

SOMMAIRE

1. Objet.....	2
2. Terminologie.....	2
2.1 Abréviations.....	2
2.2 Définitions.....	2
2.3 Références.....	2
3. Domaine d'application.....	2
4. Modalités de réexamen.....	2
5. Responsabilités.....	2
6. Présentation du laboratoire.....	3
6.1 Interlocuteurs.....	3
6.2 Situation géographique.....	3
6.3 Horaires d'ouverture.....	3
6.4 Descriptif.....	4
7. Identification prescription et échantillons.....	4
8. Génétique somatique :.....	4
8.1 Conditions de prescription.....	4
8.2 Fixation du prélèvement.....	4
8.3 Matériel à nous transmettre.....	4
8.4 Prescription et éléments cliniques à transmettre.....	5
9. Génétique constitutionnelle.....	5
9.1 Conditions de prescription.....	5
9.2 Le prélèvement.....	5
9.2.1 Oncogénétique.....	5
9.2.2 Pharmacogénétique.....	5
9.3 Prescription et éléments cliniques à transmettre.....	6
10. Analyse d'exome.....	6
11. Gestion des non-conformités.....	6
12. Transmission des résultats.....	7
13. Gestion des réclamations.....	7
14. Modalités d'acheminement.....	7
15. Conservation des échantillons après analyse :.....	7
16. Les délais d'obtention des résultats depuis la réception de la demande au laboratoire.....	7
17. Catalogue des examens réalisés.....	8
18. Documents rattachés :.....	14
18.1 PC/MQ/GL/1500 : Gestion de l'amélioration continue au DBPT.....	14
18.2 FM/PA/BM/2924 : Formulaire de demande d'examen d'oncogénétique constitutionnelle.....	14
18.3 FM/PA/BM/2720 : Formulaire de demande d'examens de Pharmacogénétique.....	14
18.4 FM/PA/BM/2670 : Formulaire de demande de recherche de mutations somatiques (Externe).....	14
19. Synthèse des modifications.....	14

Seule la version électronique fait foi. Une impression de ce document engage votre seule responsabilité

1. Objet

Ce manuel de prélèvement fournit les informations utiles et nécessaires à la bonne réalisation de la phase pré-analytique. D'une part, il s'applique aux prélèvements tumoraux inclus en paraffine et réalisés conformément aux recommandations émises par l'INCa dans les « Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique ».

D'autre part, il s'applique aux examens de génétique constitutionnelle qui sont des tests génétiques ayant pour objectif d'identifier une prédisposition aux cancers familiaux ainsi qu'aux tests de pharmacogénétique.

2. Terminologie

2.1 Abréviations

AFA	Alcool Formolé Acétique
CGFL	Centre Georges-François Leclerc
DBPT	Département de Biologie et de Pathologie des Tumeurs
INCa	Institut National du Cancer

2.2 Définitions

Echantillon	Matériel humain destiné à l'examen de biologie moléculaire
-------------	------------------------------------------------------------

2.3 Références

Norme EN NF ISO 15189

Bonne pratique pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides (INCa, Août 2010)

3. Domaine d'application

Ce document est destiné aux prescripteurs des demandes d'examens (génétiiciens et oncologues) et inclut des informations à l'usage des anatomopathologistes fournissant les échantillons, sur les modes de prélèvement, le conditionnement et la transmission des échantillons au laboratoire. Il comprend des informations pratiques, des recommandations et des indications permettant une prise en charge efficace des patients et un catalogue des analyses génétiques proposées par le laboratoire.

4. Modalités de réexamen

Ce document est révisé selon les directives du DBPT. Cette révision intervient en cas de modification des exigences normatives, d'évolution de notre système qualité, d'évolution technologique et selon une périodicité maximale de 2 ans. Cette révision inclut aussi les documents rattachés et les références externes.

5. Responsabilités

Le manuel de prélèvement est sous la responsabilité de l'unité de Biologie Moléculaire du DBPT.

6. Présentation du laboratoire

L'unité de Biologie Moléculaire est un laboratoire qui prend en charge les examens de biologie moléculaire. Elle effectue des analyses de génétique somatique et de génétique constitutionnelle.

Le personnel est soumis au secret professionnel, est recruté selon les exigences réglementaires et est habilité sur site : il suit un processus d'habilitation complémentaire de la formation théorique et pratique.

A l'issue de cette étape, il est autorisé à effectuer les activités du laboratoire.

