

Laboratoire d'Anatomie Pathologique Hôpital Erasme  ULB	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 1 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

1. Objet

Le manuel de prélèvement des échantillons primaires 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 clients du CAP dans le but de fournir les informations précises concernant les processus pré-analytiques et ainsi d'obtenir les prélèvements dans des conditions optimales.

3. Abréviations – Définitions

LAP : Laboratoire d'Anatomie Pathologique.

Prélèvement : matériel humain destiné à l'examen anatomo-pathologique (macroscopie, cytologie, histologie, immunohistochimie, immunofluorescence, biologie moléculaire).

Les autres abréviations sont définies dans le texte.

4. Contenu

4.1. Informations administratives

**! Création du Centre d'Anatomie Pathologique de l'Université Libre de Bruxelles !
Depuis le 24 avril 2023, le laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Erasme a fusionné avec le laboratoire d'anatomie pathologique de l'Institut Jules Bordet.**

Nom	Centre d'Anatomie Pathologique de l'Université Libre de Bruxelles
Adresse	Rue Meylemeersch, 90 1070 Anderlecht
Localisation	5 ^{ème} étage Le Centre d'Anatomie pathologique de l'Université Libre de Bruxelles (CAP-HUB) a trois entrées localisées : <ul style="list-style-type: none"> - Route 2530 : Réception prélèvements - Route 1510 - Route 1560 : Entrée visiteurs



Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 2 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

Heures d'ouverture de 8h00 à 17h00 du lundi au vendredi.
Service de garde 24h/24h : technicien et pathologiste joignables via la centrale téléphonique (+32 2 555 31 11).

Numéros de téléphone utiles

Secrétariat de direction : +32 2 555 31 15
Secrétariat médical : +32 2 555 33 35
5 43 02
5 84 86
5 30 95

E-mail : SecMed.anapath@erasme.ulb.ac.be

Réception et encodage des prélèvements : +32 2 555 68 47
Histologie : +32 2 555 35 65
Cytologie : +32 2 555 85 12
Immunohistochimie : +32 2 555 44 24
Biologie Moléculaire : +32 2 555 85 08

4.1.1. Equipe médicale du LAP

<i>Nom Prénom</i>	<i>Fonction</i>	<i>Bips</i>	<i>E-mail</i>
Myriam R Emmelink	Directeur de laboratoire	+32 2 555 58 58	Myriam.R Emmelink@erasme.ulb.ac.be
Isabelle Salmon	Chef de Service	+32 2 555 31 15	Isabelle.Salmon@erasme.ulb.ac.be
Jean-Christophe Noël	Chef de Clinique	+32 2 555 54 04	Jean-Christophe.Noel@erasme.ulb.ac.be
Nicky D'Haene	Professeur	+32 2 555 53 91	Nicky.D.haene@erasme.ulb.ac.be
Calliope Maris	Praticien Hospitalier Universitaire Senior	+32 2 555 85 77	Calliope.Maris@erasme.ulb.ac.be
Anne-Laure Trepant	Praticien Hospitalier Universitaire Senior	+32 2 555 58 60	Anne-Laure.Trepant@erasme.ulb.ac.be
Laetitia Lebrun	Professeur associé	+32 2 555 59 47	Laetitia.Lebrun@erasme.ulb.ac.be
Marie-Lucie Racu	Candidat Résident	+32 2 555 50 74	Marie-Lucie.Racu@erasme.ulb.ac.be
Laureen Rocq	Candidat Résident	+32 2 555 27 05	Laureen.rocq@erasme.ulb.ac.be
Chirine Khaled	Candidat Résident	+32 2 555 52 13	Chirine.Khaled@erasme.ulb.ac.be
Stephan Rusu	Candidat Résident	+32 2 555 84 97	Stephan.Rusu@erasme.ulb.ac.be
Marie Van Eycken	Candidat Résident	+32 2 555 50 75	Marie.VanEycken@erasme.ulb.ac.be
Jennifer Fallas	Candidat Résident	+32 2 555 84 97	Jennifer.Fallas@erasme.ulb.ac.be
Dana Bernardi	Candidat Résident	+32 2 555 56 43	Dana.Bernardi@erasme.ulb.ac.be
Sacha Allard-Demoustiez	Candidat Résident	+32 2 555 21 98	Sacha.Allard-Deoustiez@erasme.ulb.ac.be
Edmond Bodo	Candidat Résident	+32 2 555 58 56	Edmond.Bodo@erasme.ulb.ac.be
Valérie Segers	Consultant	+32 2 555 31 15	Valerie.Segers@chu-brugmann.be
Marie-Paule Van Craynest	Consultant	+32 2 555 31 15	Marie-Paule.Van.Craynest@erasme.ulb.ac.be
Xavier Catteau	Consultant	+32 2 555 31 15	Xavier.Catteau@erasme.ulb.ac.be
Sarah Bourl	Consultant	+32 2 555 31 15	Sarah.Bourl@erasme.ulb.ac.be

4.1.2. Rôle du LAP

Le LAP assure le traitement des prélèvements :

1. cytologiques :
 - gynécologiques
 - pneumologiques
 - urinaires
 - oeso-gastriques
 - ponctions d'organes
 - liquides céphalo-rachidiens
 - ascite

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 3 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

2. histologiques :
 - biopsies
 - pièces opératoires – extemporanées
3. autopsiques
4. Sang (biopsies liquides)

4.2. La demande d'examen

La demande (**FO-QUAL-02**) 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 : les antécédents médicaux et chirurgicaux, les traitements éventuels pouvant interférer sur les résultats, les diagnostics différentiels cliniques.

Pour être accepté à l'encodage, 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. Identification du prélèvement :
 - Nom – prénom ;
 - Numéro d'identifiant ;
 - Date et heure de prélèvement ;
 - Site de prélèvement.
3. Identification du médecin prescripteur :
 - Origine du prélèvement (Hôpital, Polyclinique,) ;
 - 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-QUAL-19**).**

L'encodeur du LAP 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-QUAL-04**).

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 4 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4.3. Demande Immunohistochimie (IHC)

En interne, la demande d'examen immunohistochimiques est informatisée.

- Si la demande provient d'un prescripteur externe, il utilise le formulaire de demande générale (**FO-QUAL-02**).

- Pour les examens immunohistochimiques dont la liste est détaillée ci-dessous, la demande d'analyse de pathologie moléculaire (**FO-BM-01**) doit être complétée.

- HER2,
- c-Kit/CD117,
- Anaplastic lymphoma kinase (ALK),
- c-ROS proto-oncogene 1 (ROS1),
- Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1),
- Pan-TRK,
- mutL homolog 1 (MLH1), PMS1 homolog 2 (PMS2), mutS homolog 2 (MSH2), mutS homolog 6 (MSH6)

- L'identification et le nombre de blocs doivent être mentionnés sur la demande. Cette dernière peut être envoyée par courrier interne, postal ou par email à l'adresse SecMed.anapath@erasme.ulb.ac.be.

Aspects pratiques :

- 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 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 :

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

M^{elle} A. Verrellen (02 555 33 35) Audrey.Verrellen@erasme.ulb.ac.be

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 5 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4.3.1. Analyse immunohistochimique ALK

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.

4.3.2. 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.

4.3.3. Analyse immunohistochimique c-Kit/CD117

Domaine d'application :

Les tumeurs stromales gastrointestinales (GIST) sont rares mais constituent les tumeurs mésoenchymateuses 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.

4.3.4. Analyse immunohistochimique ROS1

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.

4.3.5. Analyse immunohistochimique PD-L1

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

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 6 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

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.

Le kit PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako, Agilent) est un test immunohistochimique qualitatif utilisant l'anticorps monoclonal de souris anti-PD-L1, Clone 22C3, conçu pour la détection de la protéine PD-L1 dans des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Cette immunohistochimie est indiquée dans le cadre de cancers du poumon non à petites cellules, de carcinomes urothéliaux, de carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou (HNSCC) et de cancers gastriques, de l'oesophage ou de la jonction gastro-oesophagienne.

