

EXIGENCES PREANALYTIQUES

A. TUMEURS SOLIDES

I. EXIGENCES ADMINISTRATIVES

I.1 Heures d'ouverture du Laboratoire

Le laboratoire est ouvert tous les jours **sauf** les samedis, dimanches et jours fériés de 9h00 à 17h00. Les prélèvements doivent parvenir dans cette période d'ouverture.

TELEPHONE : 04 92 03 80 07

FAX : 04 92 03 75 29

MAILS : lgts-sec-past@chu-nice.fr / labo.lgts@chu-nice.mssante.fr

En dehors des jours et des heures d'ouverture du laboratoire, les prélèvements doivent être conservés selon les exigences pré analytiques définies ci-après.

I.2 Identification complète

Identification complète du prélèvement et concordance parfaite avec l'identité de la feuille de demande et le compte-rendu anatomopathologique si celui-ci est disponible.

I.3 Demande d'examen renseignée (bons de demande Laboratoire de Génétique Tumeurs Solides LABO-GTS-DS-194 / feuille de prescription)

- ✓ Le bon de demande comporte un bon administratif destiné à la cellule facturation et des bons de demandes spécifiques de tumeurs, ces bons doivent être transmis pour toute demande.

- **Bon administratif**

- ✓ Identification du pathologiste, du prescripteur et de l'établissement à facturer
- ✓ Type de prélèvement (pièce opératoire, biopsie, cytologie ...)
- ✓ Type de tumeur (primitive, métastase)
- ✓ Site anatomique
- ✓ Numéro de référence anatomopathologique
- ✓ **Pourcentage de cellules tumorales** (supérieur à 20% dans la mesure du possible et supérieur à 30% pour la recherche de mutation des gènes BRCA1 et 2) et renseignements sur particularités (nécrose, inflammation...)

Remarque : Le pourcentage de cellules tumorales correspond à l'estimation de la proportion de cellules tumorales sur l'ensemble des cellules (hors nécrose) présentes sur la coupe ou sur la zone du prélèvement qui a été sélectionnée (BONNES PRATIQUES POUR LA RECHERCHE À VISÉE THÉRAPEUTIQUE DE MUTATIONS SOMATIQUES DANS LES TUMEURS SOLIDES. <http://www.e-cancer.fr/>)

- **Bon de demande spécifique de tumeurs**

Précise la demande d'analyses à réaliser

I.4 Compte rendu anatomopathologique

Joindre le compte rendu anatomopathologique si disponible

I.5 Conditionnement

Les prélèvements doivent être conditionnés par patient : un patient, un sachet, un prélèvement.

II. EXIGENCES LIEES AU PRELEVEMENT

II.1. Conditionnement :

II.1.1 Prélèvements fixés en formol et inclus en paraffine

- ✓ **Fixateur**: le formol tamponné (4 à 10%) est recommandé. **Le liquide de Bouin, picrique ou Bouin de Hollande, l'éosine, ainsi que les décalcifiants sont proscrits. Les fixateurs hydro-alcooliques sont déconseillés.**
- ✓ Si possible, les prélèvements osseux ne doivent pas subir d'étape de décalcification.

II.1.2 Prélèvements frais (non congelé, non fixé) (uniquement mélanomes choroïdiens ou cas particuliers)

- Prélèvement primaire effectué en condition aseptique.

EXIGENCES PREANALYTIQUES

- Milieu de transport : les tubes contenant du PBS (Phosphate Buffer Saline) sont fournis sur demande par le Laboratoire de Génétique des Tumeurs Solides. Ils doivent être conservés à 4°C jusqu'à l'utilisation. Une fois le prélèvement tumoral déposé dans le tube de transport de manière aseptique, celui-ci doit être conservé à température ambiante*. En cas de prélèvement en dehors des heures d'ouverture du laboratoire, les prélèvements frais doivent être conservés à température ambiante* et doivent nous parvenir dans les délais prévus (maximum 3 jours).
- Dans le cas exceptionnel où un prélèvement frais est effectué une veille de grand week-end excédant 3 jours (avec un lundi férié par exemple), le laboratoire doit être prévenu soit par **téléphone** le vendredi avant 17h, soit par **fax en précisant où est conservé le prélèvement**. Un technicien de garde est toujours présent à partir du troisième jour de fermeture.