6.1 Interlocuteurs

Romain BOIDOT	Biologiste Responsable du laboratoire	03 80 73 77 67
Valentin DERANGERE	Biologiste	03 80 73 75 00 - poste 3837
Vincent GOUSSOT	Biologiste Praticien agréé à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales	03 80 73 77 64
Juliette ALBUISSON	Génétiennne Praticien agréé à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales	03 45 34 81 40
Anthony COMTE	Biologiste	03 45 34 81 11
Sandy CHEVRIER	Cadre adjointe	03 80 73 75 00 - poste 3482
Astrid BRASSELET	Technicienne de laboratoire	03 80 73 75 00 - poste 3130
Marion CARNET	Technicienne de laboratoire	
Anne GIBEAUD	Technicienne de laboratoire	
Pauline BEACCO	Technicienne de laboratoire	
Charles GAUTHIER	Technicien de laboratoire	
Angélique CHEVRIAUX	Technicienne de laboratoire	
Marie-Laure DARCIAUX	Assistante médicale	03 45 34 81 20
Rabéa KESSAISSIA	Assistante médicale	
Amandine LEQUET-DELOGE	Assistante médicale	
Jean-Charles TANCHE	Qualiticien du DBPT	03 80 73 75 00 - poste 3152

6.2 Situation géographique

L'unité de Biologie Moléculaire se situe au 1er étage du centre Georges-François Leclerc ; une signalétique en indique son accès.

6.3 Horaires d'ouverture

Le laboratoire de l'unité de Biologie Moléculaire est ouvert de 8h15 à 17h00 du lundi au vendredi.

Adresse : 1, rue Professeur Marion – BP77980 – 21079 Dijon Cedex

6.4 Descriptif

L'unité de Biologie Moléculaire se compose de 4 salles techniques (Zones 1, 2, 2 bis et 3).

7. Identification prescription et échantillons

Il est obligatoire de réaliser une identification rigoureuse de la prescription ainsi que des échantillons.

Les éléments obligatoires concernant le patient sont :

- nom d'usage ou nom marital
- nom de naissance
- prénom
- sexe
- date de naissance

Quand cela est possible ; il est conseillé d'utiliser les étiquettes « patient » produites par le système d'information de l'établissement après en avoir vérifié l'exactitude.

Certaines autres informations sont à mentionner sur la prescription ou la fiche de demande mis à disposition :

- identification du prescripteur,
- la date de la prescription de l'examen
- type d'échantillon primaire et, le cas échéant, le site anatomique d'origine,
- la nature des examens prescrits,
- les informations cliniques pertinentes pour la bonne réalisation de l'examen et l'interprétation des résultats,
- la date du prélèvement de l'échantillon
- L'identification du préleveur

Voir les formulaires de demande respectifs dans les paragraphes suivants.

8. Génétique somatique :

8.1 Conditions de prescription

Le génotypage demandé doit être en accord avec les recommandations de l'INCa, c'est-à-dire figurant parmi les biomarqueurs reconnus ou émergents.

Seul le médecin prescripteur est destinataire du compte-rendu et responsable de la diffusion ultérieure. Une copie est systématiquement envoyée au laboratoire d'anatomopathologie d'où provient le bloc. Si le médecin prescripteur souhaite qu'un double soit envoyé à d'autres destinataires (praticien de service hospitalier en charge du patient notamment), il doit l'indiquer sur le formulaire de demande.

8.2 Fixation du prélèvement

Le fixateur recommandé est le formol tamponné.

La durée de fixation en formol optimale recommandée se situe entre 24 et 48h.

Les fixateurs à base d'alcool ou les substituts du formol et l'AFA ne peuvent être considérés comme des standards. Les autres fixateurs (liquide de Bouin ou autres contenant de l'acide picrique ou des dérivés mercuriels) sont proscrits.

8.3 Matériel à nous transmettre

L'échantillon est présenté sous la forme d'un prélèvement tissulaire inclus en paraffine. Il est recommandé de nous transmettre un bloc suffisamment riche en matériel tumoral et représentatif de la tumeur. Le prélèvement peut avoir été obtenu lors du diagnostic initial ou à distance, sur la tumeur primitive ou une métastase. **Les blocs seront restitués de manière systématique à l'issue de l'examen moléculaire, en même temps que le compte-rendu d'examen destiné au pathologiste responsable du diagnostic.** Dans tous les cas, le bloc doit être identifié de manière univoque avec une référence permettant de relier l'échantillon au patient.

Il est également possible de nous transmettre un prélèvement sanguin pour la recherche de mutations somatiques sur de l'ADN tumoral circulant. Pour cela, il faut nous faire parvenir un tube de sang spécifiquement collecté sur « Cell free DNA collection tube » de la société Roche ou de la société Streck. Le tube est à envoyer à température ambiante dans les 24 heures suivant le prélèvement accompagné d'une fiche de demande et des documents nécessaires à l'interprétation des résultats.