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 (Pembrolizumab, Nivolumab...).

4.3.6. Analyse immunohistochimique Pan-TRK

Domaine d'application :

Les récepteurs kinases de la tropomyosine (TRK) sont une famille de 3 proto-oncogènes comprenant NTRK1, NTRK2 et NTRK3 qui codent respectivement pour les protéines Trk A, Trk B et Trk C. Elles sont impliqués dans des processus biologiques tels que la survie, la différenciation et la plasticité neuronale.

Les fusions impliquant le domaine kinase des protéines TrkA, TrkB ou TrkC sont oncogéniques. Elles sont rares mais présentes dans une grande variété de types de tumeurs chez l'adulte et l'enfant. Le Larotrectinib et l'Entrectinib (inhibiteurs des TRK) sont utilisés pour le traitement de patients adultes et/ou pédiatriques atteints de tumeurs solides localement avancées ou métastatiques avec une fusion TRK.

L'immunohistochimie anti-PanTrk est considérée comme faisant partie des outils diagnostiques potentiels permettant d'évaluer la présence d'une fusion TRK. Un résultat positif étant vérifié par analyse NGS Panel fusion.

4.4. Demande de Biologie moléculaire

Aspects pratiques :

- Une demande d'analyse de biologie moléculaire (**FO-BM-01** ou **FO-BM-96**) 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 faites par un autre biais que **FO-BM-01** ou **FO-BM-96**, l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme (**AN-QUAL-19**).

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.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 7 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

- 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-QUAL-19**).
- **Pour les analyse 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 sur demande par téléphone (02/555 8508) ou par email Biomol.Anapath@erasme.ulb.ac.be

Récapitulatif des critères de non-conformité (cf. **AN-QUAL-19**)

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.

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

4.4.1.1. 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).

- 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

4.4.1.2. 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 NSCLCs. La présence d'un tel

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 8 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

réarrangement dans le NSCLC est associée à une réponse thérapeutique au Crizotinib, un inhibiteur de ALK.

- 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

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

4.4.1.3. FISH ROS1

Domaine d'application :

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

- 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

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

4.4.1.4. FISH MET

Domaine d'application :

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

- 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

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

4.4.1.5. FISH p16 (CDKN2A)

Domaine d'application :

Tumeurs cérébrales, mésothéliomes, mélanomes.

- Le délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

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

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

Dr. Anne-Laure Trepant (02 555 49 75) Anne-Laure.Trepant@erasme.ulb.ac.be

4.4.1.6. FISH TFE3

Domaine d'application :

Le gène TFE3 se situe sur le chromosome X, en position Xp11.23. Des translocations impliquant la région chromosomique Xp11.2 sont fréquemment détectées dans les carcinomes à cellules rénales (RCC) qui affectent généralement les enfants et les adolescents. Les RCC à

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 9 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

translocation Xp11.2 représentent un sous-type prédominant et agressif dans le groupe d'âge pédiatrique (20-40%), mais peuvent également survenir chez les adultes (1-4%). Les RCC à translocation Xp11.2 font partie de la nouvelle entité des carcinomes du rein à translocation de la famille MiT ajoutée à la classification 2016 de l'OMS des tumeurs rénales.

Macroscopiquement, les RCC à translocation Xp11.2 peuvent imiter les RCC conventionnels à cellules claires ainsi que les RCC papillaires et, par conséquent, le diagnostic différentiel des RCC à translocation Xp11.2 est cliniquement important.

- Les délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

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

Dr. S. Rorive (02 555 33 35) Sandrine.Rorive@erasme.ulb.ac.be

4.4.1.7. 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 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

4.4.1.8. 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.

- Le délai de réponse est de maximum 21 jours.

Médecins responsables :

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

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

Dr. Anne-Laure Trepant (02 555 49 75) Anne-Laure.Trepant@erasme.ulb.ac.be

4.4.1.9. CISH EBV

Domaine d'application :

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

1/ En pathologie hématologique : pour le diagnostic des lymphomes associés à l'EBV tels que les lymphomes B diffus à grandes cellules de la personne âgée, les lymphomes de Burkitt, les lymphomes T (extranodal NK, nasal type), les lymphomes de Hodgkin, les lymphomes post-transplantation, les lymphomes associés à une infection au HIV ...

La détection de l'EBV est aussi nécessaire pour proposer ce diagnostic dans les adénopathies réactionnelles liée à la mononucléose infectieuse.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 10 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

2/ En pathologie ORL : pour le diagnostic des carcinomes naso-pharyngés (positifs pour EBV), des carcinomes indifférenciés sino-nasal (négatifs pour EBV), des carcinomes épidermoïdes non kératinisant de l'oro-pharynx (négatifs pour EBV), des carcinomes lympho-épithéliaux du naso-pharynx (positifs pour EBV)...

3/ En pathologie gastrique : pour le diagnostic des cancers gastriques associés à l'EBV, un sous-type distinct de carcinome gastrique en ce qui concerne ses caractéristiques clinico-pathologiques et moléculaires.

- 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

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

Dr. Anne-Laure Trepant (02 555 49 75) Anne-Laure.Trepant@erasme.ulb.ac.be

4.4.2. Analyses basées sur la PCR

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

4.4.2.1. 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 papillaire 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.

4.4.2.2. 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.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 11 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4.4.2.3. 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* corrélaient 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.

4.4.2.4. 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 activatrice 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.

4.4.2.5. 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.

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 12 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4.4.2.6. 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.

- Le délai de réponse est de maximum 21 jours.

4.4.2.7. 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.

- Le délai de réponse est de maximum 18 jours.

4.4.3. Analyse 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.

Personne 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

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 13 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

Plusieurs panels sont disponibles :

4.4.3.1. Panel ADN 22 gènes

Panel designé pour les **cancers colorectaux**.

Liste des 22 gènes analysés:

Gene	RefSeq	Exons testés	Gene	RefSeq	Exons testés
AKT1	NM_05163	3	FGFR3	NM_000142	7, 9, 14, 16, 18
ALK	NM_004304	22, 23, 25	KRAS	NM_033360	2-4
BRAF	NM_004333	11, 15	MAP2K1	NM_002755	2
CTNNB1	NM_001904	3	MET	NM_001127500	2, 14, 16, 19
DDR2	NM_001014796	6, 9, 13-16, 18	NOTCH1	NM_017617	26, 27
EGFR	NM_005228	12, 18-21	NRAS	NM_002524	2, 3, 4
ERBB2	NM_004448	19-21	PIK3CA	NM_006218	9, 13, 20
ERBB4	NM_005235	3, 4, 6-9, 15, 23	PTEN	NM_000314	1, 3, 6-8
FBXW7	NM_033632	5, 8-11	SMAD4	NM_005359	3, 5, 6, 8, 9, 10, 12
FGFR1	NM_023110	4, 7	STK11	NM_000455	1, 4-6, 8
FGFR2	NM_000141	7, 9, 12	TP53	NM_000546	2, 4-8, 10

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

4.4.3.2. Panel ADN 50 gènes

Liste des 50 gènes analysés :