II.1.3 Prélèvements congelés pour biologie moléculaire ou SNP/CGH array

- ✓ *Etant donné les contraintes de transport des prélèvements congelés, les analyses doivent être réalisées en priorité sur les blocs d'inclusion en paraffine. L'analyse sur prélèvement congelé est réservée aux cas où l'analyse n'a pas été réalisable à partir d'un bloc d'inclusion (taille insuffisante, fixation inadéquate...) ou pour des cas particuliers (vérification de résultats, protocoles spécifiques)*
- Taille minimum de 0,5 cm³
- ✓ Prélèvements conservés à -80°C ou en azote liquide (cryotubes) correctement identifiés. Transport dans carboglace avec acheminement < 24 heures par un transporteur. En dehors des jours et des heures d'ouverture du laboratoire, les prélèvements doivent être conservés dans les laboratoires correspondants à - 80°C ou azote liquide et nous parvenir dans les délais recommandés.

II.2. Matériel / transport :

Matériel biologique nécessaire pour la réalisation des analyses

En complément, voir LISTE DES ANALYSES REALISEES AU LABORATOIRE GENETIQUE DES TUMEURS SOLIDES (LABO-GTS-GU-001) et la LISTE DES CRITERES DE REFUS (LABO-GTS-LI-010)

EXIGENCES PREANALYTIQUES

Analyse	Techniques utilisées	Conditions de transport et de conservation	Matériel biologique pouvant être communiqué
SUR TISSU FIXES AU FORMOL ET INCLUS EN PARAFFINE			
<p>SNP/CGH-array (Hybridation Génomique Comparative) Anomalies chromosomiques quantitatives</p>	<p>Hybridation de l'ADN tumoral sur puces ADN oligonucléotidiques</p>	<p>Prélèvement conservé à -80°C ou en azote liquide transport < à 24h dans carboglace</p>	<p>Fragment congelé</p>
		<p>Transport à température ambiante* Pas de délai d'acheminement</p>	<ul style="list-style-type: none"> Bloc paraffine accompagné d'une lame HES ou HE en miroir avec cerclage de la zone tumorale, permettant de se repérer sur le bloc paraffine <p style="text-align: center;">Ou</p> <ul style="list-style-type: none"> 10 coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine (copeaux) de la zone tumorale (50µm) de 1.5 à 2 ml stérile (Tubes recommandés : <i>safe-lock eppendorf tubes®</i>)
		<p>Echantillon conservé à -20°C Transport à température ambiante* par transporteur spécialisé maximum 3 jours</p>	<p>ADN extrait: quantité 10 µl à une concentration 12 à 15 ng/µl</p>
		<p>PBS conservé à 4°C (avant utilisation) et transport après prélèvement : maximum 3 jours à température ambiante*</p>	<p>Cas particuliers des mélanomes choroïdiens. Prélèvement frais (non congelé, non fixé) dans du PBS (fourni à la demande par le laboratoire)</p>
<p>BIOLOGIE MOLECULAIRE ADN Recherche de Mutations, clonalité, hypermutations somatiques, recherche d'instabilité des séquences microsatellites</p>	<p>NGS ADN Pyroséquençage Séquençage direct Droplet PCR</p>	<p>Transport et conservation à température ambiante* Pas de délai d'acheminement</p>	<ul style="list-style-type: none"> 4 coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine (copeaux) de la zone tumorale (20µm) en microtube de 1.5 à 2 ml stérile de type eppendorf (Tubes recommandés : <i>safe-lock eppendorf tubes®</i>) <p style="text-align: center;">Ou</p> <ul style="list-style-type: none"> Bloc paraffine accompagné d'une lame HES ou HE en miroir avec cerclage de la zone tumorale, permettant de se repérer sur le bloc paraffine (<i>en cas de petites biopsies ou si le prélèvement est</i>

