compte tenu du caractère volatil et rémanent du formol, toutes les opérations de manipulation du formol doivent être maîtrisées et rigoureuses.

Quelques conseils de bonne manipulation des flacons contenant du formol :

➤ CAISSE TRANSPORTEURS

Les flacons doivent toujours être rangés, calés, et les demandes d'examens doivent être isolées dans un sac par précaution.

Exemple : Ce rangement inapproprié peut provoquer une fuite du formol dans la caisse de transport



Les flacons doivent être fermés hermétiquement :



Oui



Non !

Mauvaise fermeture des flacons : quelques conséquences possibles :



Fuite de fixateur :

Mauvaise fixation du prélèvement



Etiquettes effacées ou détériorées :

Problème d'identitovigilance

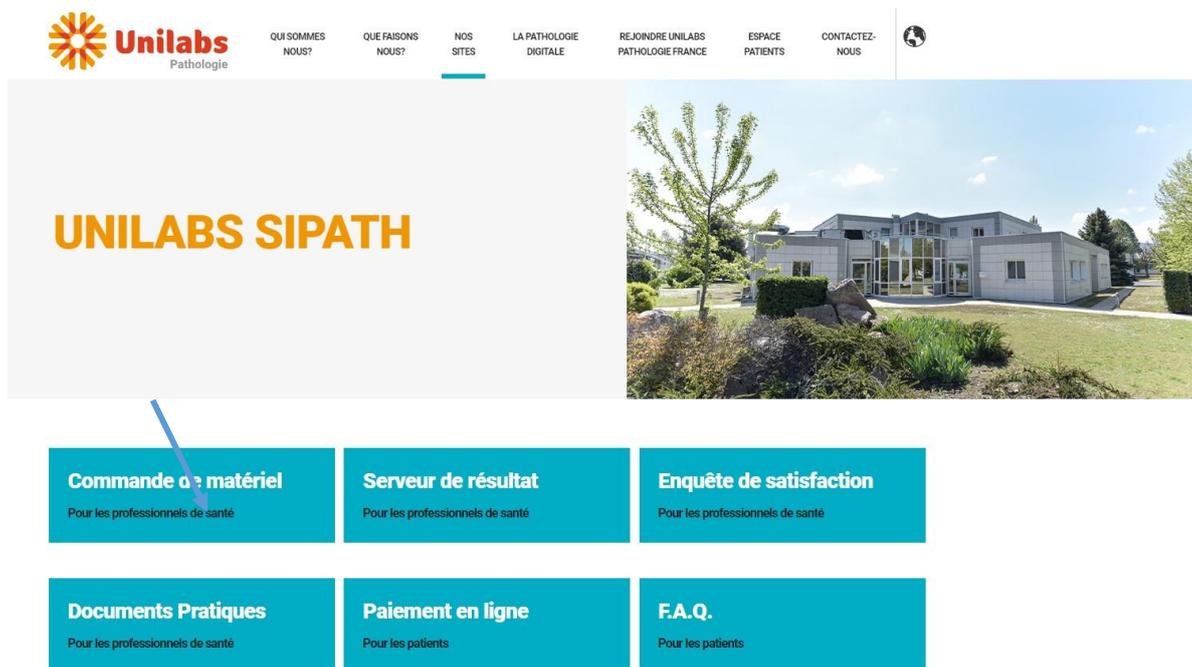


Annexe

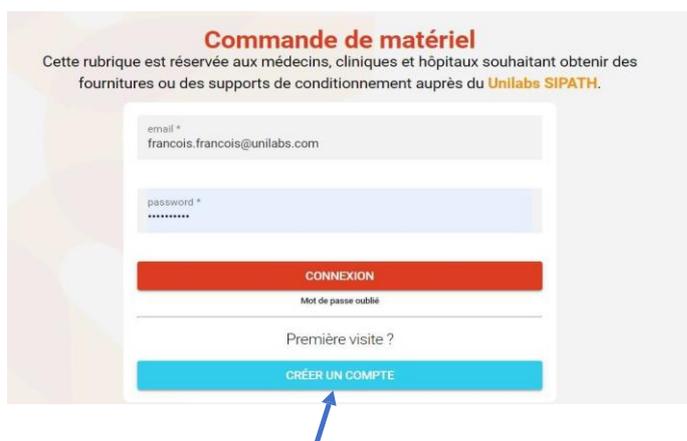
COMMANDE DE MATERIEL

- VIA LE SITE INTERNET : MODULE Commande de matériel (par défaut)

L'adresse internet du cabinet Sipath Unilabs : <https://pathologie.unilabs.fr/nos-sites/unilabs-sipath>



- La commande de matériel est disponible en ligne (envoi colis sous 48h)



- 1ère visite? : cliquer sur « créer un compte », en enregistrant vos coordonnées personnelles, établissement et identifiants de connexion.
- Chaque commande génère un email à l'adresse matériel.sipath@unilabs.com

➤ VIA LE FORMULAIRE FE-PRE-PRV-001 : formulaire papier disponible sur demande

Nom	CDT	Quantité souhaitée
DEMANDE BONS D'EXAMENS		
Bon de demande d'examen anatomo-cyto-pathologique	A l'unité	
Bon de demande d'examen gynécologie	A l'unité	
Bon de demande d'examen biopsies prostatiques	A l'unité	
Bon de demande d'examen placenta	A l'unité	
Bon de demande d'examen biologie moléculaire	A l'unité	
Bon de demande d'examen cytologie urinaire	A l'unité	
HISTOLOGIE		
Cassette blanche pour pièce opératoire	Carton de 500	
Mousse	Sachet de 500	
Tube pour IF	Sachet de 5	
Cône liquide de Michel	Sachet de 5	
Seau vide 3 L	Carton de 6	
Seau vide 5 L	Carton de 6	
Bidon formol 5l 4%	A l'unité	
POTS DE FORMOL 10% tamponné PBS		
Petit pot formol pour biopsie	Carton de 25	
Pot 60 ml (histo)	Carton de 50	
Pot 150 ml (histo)	Carton de 25	
Pot 1 L	Carton de 9	
Seau prérempli 3 L	Carton de 6	
Seau prérempli 5 L	Carton de 6	
CYTOLOGIE GYNECOLOGIQUE		
Pipelle de Cornier	Boîte de 25	
Spéculum	A l'unité	
Flacon ThinPrep HOLOGIC	Boîte de 25	
Cervibrush + LBC (prélèvement endocol)	Boîte de 100	
Cervex Brush (vert non cassable)	Sachet de 25	
CYTOLOGIE non Gynécologique		
Pot 100 ml CytoLyt bouchon bleu pour cytologie urinaire	A l'unité	
Flacon 30 ml CytoLyt bouchon blanc pour cytoponction	Boîte de 20	
SACHET DE TRANSPORT / Document		
Sachet transparent (kangourou)	Paquet de 100	
Sac à bretelle blanc	A l'unité	
Enveloppe T à bulles (Cyto)	A l'unité	
Enveloppe T à bulles (Histo)	A l'unité	
Carnet autocopiant format A4	FE-PRE-PRV-003	A l'unité
Carnet autocopiant format A5	FE-PRE-PRV-006	A l'unité
Formulaire demande conditionnement	FE-PRE-PRV-001	A l'unité