Gene	RefSeq	Exons testés	Gene	RefSeq	Exons testés
ABL1	NM_005157	4-6, 7	IDH2	NM_002168	4
AKT1	NM_05163	3, 7	JAK2	NM_004972	14
ALK	NM_004304	23, 25	JAK3	NM_000215	4, 13, 16
APC	NM_000038	16	KDR	NM_002253	6, 7, 11, 19, 21, 26, 27, 30
ATM	NM_000051	8, 9, 12, 17, 26, 34, 35, 36, 39, 50, 54-56, 59, 61, 63	KIT	NM_000222	2, 9-11, 13-15, 17, 18
BRAF	NM_004333	11, 15	KRAS	NM_033360	2-4
CDH1	NM_004360	3, 8, 9	MET	NM_001127500	2, 11, 14, 16, 19
CDKN2A	NM_000077	2	MLH1	NM_000249	12
CSF1R	NM_005211	7, 22	MPL	NM_005373	10
CTNNB1	NM_001904	3	NMP1	NM_002520	11
EGFR	NM_005228	3, 7, 15, 18-21	NOTCH1	NM_017617	26, 27, 34
ERBB2	NM_004448	19-21	NRAS	NM_002524	2-4
ERBB4	NM_005235	3, 4, 6-9, 15, 23	PDGFRA	NM_006206	12, 14, 15, 18
EZH2	NM_004456	16	PIK3CA	NM_006218	1, 4, 6, 7, 9, 13, 18, 20
FBXW7	NM_033632	5, 8-11	PTEN	NM_000314	1, 3, 5-8
FGFR1	NM_023110	4, 7	PTPN11	NM_002834	3, 13
FGFR2	NM_000141	7, 9, 12	RB1	NM_000321	4, 6, 10, 11, 14, 17, 18, 20-22
FGFR3	NM_000142	7, 9, 14, 16, 18	RET	NM_020975	10, 11, 13, 15, 16
FLT3	NM_004119	11, 14, 16, 20	SMAD4	NM_005359	3-6, 8-12
GNA11	NM_002067	5	SMARCB1	NM_003073	2, 4, 5, 9
GNAQ	NM_002072	5	SMO	NM_005631	3, 5, 6, 9, 11
GNAS	NM_000516	8, 9	SRC	NM_005417	14
HNF1A	NM_000545	3, 4	STK11	NM_000455	1, 4-6, 8
HRAS	NM_005343	2, 3	TP53	NM_000546	2, 4-8, 10
IDH1	NM_005896	4	VHL	NM_000551	1-3

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 14 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4.4.3.3. Panel ADN 17 gènes

Panel designé pour **les tumeurs gynécologiques**.

Liste des 17 gènes analysés:

Gene	RefSeq	Exons testés	Gene	RefSeq	Exons testés
AKT1	NM_05163	3, 7	FOXL2	NM_023067	1
BRAF	NM_004333	11, 15	KRAS	NM_033360	2, 3, 4
CTNNB1	NM_001904	3	PIK3CA	NM_006218	1, 4, 6, 7, 9, 13, 18, 20
CDKN2A	NM_000077	2	PIK3R1	NM_181523	7-13
DICER	NM_030621	25, 26	POLE	NM_006231	9-14
ERBB2	NM_004448	19-21	PTEN	NM_000314	1, 3, 5-8
ESR1	NM_00125	5-8	RB1	NM_000321	4, 6, 10, 11, 14, 17, 18, 20-22
FBXW7	NM_033632	5, 8-11	TP53	NM_000546	2-11
FGFR2	NM_000141	7, 9, 12			

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

4.4.3.4. Panel ADN 14 gènes

Panel designé pour **les tumeurs cérébrales**.

Liste des 14 gènes analysés:

Gene	RefSeq	Exons testés	Gene	RefSeq	Exons testés
ACVR1	NM_001105	6, 7, 8, 9	HIST1H3C	NM_003531	1
ATRX	NM_000489	1-35	IDH1	NM_005896	4
BRAF	NM_004333	7, 10, 11, 15	IDH2	NM_001289910	4
CDKN2A	NM_000077	1-3	PDGFRA	NM_006206	5-12, 14-15, 18, 21-13
EGFR	NM_005228	1-28	PTEN	NM_000314	1-9
H3F3A	NM_002107	2	TERT	NM_001193376	Promoteur
HIST1H3B	NM_003537	1	TP53	NM_000546	2-11

Le panel permet également la détection de la codélation 1p19q.

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

4.4.3.5. Panel ADN 27 gènes

Panel designé pour les lésions thyroïdiennes.

Liste des 27 gènes analysés :

Gene	RefSeq	Exons testés	Gene	RefSeq	Exons testés
AKT1	NM_05163	3	KRAS	NM_033360	2-4
APC	NM_000038	9, 13, 15, 16	NRAS	NM_002524	2-4
AXIN1	NM_003502	2, 3, 6-10	PIK3CA	NM_006218	4, 9, 13, 20
BRAF	NM_004333	11, 15	PPM1D	NM_003620	5, 6
CDH1	NM_004360	8, 9, 12	PRKAR1A	NM_002734	5
CDKN2A	NM_000077	2	PTEN	NM_000314	5-8
CHEK2	NM_005211	3, 4, 11, 13, 15	RASAL1	NM_004658	11-17
CTNNB1	NM_001904	3	RET	NM_020975	10-13, 15, 16
EGFR	NM_005228	18-21	SMAD4	NM_005359	3, 6-9, 12
EIF1AX	NM_001412	1, 2	TERT	NM_198253	Promoteur
FLT3	NM_004119	16	TP53	NM_000546	2, 4-10
GNAS	NM_000516	8, 9	TSHR	NM_003369	9, 10
HRAS	NM_005343	2-4			
IDH1	NM_005896	4, 6			

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

4.4.3.6. NGS Fusion Panel Thyroïde

Panel designé pour les lésions thyroïdiennes.

Permet la détection de 66 transcrits de fusion impliquant 7 gènes.

RET			NTRK1 et NTRK3		
Nom	Transcrit de fusion (exons)	COSMIC	Nom	Transcrit de fusion (exons)	COSMIC
RET/PTC1	CCDC6(8) - RET(11)	COSF1518	TRK-T1	TPR(21) - NTRK1(10)	COSF872
	CCDC6(2) - RET(12)	COSF1515	TRK-T2	TFG(5) - NTRK1(10)	COSF1337
	CCDC6(1) - RET(12)	COSF1271	TRK-T3	TFG(5) - NTRK1(9)	
PRKAR1A(7) - RET(12)	COSF1511	TFG(6) - NTRK1(10)		COSF403	
RET/PTC2	PRKAR1A(8) - RET(12)		TRK/TPM3	TPM3(7) - NTRK1(10)	COSF1326
	NCOA4(6) - RET(12)	COSF1340	ETV6/NTRK3	ETV6(4) - NTRK3(15)	COSF571.1
RET/PTC3	NCOA4(7) - RET(12)	COSF1491, COSF1493, COSF1341		ETV6(5) - NTRK3(15)	COSF828.1
	NCOA4(8) - RET(12)	COSF1498			
	NCOA4(8) - RET(11)	COSF1500			
	PCMI(29) - RET(12)				
RET/PTC4	GOLGA5(7) - RET(12)				
RET/PTC5	TRIM24(9) - RET(12)	COSF1522			
RET/PTC6	TRIM24(10) - RET(12)				
	TRIM33(16) - RET(12)				
RET/PTC7	TRIM33(14) - RET(12)				
RET/PTC8	KTN1(29) - RET(12)	COSF1513			
RFP/RET	TRIM27(6) - RET(10)				
	TRIM27(3) - RET(12)	COSF1519			
ELKS/RET	ERC1(5) - RET(12)				
	ERC1(6) - RET(12)				
	ERC1(7) - RET(12)				
	ERC1(11) - RET(12)				
	ERC1(12) - RET(12)				
PCMI/RET	PCMI(31) - RET(12)				
HOOK3/RET	HOOK3(11) - RET(12)	COSF1509			
KIF5B/RET	KIF5B(23) - RET(12)	COSF1241, COSF1234, COSF1235			
	KIF5B(22) - RET(12)	COSF1253, COSF1254			
KIF5B/RET	KIF5B(16) - RET(12)	COSF1230, COSF1231, COSF1240, COSF1240.1			
KIF5B/RET	KIF5B(15) - RET(12)	COSF1232, COSF1233, COSF1237, COSF1238, COSF1239			
PPARG			BRAF		
PAX8/PPARG	PAX8(10) - PPARG(1)		AKAP9/BRAF	AKAP9(8) - BRAF(9)	
	PAX8(10) - PPARG(2)	COSF1219	FCHSD1/BRAF	FCHSD1(13) - BRAF(9)	COSF1013.1
	PAX8(9) - PPARG(2)	COSF1217	KIAA1549/BRAF	KIAA1549(18) - BRAF(9)	COSF511
	PAX8(8) - PPARG(2)	COSF1215		KIAA1549(17) - BRAF(10)	COSF509
	PAX8(7) - PPARG(2)	COSF1223		KIAA1549(16) - BRAF(10)	COSF509, COSF1284
CREB3L2/PPARG	CREB3L2(2) - PPARG(3)	COSF823.1		KIAA1549(15) - BRAF(10)	COSF1283
				KIAA1549(15) - BRAF(11)	COSF485
				KIAA1549(15) - BRAF(9)	COSF481
			KIAA1549(14) - BRAF(11)	COSF1226	
			KIAA1549(14) - BRAF(9)	COSF483	
			KIAA1549(12) - BRAF(9)	COSF1474	
			AGTRAP/BRAF	AGTRAP(5) - BRAF(8)	COSF828
				AGTRAP(5) - BRAF(9)	COSF829, COSF1329
			SLC45A3/BRAF	SLC45A3(1) - BRAF(8)	COSF871
				SLC45A3(1) - BRAF(9)	COSF493
			SND1/BRAF	SND1(16) - BRAF(9)	
			AGK/BRAF	AGK(2) - BRAF(8)	
ALK			THADA		
EML4/ALK			Nom	Transcrit de fusion (exons)	COSMIC
				THADA(30) - KGF2BP3(4)	
				THADA(28) - KGF2BP3(4)	
			THADA(4) - MAP4K3(24)	COSF1328	