Alternativement, un envoi d'ADN extrait par la plateforme d'origine à partir d'un prélèvement tissulaire peut être réalisé. Une quantité optimale de 400 ng d'ADN obtenue par dosage fluorimétrique est nécessaire. Dans le cas d'un envoi d'ADN déjà extrait, il est impératif de transmettre les lames HES ou de fournir la teneur en cellules tumorales déterminée par marquage HES.

Dans le cas du RNAseq, un envoi d'ARN total peut être réalisé. Il est nécessaire d'avoir une quantité minimale de 200ng.

8.4 Prescription et éléments cliniques à transmettre

Un formulaire de demande de recherche de mutations somatiques a été élaboré pour permettre aux prescripteurs/préleveurs de renseigner les éléments cliniques nécessaires à la bonne prise en charge de l'échantillon. Il est disponible sur le serveur <P:\FORMULAIRES\Formulaires> et sur le site internet du Centre Georges-François Leclerc <https://www.cgfl.fr>

Une note est systématiquement envoyée lors de la mise à jour de cette fiche. Il est demandé de ce fait de détruire l'ancienne version et de n'utiliser que la version en cours.

Une copie du compte-rendu d'anatomie et cytologie pathologiques doit obligatoirement être joint au formulaire de demande.

9. Génétique constitutionnelle

9.1 Conditions de prescription

Conformément au décret n°2000-570 du 23 juin 2000 fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétiques d'une personne, ces examens sont prescrits dans le cadre d'une consultation médicale individuelle, effectuée par un médecin œuvrant au sein d'une équipe pluridisciplinaire rassemblant des compétences cliniques et génétiques, et ne peuvent être réalisés que par des praticiens agréés à cet effet et exerçant dans un laboratoire autorisé.

Les examens des caractéristiques génétiques d'une personne sont soumis aux dispositions législatives et réglementaires prévues par la loi n°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique et ses textes d'application, notamment le décret n°2008-321 du 4 avril 2008 relatif à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne ou à son identification par empreintes génétiques à des fins médicales.

9.2 Le prélèvement

9.2.1 Oncogénétique

- **Sang total** : 8 ml sont suffisants pour l'analyse.

Le prélèvement doit être effectué sur **tube EDTA**. L'envoi au laboratoire de Biologie Moléculaire doit avoir lieu, à température ambiante, dans les 7 jours suivant le prélèvement.

Les modalités pratiques de prélèvement sanguin sont disponibles sur le manuel de prélèvement de l'unité de Biologie Clinique consultable sur le site internet du Centre Georges-François Leclerc <https://www.cgfl.fr>

Cas particulier : pas d'échantillon sanguin pour un patient allogreffé ou porteur d'une hémopathie avec cellules tumorales circulantes : contacter le laboratoire.

Alternativement, un envoi d'ADN extrait par la plateforme d'origine peut être réalisé. Une quantité optimale de 400 ng d'ADN obtenue par dosage fluorimétrique est nécessaire.

L'identité du préleveur et la date de prélèvement sont obligatoires.

Cas particulier : recherche ciblée de variant chez un apparenté : les 2 prélèvements doivent être distincts (heure et/ou préleveur différents) et acheminés dans 2 sachets différents.

9.2.2 Pharmacogénétique

Sang total : 4 ml sont suffisants pour l'analyse (génotypage DPYD + UGT1A1 ou un seul des 2 gènes).

Le prélèvement doit être effectué sur **tube EDTA**. L'envoi au laboratoire de Biologie Moléculaire doit avoir lieu, à température ambiante, dans les 7 jours suivant le prélèvement.

Les modalités pratiques de prélèvement sanguin sont disponibles sur demande (Manuel de prélèvement de l'unité de Biologie Clinique du CGFL).

Cas particulier : pas d'échantillon sanguin pour un patient allogreffé ou porteur d'une hémopathie avec cellules tumorales circulantes : contacter le laboratoire.

9.3 Prescription et éléments cliniques à transmettre

Tout prélèvement doit nous parvenir avec une prescription.

Les tests génétiques sont soumis au recueil du consentement du patient.

Le prescripteur doit obligatoirement signer l'attestation de consultation de génétique dans laquelle il s'engage à avoir recueilli le consentement du patient.

Aucun examen ne sera réalisé en l'absence d'attestation de consultation de génétique

Pour l'Oncogénétique, il est indispensable que le prescripteur transmette tous les documents relatifs à l'examen prescrit : arbre généalogique accompagné des informations cliniques essentielles, informations concernant la mutation (gène, localisation) à rechercher (photocopie du compte-rendu du cas index) s'il s'agit d'un test pour des apparentés.