EXIGENCES PREANALYTIQUES

Analyse	Techniques utilisées	Conditions de transport et de conservation	Matériel biologique pouvant être communiqué
SUR TISSU FIXES AU FORMOL ET INCLUS EN PARAFFINE			
			<p><i>hétérogène</i> (Ce bloc ne sera plus utilisable pour des analyses ultérieures en FISH)</p> <p>NOTA BENE : pour toute recherche d'instabilité des séquences microsatellites dans les cancers autres que les cancers colorectaux, transmettre en plus un échantillon de tissu non tumoral avec l'échantillon tumoral.</p>
	<p>NGS ADN Pyroséquençage Séquençage direct Droplet PCR</p>	<p>Echantillon conservé à -20°C Transport à température ambiante** par transporteur spécialisé maximum 3 jours</p>	<p>ADN extrait: quantité 10 µl à une concentration 12 à 15 ng/µl</p>
<p>BIOLOGIE MOLECULAIRE ARN Recherche de fusions, réarrangements</p>	<p>NGS ARN (RNAseq)</p>	<p>Transport et conservation à température ambiante* Pas de délai d'acheminement</p>	<ul style="list-style-type: none"> 4 coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine (copeaux) de la zone tumorale (20µm) en microtube de 1.5 à 2 ml stérile de type eppendorf (Tubes recommandés : <i>safe-lock eppendorf tubes®</i>) <p style="text-align: center;">Ou</p> <ul style="list-style-type: none"> Bloc paraffine accompagné d'une lame HES ou HE en miroir avec cerclage de la zone tumorale, permettant de se repérer sur le bloc paraffine (<i>en cas de petites biopsies ou si le prélèvement est hétérogène</i>) (Ce bloc ne sera plus utilisable pour des analyses ultérieures en FISH)
		<p>Échantillon conservé à -80°C ou en azote liquide transport < à 24h dans carboglace</p>	<p>ARN extrait: quantité 10 µl à une concentration 12 à 15 ng/µl</p>

EXIGENCES PREANALYTIQUES

Analyse	Techniques utilisées	Conditions de transport et de conservation	Matériel biologique pouvant être communiqué
SUR TISSU FIXES AU FORMOL ET INCLUS EN PARAFFINE			
FISH Remaniement génique de type fission/fusion Altération quantitative (amplification, gain, délétion)	FISH	Transport à température ambiante* Pas de délai d'acheminement	3 à 5 lames blanches silanées ou polysinées** coupes formol paraffine (5µm) accompagnées de la lame HES ou HE miroir avec repère de la zone tumorale.

*Le transport à température ambiante est non critique (néanmoins, la température ne doit pas excéder 50°C, température proche du point de fusion de la paraffine utilisée en anatomopathologie).

**Le transport à température ambiante est non critique (néanmoins, la température ne doit pas excéder 30°C)

EXIGENCES PREANALYTIQUES

B. SANG-MOELLE OSSEUSE

I. LOCALISATION DES LABORATOIRES

- Réception des prélèvements **BATIMENT J HOPITAL PASTEUR : 3^{ème} ETAGE**

TELEPHONE : 04 92 03 82 90

- LABORATOIRE exécutant : LGTS/LOM ouvert tous les jours **sauf** les samedis, dimanches et jours fériés de 9h00 à 17h00.

TELEPHONE : 04 92 03 80 07

FAX : 04 92 03 75 29

MAILS : lgts-sec-past@chu-nice.fr / labo.lgts@chu-nice.mssante.fr

II. EXIGENCES ADMINISTRATIVES

a. Identification complète

Identification complète du prélèvement et **concordance parfaite** avec l'identité de la feuille de demande et les échantillons

b. Demande d'examen renseignée (bons de demande Solides LABO-GTS-DS-290/ feuille de prescription/consentement du patient)

- **Bon administratif**

- ✓ Identification du prescripteur,
- ✓ Identification complète du patient (étiquette si possible)
- ✓ Identification du préleveur et de l'heure de prélèvement
- ✓ Type de prélèvement
- ✓ Renseignements cliniques

- **Analyses demandées** : Merci de cocher les demandes d'analyses

III. PRELEVEMENTS

A prélever stérilement

- Sang total
- Moelle osseuse
- Liquides de ponctions

✓ Tubes acceptés :

1. EDTA (bouchon violet) pour le sang total et la moelle osseuse (1 à 2 tubes de 9 ML)
2. Tube neutre (bouchon blanc) pour les liquides de ponction (1 tube neutre)

✓ Température de transport : température ambiante

✓ Temps de transport < à 48H

Analyse	Techniques utilisées	Conditions de transport et de conservation	Matériel biologique pouvant être communiqué
SUR SANG TOTAL-MOELLE OSSEUSE- LIQUIDES DE PONCTION			
BIOLOGIE MOLECULAIRE ADN	NGS ADN PCR DIGITALE PYROSEQUENCAGE	Transport à température ambiante Délai de transport < à 48H	Sang total – moelle osseuse: 1 tube EDTA de 9 ml Liquides de ponction : 1 tube neutre
BIOLOGIE MOLECULAIRE ARN	NGS ARN (RNAseq)		