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam R Emmelink	Page 16 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

4.4.3.7. Panel ADN 25 gènes

Panel désigné pour **cancers pulmonaires, les mélanomes et les GIST.**

Liste des 25 gènes analysés:

Gene	RefSeq	Exons testés	Gene	RefSeq	Exons testés
AKT1	NM_05163	3	KIT	NM_000222	8, 9, 11, 13, 14, 17, 18
ALK	NM_004304	22, 23, 24, 25	KRAS	NM_033360	2-4
BRAF	NM_004333	11, 15	MAP2K1	NM_002755	2
CTNNB1	NM_001904	3	MET	NM_001127500	2, 14-20
DDR2	NM_001014796	6, 9, 13-16, 18	NOTCH1	NM_017617	26, 27
EGFR	NM_005228	12, 18-21	NRAS	NM_002524	2, 3, 4
ERBB2	NM_004448	19-21	PDGFRA	NM_006206	12, 14, 18
ERBB4	NM_005235	3, 4, 6-10, 12, 15, 23	PIK3CA	NM_006218	9, 13, 20
FBXW7	NM_033632	5, 8-11	PTEN	NM_000314	1, 3, 6-8
FGFR1	NM_023110	4, 7	SMAD4	NM_005359	3, 5, 6, 8-10, 12
FGFR2	NM_022970	7, 9, 12, 14	STK11	NM_000455	1, 4-6, 8
FGFR3	NM_000142	7, 9, 14, 16, 18	TP53	NM_000546	2, 4-8, 10
HRAS	NM_005343	2, 3, 4			

Détection possible du MET exon 14 skipping

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Manuel des échantillons primaires

4.4.3.8. NGS Fusion Panel

Panel désigné pour les cancers pulmonaires

Permet la détection de 271 transcrites de fusion impliquant 23 gènes dont NTRK1, NTRK2, NTRK3.

Permet la détection du MET exon 14 skipping et de l'EGFR vIII.

RET			ALK		
Nom	Transcrit de fusion (exons)	COSMIC	Nom	Transcrit de fusion (exons)	COSMIC
RET/PTC1	CCDC6(9) - RET(12)		EML4/ALK	EML4(2) - ALK(20)	COSF476, COSF479
	CCDC6(9) - RET(11)	COSF1516		EML4(3) - ALK(20)	
	CCDC6(9) - RET(10)			EML4(6) - ALK(17)	
	CCDC6(11) - RET(11)			EML4(5) - ALK(16)	
	CCDC6(11) - RET(12)	COSF1271		EML4(5) - ALK(15)	COSF1286
RET/PTC2	CCDC6(1) - RET(13)			EML4(5) - ALK(20)	COSF411, COSF474, COSF476, COSF1062.2, AB374362, AB374361
	PRKARIA(7) - RET(12)	COSF1511		EML4(7) - ALK(20)	
RET/PTC3	PRKARIA(8) - RET(12)			EML4(10) - ALK(20)	COSF408, COSF409.1, COSF410, COSF414, COSF462, COSF1062.2
	NCOA4(7) - RET(12)	COSF1491, COSF1433, COSF1041		EML4(14) - ALK(20)	COSF1064, COSF477
RET/PTC4	NCOA4(6) - RET(12)			EML4(15) - ALK(20)	COSF479
RET/PTC5	PCDH1(29) - RET(12)		EML4(17) - ALK(20)	COSF1266, COSF1057	
RET/PTC6	GOLGA5(7) - RET(12)		EML4(19) - ALK(20)	COSF487	
RET/PTC7	TRIM4(3) - RET(12)	COSF1522	EML4(20) - ALK(20)	COSF403, COSF464, COSF7301	
RET/PTC8	TRIM3(16) - RET(12)		EML4(21) - ALK(20)		
RFP/RET	TRIM3(13) - RET(12)	COSF1515	KIF5B(7) - ALK(20)	COSF1068, COSF1091	
CUX1/RET	TRIM3(10) - RET(12)	COSF1519	KIF5B(17) - ALK(20)	COSF1257	
ELK3/RET	CUX1(10) - RET(12)		KIF5B(24) - ALK(20)	COSF1058	
	ERC(7) - RET(12)		TMP3/ALK	TPM3(7) - ALK(20)	
ERCL/ELK3/RET	ERC(12) - RET(12)		ASB/ALK	ASB(22) - ALK(15)	
	ERCL(17) - RET(12)		ACTG2/ALK	ACTG2(2) - ALK(18)	
FKBP15/RET	ERCL_ELK3(11) - RET(12)	COSF1506	ALK/PTPN3	ALK(1) - PTPN3(3)	
HOOK3/RET	FKBP15(5) - RET(12)		ATIC/ALK	ATIC(7) - ALK(20)	
RUF12/RET	HOOK3(11) - RET(12)		C2orf44/ALK	C2orf44(4) - ALK(20)	
AFAP1/RET	RUF12(19) - RET(12)		CAR3/ALK	CAR3(17) - ALK(20)	
AKAP15/RET	AFAP1(3) - RET(12)		CLIP4/ALK	CLIP4(10) - ALK(20)	
ACBOS/RET	AKAP15(5) - RET(12)		CLTC/ALK	CLTC(3) - ALK(20)	
KIAA1468/RET	AKAP15(16) - RET(12)		DCTN1/ALK	DCTN1(26) - ALK(20)	
SPECC1L/RET	ACBOS(11) - RET(12)		GTF2IRD1/ALK	GTF2IRD1(7) - ALK(20)	
TBL1XR1/RET	KIAA1468(10) - RET(12)		HPF1/ALK	HPF1(1) - ALK(20)	
TRIM21/RET	SPECC1L(10) - RET(11)		HPF1(5) - ALK(20)		
KIF5B/RET	SPECC1L(9) - RET(12)		KLC3/ALK	KLC3(3) - ALK(20)	COSF1276
	TBL1XR1(3) - RET(12)		MEMO1/ALK	MEMO1(2) - ALK(7)	
	TBL1XR1(9) - RET(11)		NCOA1/ALK	NCOA1(21) - ALK(1)	
	KIF5B(24) - RET(11)	COSF1236	PRK4/ALK	PRK4(12) - ALK(20)	
	KIF5B(24) - RET(11)	COSF1262	RANBP2/ALK	RANBP2(15) - ALK(20)	
	KIF5B(23) - RET(12)	COSF1241, COSF1234, COSF1235	SEC3L1/ALK	SEC3L1_SEC3(14) - ALK(20)	
	KIF5B(22) - RET(12)	COSF1255, COSF1254	SEC3L1_SEC3(14) - ALK(20)		
	KIF5B(16) - RET(12)	COSF1230, COSF1231, COSF1240, COSF1240.1	SMK2/ALK	SMK2(2) - ALK(2)	
	KIF5B(15) - RET(12)	COSF1232, COSF1233, COSF1237, COSF1238, COSF1239	STRN/ALK	STRN(3) - ALK(20)	COSF1430
	KIF5B(15) - RET(11)	COSF1255	TRAF1/ALK	TRAF1(8) - ALK(20)	
PAX3/PPARG	PAX3(10) - PPARG(2)	COSF1219	TFG/ALK	TFG(4) - ALK(20)	COSF424
	PAX3(9) - PPARG(2)	COSF1217	TFG(5) - ALK(20)		COSF426
	PAX3(8) - PPARG(2)	COSF1215	TFG(6) - ALK(20)		COSF428
	PAX3(7) - PPARG(2)	COSF1223	TPR1/ALK	TPR1(5) - ALK(20)	
MAG3/ART3			NTRK1 et NTRK3	TRK(1) - NTRK(10)	COSF672
				TRK(2) - NTRK(10)	
		TRK(3) - NTRK(10)			
		TRK(4) - NTRK(10)			
		TRK(5) - NTRK(10)			
		TRK(6) - NTRK(10)			
		TRK(7) - NTRK(10)			
		TRK(8) - NTRK(10)			
		TRK(9) - NTRK(10)			
		TRK(10) - NTRK(10)			
		TRK(11) - NTRK(10)			
		TRK(12) - NTRK(10)			
		TRK(13) - NTRK(10)			
		TRK(14) - NTRK(10)			
		TRK(15) - NTRK(10)			
		TRK(16) - NTRK(10)			
		TRK(17) - NTRK(10)			
		TRK(18) - NTRK(10)			
		TRK(19) - NTRK(10)			
		TRK(20) - NTRK(10)			
		TRK(21) - NTRK(10)			
		TRK(22) - NTRK(10)			
		TRK(23) - NTRK(10)			
		TRK(24) - NTRK(10)			
		TRK(25) - NTRK(10)			
		TRK(26) - NTRK(10)			
		TRK(27) - NTRK(10)			
		TRK(28) - NTRK(10)			
		TRK(29) - NTRK(10)			
		TRK(30) - NTRK(10)			
		TRK(31) - NTRK(10)			
		TRK(32) - NTRK(10)			
		TRK(33) - NTRK(10)			
		TRK(34) - NTRK(10)			
		TRK(35) - NTRK(10)			
		TRK(36) - NTRK(10)			
		TRK(37) - NTRK(10)			
		TRK(38) - NTRK(10)			
		TRK(39) - NTRK(10)			
		TRK(40) - NTRK(10)			
		TRK(41) - NTRK(10)			
		TRK(42) - NTRK(10)			
		TRK(43) - NTRK(10)			
		TRK(44) - NTRK(10)			
		TRK(45) - NTRK(10)			
		TRK(46) - NTRK(10)			
		TRK(47) - NTRK(10)			
		TRK(48) - NTRK(10)			
		TRK(49) - NTRK(10)			
		TRK(50) - NTRK(10)			
		TRK(51) - NTRK(10)			
		TRK(52) - NTRK(10)			
		TRK(53) - NTRK(10)			
		TRK(54) - NTRK(10)			
		TRK(55) - NTRK(10)			
		TRK(56) - NTRK(10)			
		TRK(57) - NTRK(10)			
		TRK(58) - NTRK(10)			
		TRK(59) - NTRK(10)			
		TRK(60) - NTRK(10)			
		TRK(61) - NTRK(10)			
		TRK(62) - NTRK(10)			
		TRK(63) - NTRK(10)			
		TRK(64) - NTRK(10)			
		TRK(65) - NTRK(10)			
		TRK(66) - NTRK(10)			
		TRK(67) - NTRK(10)			
		TRK(68) - NTRK(10)			
		TRK(69) - NTRK(10)			
		TRK(70) - NTRK(10)			
		TRK(71) - NTRK(10)			
		TRK(72) - NTRK(10)			
		TRK(73) - NTRK(10)			
		TRK(74) - NTRK(10)			
		TRK(75) - NTRK(10)			
		TRK(76) - NTRK(10)			
		TRK(77) - NTRK(10)			
		TRK(78) - NTRK(10)			
		TRK(79) - NTRK(10)			
		TRK(80) - NTRK(10)			
		TRK(81) - NTRK(10)			
		TRK(82) - NTRK(10)			
		TRK(83) - NTRK(10)			
		TRK(84) - NTRK(10)			
		TRK(85) - NTRK(10)			
		TRK(86) - NTRK(10)			
		TRK(87) - NTRK(10)			
		TRK(88) - NTRK(10)			
		TRK(89) - NTRK(10)			
		TRK(90) - NTRK(10)			
		TRK(91) - NTRK(10)			
		TRK(92) - NTRK(10)			
		TRK(93) - NTRK(10)			
		TRK(94) - NTRK(10)			
		TRK(95) - NTRK(10)			
		TRK(96) - NTRK(10)			
		TRK(97) - NTRK(10)			
		TRK(98) - NTRK(10)			
		TRK(99) - NTRK(10)			
		TRK(100) - NTRK(10)			
		TRK(101) - NTRK(10)			
		TRK(102) - NTRK(10)			
		TRK(103) - NTRK(10)			
		TRK(104) - NTRK(10)			
		TRK(105) - NTRK(10)			
		TRK(106) - NTRK(10)			
		TRK(107) - NTRK(10)			
		TRK(108) - NTRK(10)			
		TRK(109) - NTRK(10)			
		TRK(110) - NTRK(10)			
		TRK(111) - NTRK(10)			
		TRK(112) - NTRK(10)			
		TRK(113) - NTRK(10)			
		TRK(114) - NTRK(10)			
		TRK(115) - NTRK(10)			
		TRK(116) - NTRK(10)			
		TRK(117) - NTRK(10)			
		TRK(118) - NTRK(10)			
		TRK(119) - NTRK(10)			
		TRK(120) - NTRK(10)			
		TRK(121) - NTRK(10)			
		TRK(122) - NTRK(10)			
		TRK(123) - NTRK(10)			
		TRK(124) - NTRK(10)			
		TRK(125) - NTRK(10)			
		TRK(126) - NTRK(10)			
		TRK(127) - NTRK(10)			
		TRK(128) - NTRK(10)			
		TRK(129) - NTRK(10)			
		TRK(130) - NTRK(10)			
		TRK(131) - NTRK(10)			
		TRK(132) - NTRK(10)			
		TRK(133) - NTRK(10)			
		TRK(134) - NTRK(10)			
		TRK(135) - NTRK(10)			
		TRK(136) - NTRK(10)			
		TRK(137) - NTRK(10)			
		TRK(138) - NTRK(10)			
		TRK(139) - NTRK(10)			
		TRK(140) - NTRK(10)			
		TRK(141) - NTRK(10)			
		TRK(142) - NTRK(10)			
		TRK(143) - NTRK(10)			
		TRK(144) - NTRK(10)			
		TRK(145) - NTRK(10)			
		TRK(146) - NTRK(10)			
		TRK(147) - NTRK(10)			
		TRK(148) - NTRK(10)			
		TRK(149) - NTRK(10)			
		TRK(150) - NTRK(10)			
		TRK(151) - NTRK(10)			
		TRK(152) - NTRK(10)			
		TRK(153) - NTRK(10)			
		TRK(154) - NTRK(10)			
		TRK(155) - NTRK(10)			
		TRK(156) - NTRK(10)			
		TRK(157) - NTRK(10)			
		TRK(158) - NTRK(10)			
		TRK(159) - NTRK(10)			
		TRK(160) - NTRK(10)			
		TRK(161) - NTRK(10)			
		TRK(162) - NTRK(10)			
		TRK(163) - NTRK(10)			
		TRK(164) - NTRK(10)			
		TRK(165) - NTRK(10)			
		TRK(166) - NTRK(10)			
		TRK(167) - NTRK(10)			
		TRK(168) - NTRK(10)			
		TRK(169) - NTRK(10)			
		TRK(170) - NTRK(10)			
		TRK(171) - NTRK(10)			
		TRK(172) - NTRK(10)			
		TRK(173) - NTRK(10)			
		TRK(174) - NTRK(10)			
		TRK(175) - NTRK(10)			
		TRK(176) - NTRK(10)			
		TRK(177) - NTRK(10)			
		TRK(178) - NTRK(10)			
		TRK(179) - NTRK(10)			
		TRK(180) - NTRK(10)			
		TRK(181) - NTRK(10)			
		TRK(182) - NTRK(10)			
		TRK(183) - NTRK(10)			
		TRK(184) - NTRK(10)			
		TRK(185) - NTRK(10)			
		TRK(186) - NTRK(10)			
		TRK(187) - NTRK(10)			
		TRK(188) - NTRK(10)			
		TRK(189) - NTRK(10)			
		TRK(190) - NTRK(10)			
		TRK(191) - NTRK(10)			
		TRK(192) - NTRK(10)			
		TRK(193) - NTRK(10)			
		TRK(194) - NTRK(10)			
		TRK(195) - NTRK(10)			
		TRK(196) - NTRK(10)			
		TRK(197) - NTRK(10)			
		TRK(198) - NTRK(10)			
		TRK(199) - NTRK(10)			
		TRK(200) - NTRK(10)			
		TRK(201) - NTRK(10)			
		TRK(202) - NTRK(10)			
		TRK(203) - NTRK(10)			
		TRK(204) - NTRK(10)			
		TRK(205) - NTRK(10)			
		TRK(206) - NTRK(10)			
		TRK(207) - NTRK(10)			
		TRK(208) - NTRK(10)			
		TRK(209) - NTRK(10)			
		TRK(210) - NTRK(10)			
		TRK(211) - NTRK(10)			
		TRK(212) - NTRK(10)			
		TRK(213) - NTRK(10)			
		TRK(214) - NTRK(10)			

Manuel des échantillons primaires

ERG			FGFR3		
Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC	Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
TMPRSS2/ERG	TMPRSS2(4)-ERG(4)	COSF18	FGFR3/TACC3	FGFR3(14)-TACC3(11)	
	TMPRSS2(5)-ERG(4)	COSF16		FGFR3(15)-TACC3(11)	
	TMPRSS2(4)-ERG(5)	COSF17		FGFR3(16)-TACC3(10)	COSF1353
	TMPRSS2(5)-ERG(5)			FGFR3(16)-TACC3(11)	COSF1348
	TMPRSS2(3)-ERG(4)	COSF30		FGFR3(17)-TACC3(4)	
	TMPRSS2(2)-ERG(4)	COSF28		FGFR3(17)-TACC3(5)	
	TMPRSS2(2)-ERG(5)	COSF29		FGFR3(17)-TACC3(6)	
	TMPRSS2(2)-ERG(2)			FGFR3(17)-TACC3(7)	
	TMPRSS2(2)-ERG(2)	COSF27		FGFR3(17)-TACC3(8)	
	TMPRSS2(1)-ERG(2)	COSF23		FGFR3(17)-TACC3(9)	
	TMPRSS2(1)-ERG(3)	COSF24		FGFR3(17)-TACC3(10)	COSF1434
	TMPRSS2(1)-ERG(4)	COSF38		FGFR3(17)-TACC3(11)	
	TMPRSS2(1)-ERG(5)	COSF26		FGFR3(17)-TACC3(13)	
	TMPRSS2(1)-ERG(6)	COSF36		FGFR3(18)-TACC3(4)	
SLC45A3/ERG	SLC45A3(1)-ERG(4)	COSF1038	FGFR3(18)-TACC3(7)		
EGFR			MET		
Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC	Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
EGFR	EGFR(1)-EGFR(8)		BAlAP2L1/MET	BAlAP2L1(3)-MET(15)	
FGFR2			CAP2A2/MET	CAP2A2(4)-MET(11)	
Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC	C8orf34/MET	C8orf34(2)-MET(15)	
FGFR2/AFF3	FGFR2(17)-AFF3(8)		OXR1/MET	OXR1(3)-MET(13)	
FGFR2/BICC1	FGFR2(17)-BICC1(2)		PTPR21/MET	PTPR21(3)-MET(2)	
FGFR2/CASP7	FGFR2(17)-CASP7(2)		TPR/MET	TPR(4)-MET(15)	
FGFR2/CIT	FGFR2(17)-CIT(23)		TFG/MET	TFG(5)-MET(15)	
FGFR2- KIAA1463-CCAR2	FGFR2(17)-KIAA1463-CCAR2(4)		MET/MET	MET(13)-MET(15)	
FGFR2/MGEA5	FGFR2(17)-MGEA5(12)		FGFR1		
FGFR2/OFD1	FGFR2(17)-OFD1(3)		Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
SLC45A3/FGFR2	SLC45A3(1)-FGFR2(1)		BAG4/FGFR1	BAG4(1)-FGFR1(8)	
	SLC45A3(1)-FGFR2(2)		ERLIN2/FGFR1	BAG4(2)-FGFR1(6)	
FGFR2/TACC3	FGFR2(17)-TACC3(11)		FGFR1/TACC1	ERLIN2(8)-FGFR1(2)	
				FGFR1(17)-TACC1(7)	
BRAF			ETV1 / ETV5		
Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC	Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
AKAP3/BRAF	AKAP3(8)-BRAF(9)	COSF1013	TMPRSS2/ETV1	TMPRSS2(1)-ETV1(4)	
FAM131B/BRAF	FAM131B(2)-BRAF(9)	COSF1189		TMPRSS2(2)-ETV1(5)	
FCHSD1/BRAF	FCHSD1(13)-BRAF(9)	COSF1013, COSF404		TMPRSS2(1)-ETV1(5)	
KIAA1549/BRAF	KIAA1549(18)-BRAF(9)		TMPRSS2/ETV5	TMPRSS2(3)-ETV5(2)	EU314329
	KIAA1549(17)-BRAF(10)			TMPRSS2(1)-ETV5(2)	
	KIAA1549(16)-BRAF(10)	COSF509, COSF1284		TMPRSS2(1)-ETV4(3)	
	KIAA1549(15)-BRAF(11)		ERBB2		
	KIAA1549(15)-BRAF(3)		Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
AGTRAP/BRAF	AGTRAP(5)-BRAF(8)	COSF828	WIPF2/ERBB2	WIPF2(1)-ERBB2(4)	
PAPSS1/BRAF	PAPSS1(5)-BRAF(9)		AXL		
SLC45A3/BRAF	SLC45A3(1)-BRAF(8)	COSF871	Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
TAX1BP1/BRAF	TAX1BP1(8)-BRAF(11)		AXL/MBIP	AXL(20)-MBIP(4)	
TRIM24/BRAF	TRIM24(9)-BRAF(9)		PDGFRA		
SND1/BRAF	SND1(16)-BRAF(9)		Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC
CDC27/BRAF	CDC27(16)-BRAF(9)		SCAF11/PDGFRA	SCAF11(1)-PDGFRA(2)	
RAF1					
Nom	Transcrit de fusion (exoas)	COSMIC			
B4GALT1/RAF1	B4GALT1(1)-RAF1(8)				
ESRP1/RAF1	ESRP1(13)-RAF1(6)	COSF826			

- Le délai de réponse est de maximum 15 jours.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 19 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4.4.4. 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**).
- 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

Dr. Sandrine Rorive (02 555 43 30) Sandrine.Rorive@erasme.ulb.ac.be

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

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.**

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 20 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

- 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.

4.5.1. 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 1ère et 2ème 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 mutation T790M du gène EGFR. En effet, l'osimertinib est, contrairement TKI de 1ère et 2ème 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.

- 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 85 03) Ricardo.De.Mendonca@erasme.ulb.ac.be

Biologie Moléculaire (02/555 85 08) Biomol.Anapath@erasme.ulb.ac.be

4.6. Examen extemporané

Il s'agit d'examen histologiques et/ou cytologiques réalisés en urgence par le chirurgien. Le but de ces examens est d'adapter la procédure chirurgicale aux caractéristiques de la pathologie mise en évidence durant l'intervention.

Les techniques cytologiques sont répertoriées et sont similaires aux procédures de routine (**IN-CYTO-07**), en ce qui concerne les techniques histologiques ces examens se basent sur la technique de coupes à congélation. Les coupes sont réalisées au cryostat et colorées selon la technique HE-extemporané (**IN-HISTO-12**).

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 21 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

L'avantage de cette technique est sa rapidité (5 minutes/lame) mais la qualité obtenue avec cette technique est inférieure à la qualité utilisée en routine. Le diagnostic posé extemporanément doit être validé par l'analyse du prélèvement congelé après fixation et coloration classique.

Renseignements pratiques :

- **La technique se pratique uniquement à partir de matériel frais, ne pas mettre de sérum physiologique ni de fixateur.**
- Le délai d'acheminement doit être le plus court possible : 5 minutes maximum pour garantir la qualité de l'examen.
- Le BIP extemporanée (55507) est disponible de 8h à 17h tous les jours ouvrables. Un service de garde est assuré 24h/24 pour les extemporanées. Le pathologiste et le technicien de garde sont joignables via la centrale téléphonique +32 2 555 31 11.
- Le résultat est transmis dans les 45 minutes maximum.
- Le protocole extemporané est transmis par téléphone par le pathologiste. Il est intégré au protocole final associé à la validation définitive.

4.7. Histologie

Les pièces opératoires et les biopsies constituent les prélèvements histologiques.

Ces prélèvements sont fixés au formol (4%) pH neutre, minimum 6 heures – maximum 48 heures.

Le volume de fixateur doit être égal à au moins deux fois le volume du prélèvement.

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 (Cf. **FL-QUAL-03**).

Pour tout prélèvement urgent, autre que les prélèvements extemporanés, une procédure d'acheminement d'urgence est possible. Pour ce faire, vous devez appeler le bip 6553. Cette procédure est d'application de 8h à 17h tous les jours ouvrables.

Un service de garde est assuré 24h/24h pour les extemporanées. Le pathologiste et le technicien de garde sont joignables via la centrale téléphonique au +32 2 555 31 11.

Les résultats comportant l'examen microscopique et macroscopique font l'objet d'un protocole qui est délivré dans les 5 jours pour une pièce opératoire et les 3 jours pour une biopsie.

Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez contacter le secrétariat : +32 2 555 33 35.

4.8. Cytologie

Les liquides (cytologie exfoliative) et les frottis (lames sèches ou fixées) constituent les prélèvements cytologiques. Le matériel cytologique est analysé après avoir été préparé et coloré suivant des procédures spécifiques variant en fonction du type d'échantillon reçu.

Remarque : En cas de très petit volume, l'entièreté de l'échantillon est analysée.

- Les **liquides cervico-vaginaux** sont conservés en milieu liquide et acheminés fixés dans du Preservcyt (Technique ThinPrep, brevet de la firme « Cytic »). Les pots de ThinPrep contenant du

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 22 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

Preservcyt sont transmis par notre laboratoire. Le délai de fixation est de maximum 3 mois (minimum = immédiat).

- Les **urines** sont prélevées et conservées dans des pots en plastic propres de 100 ou 200mL contenant du Saccomano ; le volume de fixateur correspondant au minimum à 25% du volume total du prélèvement. Le délai de fixation est de maximum 72h (minimum = immédiat).

- Les **liquides céphalo-rachidiens** (LCR) et liquides de cusa, les liquides d'ascite, les liquides péritonéaux, les liquides pleuraux, les liquides péricardiques, les liquides articulaires, les liquides de kystes ovariens, les liquides d'œil et les liquides articulaires sont acheminés frais au laboratoire. Le transfert doit être rapide (< 30 minutes). La procédure d'acheminement d'urgence est possible en appelant le bip 56553. Si le prélèvement ne peut être techniqué endéans les 30 minutes, il doit être fixé au Saccomano ou au formol (4%, pH neutre) selon les procédures.

- Les **liquides de lavage broncho-alvéolaire** (LBA), les **aspirations bronchiques**, les **brossages** d'origine bronchique, biliaire, pancréatique, médiastinale et para-œsophagienne sont acheminés au LAP fixés Saccomano ou au formol (4%, pH neutre) selon les procédures. Le délai de fixation est de maximum 72h (minimum = immédiat).

- Les **frottis** sont acheminés secs ou fixés au laboratoire en fonction de la coloration à réaliser (frottis secs : coloration de Diff-Quick ; frottis fixés : coloration de Papanicolaou). Les frottis de masses mammaires et les ponctions sont colorés au Diff-Quick (frottis secs). Certains frottis d'adénopathies et d'organes profonds nécessitent une coloration Papanicolaou (fixation au spray). Les frottis gynécologiques (étalements) sont toujours colorés au Papanicolaou (fixation au spray).

- les **frottis de moelle** sont acheminés sous forme de 3 étalements en provenance du laboratoire d'hématologie (un sec pour la coloration de PAS, un fixé pour la coloration de Papanicolaou et une lame colorée au MGG).

Les résultats comportant l'examen cytologique font l'objet d'un protocole qui sera délivré dans les 4 jours.

Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez contacter le secrétariat : +32 2 555 33 35.

4.9. Autopsies

Si l'un de vos patients est décédé et que vous souhaitez un examen autopsique, veuillez :

- Prévenir le secrétariat d'anatomie pathologie au +32 2 555 84 86 ;
- Faire une demande d'autopsie (**FO-PM-01**) que vous faxez au +32 2 555 47 90.

Il faut vous assurer qu'il n'y a pas d'opposition à la réalisation de l'autopsie par le patient ou de la part de sa famille. En effet, suivant le code de déontologie de l'Ordre des Médecins, « sauf réquisition ou disposition légales particulières, une autopsie ne peut être pratiquée que s'il n'y a pas eu opposition explicite ou implicite du patient ou opposition de la part des proches. » (Art.133 - 01/01/1975 - <http://www.ordomedic.be/fr/code/search/>). En cas d'opposition, le service d'Anatomie Pathologique ne pourra pas réaliser l'autopsie.

Vous pouvez rassurer les proches en leur expliquant que le corps du défunt ou de la défunte sera remis à la famille après l'autopsie. L'autopsie est réalisée au plus tard le jour ouvrable qui suit le décès. Suivant le code de déontologie de l'Ordre des Médecins, « le médecin qui pratique une autopsie agira avec tact et discrétion ; il prend les mesures nécessaires pour le corps soit présenté, après l'autopsie,

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 23 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

d'une manière qui respecte les sentiments des proches.» (Art. 134 – 01/01/1975 - <http://www.ordomedic.be/fr/code/search/>).

Après réception de la demande d'autopsie, le médecin pathologiste prendra contact avec vous afin de connaître l'histoire clinique du patient et quels sont les points particuliers que vous souhaitez voir analysés. L'examen de l'encéphale n'est réalisé que si l'histoire clinique le nécessite, il ne s'agit pas d'un examen de routine. Il faut donc le signaler au médecin qui pratiquera l'autopsie.

L'autopsie se déroule en deux temps :

1/ l'examen macroscopique est réalisé en salle d'autopsie (Hôpital Général – niveau -2). Il vous est possible d'y assister. Un compte-rendu provisoire de cet examen vous parviendra endéans les 48 heures ;

2/ l'examen microscopique des prélèvements effectués en salle d'autopsie est réalisé après réalisation des coupes histologiques et lecture des lames. Un second compte-rendu définitif vous parviendra endéans le mois (excepté l'examen de l'encéphale).

Pour toute information complémentaire, vous pouvez joindre le responsable du secteur des autopsies (Calliope.Maris@erasme.ulb.ac.be).

Ces informations vous sont données à titre indicatifs et sont susceptibles d'être modifiées.

4.10. Transport

4.9.1. 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 BOR-05.08.061-1.1.

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

4.9.2. Transport

Le transport est réalisé par les auxiliaires techniques du LAP selon différentes modalités :

- 4 grands tours par jour (comprenant entre autres les quartiers opératoires, les consultations et l'endoscopie) ;
- Les prélèvements enlevés à la demande :
 - o Extemporanees (bip. 55507) ;
 - o Prélèvements urgents (bip. 56553).
- Pour les prélèvements du week-end, un stockage est réalisé au quartier opératoire.

4.9.3. Horaire

Le LAP réceptionne les échantillons de 8h00 à 17h00, les jours ouvrables.

Les prélèvements urgents et extemporanés sont acheminés 24h/24 via le rôle de garde (technicien et pathologistes de garde joignables via la centrale téléphonique : +32 2 555 31 11).

Laboratoire d'Anatomie Pathologique Hôpital Erasme  ULB 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelinck	Page 24 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

4. Références – Validations

Néant.

5. Annexes

Néant.

6. Historique des modifications

13.10.09 Modifications des points 4.4.2 et 4.4.3, dans la partie « aspects pratiques »

Mai 2010

- 4.1.1. Mise à jour de la liste de l'équipe médicale.
- 4.3.1. Ajout de cancer gastrique et remplacement de A. Mathieu par C. Maris.
- 4.4.1. Ajout du volume minimal d'échantillon nécessaire à la réalisation de la technique
Délai de réponse du test passe de 21 à 18 jours et la fréquence de réalisation passe de 15 à 10 jours.
- 4.2.2. Délai de réponse du test passe de 21 à 18 jours.
- 4.4.5. Ajout du volume minimal d'échantillon nécessaire à la réalisation de la technique Délai de réponse du test passe de 21 à 18 jours.
- Ajout du point 4.4.6. Analyse IDH1
- Ajout du point 4.4.7. Analyse MGMT
- Ajout du point 4.4.8. Analyse MSI
- Ajout du point 4.4.9. Analyse HPV
- 4.7. Délai de fixation des liquides cervico-vaginaux dans le préservcvt est de 6 mois.
Ajout de « si une analyse UCA1 doit être effectuée.
Ajout des liquides d'œil et des liquides articulaires.

Février 2011 Ajout des critères de non-conformité pour l'analyse FISH.

- 4.3 Ajout de : « Pour les examens immunohistochimiques de type pharmacodiagnostique (EGFR, Her2-Neu, RO, RP, cKit) le FO-BM-01 doit être complété. »
Dans tous les cas il est ajouté qu'il faut ajouter la date de fixation.

Pour les analyses de biologie moléculaire il est indiqué que la demande d'analyse FO-BM-01 doit être remplie au lieu de la demande spécifique à chaque test et ajout de la remarque : « **Toutes les informations demandées sur l'échantillon sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.** »

- 4.6 Ajout de : « 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 (Cf. **FL-QUAL-03**) »

4.9 & 1 : Ajout de : « tels qu'indiquées dans le code de bonne pratique du personnel des laboratoires qui est disponible dans une farde du même nom dans l'armoire GL du local HDJ-2-3090 (point 5.1 p11) ».

Septembre 2011 Ajout des nouveaux tests de biologie moléculaire et réorganisation du point 4.4 (regroupement des tests ISH).

05 Octobre 2011 Point 4.4.1 : Ajout de la phrase : « De nombreuses études ont analysé la surexpression de la protéine HER2 dans les cancers de l'estomac et ont montré que celle-ci était surexprimée dans environ 20% de ces cancers. »

06 décembre 2011 Suppression de la phrase sur le nombre de coupes nécessaires dans les tests nécessitant une extraction d'ADN.

Modification des délais de réponse pour les analyses UCA1, KRAS, IDH1 et MGMT
Point 4.1.1. : Mise à jour de la liste des membres de l'équipe médicale.

Janvier 2012 Modification de l'en-tête du document suite à la modification de la procédure de gestion documentaire.

Octobre 2012 Ajout des tests Alk et EBV ; Adaptation des TAT : Pour le test KRAS : délai de réponse maximum passe de 18 à 16 jours. ; Adaptation du tableau (point 4.1.1).

Juin 2013 Remaniement complet du point 4.4. Regroupement des analyses basées sur l'hybridation in-situ, sur la PCR. Les aspects pratiques de ces analyses sont reprises au début de chaque type d'analyse pour éviter les répétitions. Ajout de l'analyse de CISH MDM2.

Point 4.9 : Autopsies : Ajout de l'email du nouveau responsable de secteur ; paragraphe 2 : ajout de : « L'autopsie est réalisée au plus tard le jour ouvrable qui suit le décès. ».

Laboratoire d'Anatomie Pathologique 	N° du fichier : AN-QUAL-24	ANNEXE
	Rédaction : Flavienne Sandras	Version : 26
	Approbation : Isabelle Roland	Date de mise en application : 17 juillet 2023
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 25 sur 25
Manuel des échantillons primaires		

Novembre 2013 Ajouts du test MLH1 et des tests NGS (cancer panel et colon & lung panel) ; Ajout de l'IHC Alk.

Mars 2015 Mise à jour du tableau du personnel du LAP. ; Suppression des analyses KRAS, EGFR et UCA1. Point 4.7. : Urines : Suppression de la phrase : « Les urines fixées doivent être acheminées au LAP dans les 24 heures maximum si une analyse UCA1 doit être effectuée. »

Mars 2016 Simplification du document : les aspects pratiques sont décrits en début de chaque technique et ne sont plus repris dans chaque analyse pour éviter les répétitions. ; Changement de méthodologie pour BRAF, HPV, MGMT ; Ajout des tests ROS1 et Lung Fusion Panel ; Ajout du numéro de fax encodage

Avril 2017 Point 4.1 : Ajout de : « route 950 » pour la localisation du LAP. ; Point 4.1.1. : Mise à jour de l'équipe médicale du LAP ; Ajout du point 4.4 : Biopsies liquides ; Ajout des tests KRAS et NRAS-BRAF (point 4.3.2)

Mai 2017 Modification TAT BRAF

Janvier 2018 Suppression de la technique IDH1. ; Suppression de la personne de contact Pieter Demetter (MSI et MLH1), Marie Le Mercier pour les panels NGS et ajout de Claude Van Campenhout. ; Ajout des test NGS : thyroid panel, clinical glioma panel, thyroid fusion panel. ; Ajout des abréviations des panels NGS (demande clinicien - suivi remarque enquête de satisfaction).

Janvier 2019 Ajout du panel CLP-OST et des analyses FISH MET et RET. ; Ajout des cartouches Idylla EGFR

Mars 2019 Ajout de l'analyse MET exon 14 skipping (MET14) par RT-qPCR ; Actualisation email de la biologie moléculaire ; Actualisation informations biopsies liquides

Septembre 2019 Actualisation de l'analyse CISH EBV

Décembre 2019 Adaptation de l'équipe médicale du LAP ; Ajout de l'analyse OFA et des tableaux de mutations pour toutes les analyse de type NGS

Mai 2020 Mise à jour du point 4.4.3.3. pour l'update du panel gynéco ; Adaptation du nom des panels NGS selon les modifications apportées à la demande FO-BM-01.

Septembre 2020 Mise à jour des TAT théoriques des analyses NGS pour répondre aux exigences de la convention NGS (délai de réponse endéans les 15 jours pour toutes les analyses NGS). Mise à jour de l'équipe médicale.

10 juin 2021 : Intégration des nouveaux numéros de BIP

Janvier 2022 : Adaptations faites suite aux modifications apportées à la demande FO-BM-01 : Modification du point 4.3 (Modification du point 4.3.5 PD-L1; ajout du point 4.3.6 IHC Pan-TRK ; suppression IHC RO – RP et EGFR). Modification du point 4.4.1 (ajout FISH TFE3 ; suppression FISH 1p19q et RET). Modification du point 4.4.2 (mise à jour du TAT de l'analyse MSI, suppression délétion MET exon 14 skipping par PCR). Adaptation du point 4.1.1 : Equipe médicale du LAP.

Juillet 2023 : Changement d'adresse, mise à jour du personnel, mise à jour des localisation et numéros de téléphone.

Validé le : 14 juillet 2023

Par : Pr. Myriam REMMELINK