10. Analyse d'exome

Les analyses d'exome réalisées au laboratoire se font dans les mêmes conditions que la Génétique somatique (paragraphe 8.). Afin d'exploiter au mieux les données, une analyse constitutionnelle est indiquée en parallèle. Dans ce cas, les conditions sont identiques à celles mentionnées dans le paragraphe 9. La prescription peut être réalisée par un oncologue à condition d'avoir recueilli le consentement éclairé du patient.

11. Gestion des non-conformités

Les examens demandés seront différés ou refusés dans la mesure où les conditions présentées dans ce manuel de prélèvement ne sont pas respectées.

Liste non exhaustive des critères d'acceptation ou de refus dans certains cas :

Nature de la non-conformité	
Discordance ou absence identification prescription et/ou échantillon	Examen différé ou refusé selon le cas
Absence de la fiche de demande de recherche de mutations somatiques ou fiche mal renseignée	Examen différé
Absence du compte rendu anatomopathologiste pour la génétique somatique	Examen différé
Tube de sang cassé ou renversé	Examen différé si volume résiduel suffisant. Sinon examen refusé
Absence de renseignements cliniques obligatoires	Examen différé
Absence d'attestation de consultation de génétique	Examen différé
Prescription ou prélèvements non identifiés	Examen différé ou refusé selon le cas
Absence de prescription	Examen différé ou refusé selon le cas
Echantillons de plusieurs patients dans le même sachet	Examen différé ou refusé selon le cas
Non-respect des conditions d'acheminement de l'échantillon	Examen différé ou refusé selon le cas
Quantité d'échantillon insuffisante.	Examen différé ou refusé selon le cas

12. Transmission des résultats

- **Pour la génétique somatique et Pharmacogénétique** : Compte rendu accessible aux prescripteurs CGFL depuis le logiciel Clinicom et compte-rendu papier envoyé par courrier pour tous les prescripteurs externes. La transmission de résultats par fax est limitée à l'urgence. Des dispositions sont prises par le laboratoire pour assurer la confidentialité des informations.

- **Pour la génétique constitutionnelle** : Compte rendu accessible aux prescripteurs CGFL depuis le logiciel Clinicom et compte-rendu papier envoyé par courrier pour tous les prescripteurs.

13. Gestion des réclamations

L'unité de Biologie Moléculaire possède une procédure ([PC/MQ/GL/1500](#)) concernant la gestion des réclamations et s'engage à recueillir toute réclamation (orale ou écrite) et à informer le réclamant du devenir de celle-ci.

14. Modalités d'acheminement

Les échantillons doivent parvenir au laboratoire à température ambiante.

Le système de base du triple emballage est requis pour l'emballage et le transport des échantillons biologiques de catégories B (UN3373).

L'emballage devra respecter des règles de confidentialité, d'intégrité de l'échantillon ainsi que des règles d'hygiène et de sécurité.

15. Conservation des échantillons après analyse :

Somatique	Bloc tumoral	Renvoi au laboratoire expéditeur
	ADN	Conservation à -20°C pendant minimum 5 ans
Constitutionnel	ADN	Conservation à -20°C pendant minimum 30 ans

16. Les délais d'obtention des résultats depuis la réception de la demande au laboratoire

Pour les examens somatiques : 10 jours ouvrés à partir de la réception de l'échantillon.

Pour les examens constitutionnels : pour une analyse d'un cas index, le délai est inférieur à 6 mois. Ce délai est de 2 mois pour les demandes urgentes.

Pour un test prédictif, concernant une mutation déjà connue dans la famille, caractérisé par la recherche d'une mutation ciblée, le délai est de 2 mois.

Pour les analyses d'exome : 2 à 3 mois à partir de la réception des échantillons.

17. Catalogue des examens réalisés

L'ensemble des prestations est réalisé sur le site du Centre Georges François Leclerc au Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs

EXAMEN	Technologie / Kit	Remarques																																
Extraction d'acides nucléiques à partir de lames blanches (4-5 µm), rouleaux de coupes en paraffine, tube de sang EDTA, tube pour ADN circulant (Streck, Roche)	Maxwell (Promega) avec kits spécifiques Kit Qiagen spécifique																																	
Quantification d'acides nucléiques	Fluorimétrie (Qubit)																																	
GENETIQUE CONSTITUTIONNELLE																																		
<p>Analyse de panel Oncogénétique : Gènes de rang A : couverture garantie + recherche des réarrangements de grande taille. Gènes de rang B : couverture non garantie + pas de recherche des réarrangements de grande taille.</p>	<p>Capture Agilent + Séquençage Illumina</p>	<p>Avant toute analyse du panel sur ADN constitutionnel, une consultation d'Oncogénétique est indispensable.</p> <p>6 indications possibles à mentionner dans le bon de demande :</p> <p>- panel Sein</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Gènes diagnostiques</th> <th>Gènes en cours d'évaluation</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BRCA1 rang A</td> <td>MLH1 rang B</td> </tr> <tr> <td>BRCA2 rang A</td> <td>MSH2 rang B</td> </tr> <tr> <td>PALB2 rang A</td> <td>MSH6 rang B</td> </tr> <tr> <td>PTEN rang A</td> <td>PMS2 rang B</td> </tr> <tr> <td>TP53 rang A</td> <td>ATM rang B</td> </tr> <tr> <td>CDH1 rang A</td> <td>ATR rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>CHEK2 rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>RAD50 rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>RAD51B rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>BRIP1 rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>BARD1 rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>NBN rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>STK11 rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>RAD51C rang B</td> </tr> <tr> <td></td> <td>RAD51D rang B</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation	BRCA1 rang A	MLH1 rang B	BRCA2 rang A	MSH2 rang B	PALB2 rang A	MSH6 rang B	PTEN rang A	PMS2 rang B	TP53 rang A	ATM rang B	CDH1 rang A	ATR rang B		CHEK2 rang B		RAD50 rang B		RAD51B rang B		BRIP1 rang B		BARD1 rang B		NBN rang B		STK11 rang B		RAD51C rang B		RAD51D rang B
Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation																																	
BRCA1 rang A	MLH1 rang B																																	
BRCA2 rang A	MSH2 rang B																																	
PALB2 rang A	MSH6 rang B																																	
PTEN rang A	PMS2 rang B																																	
TP53 rang A	ATM rang B																																	
CDH1 rang A	ATR rang B																																	
	CHEK2 rang B																																	
	RAD50 rang B																																	
	RAD51B rang B																																	
	BRIP1 rang B																																	
	BARD1 rang B																																	
	NBN rang B																																	
	STK11 rang B																																	
	RAD51C rang B																																	
	RAD51D rang B																																	

EXAMEN	Technologie / Kit	Remarques								
		<p>- panel Sein-Ovaire</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Gènes diagnostiques</th> <th style="width: 50%;">Gènes en cours d'évaluation</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A PTEN rang A TP53 rang A CDH1 rang A RAD51C rang A RAD51D rang A MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A</td> <td>ATM rang B ATR rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B STK11 rang B</td> </tr> </tbody> </table> <p>- panel Prostate</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Gènes diagnostiques</th> <th style="width: 50%;">Gènes en cours d'évaluation</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A Variation G84E d'HOXB13 rang A</td> <td>ATM rang B ATR rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B RAD51C rang B RAD51D rang B MLH1 rang B MSH2 rang B MSH6 rang B PMS2 rang B PTEN rang B TP53 rang B rs138042437 de CASC19</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation	BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A PTEN rang A TP53 rang A CDH1 rang A RAD51C rang A RAD51D rang A MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A	ATM rang B ATR rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B STK11 rang B	Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation	BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A Variation G84E d'HOXB13 rang A	ATM rang B ATR rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B RAD51C rang B RAD51D rang B MLH1 rang B MSH2 rang B MSH6 rang B PMS2 rang B PTEN rang B TP53 rang B rs138042437 de CASC19
Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation									
BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A PTEN rang A TP53 rang A CDH1 rang A RAD51C rang A RAD51D rang A MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A	ATM rang B ATR rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B STK11 rang B									
Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation									
BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A Variation G84E d'HOXB13 rang A	ATM rang B ATR rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B RAD51C rang B RAD51D rang B MLH1 rang B MSH2 rang B MSH6 rang B PMS2 rang B PTEN rang B TP53 rang B rs138042437 de CASC19									

EXAMEN	Technologie / Kit	Remarques								
		<p>- panel Tube digestif</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Gènes diagnostiques</th> <th style="width: 50%;">Gènes en cours d'évaluation</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A APC rang A MUTYH rang A POLD1 rang A POLE rang A BMPR1A rang A SMAD4 rang A STK11 rang A PTEN rang A CDH1 rang A </td> <td> NTHL1 rang B MSH3 rang B CTNN1A rang B AXIN2 rang B GREM1 rang B RNF43 rang B TP53 rang B ATM rang B CHEK2 rang B </td> </tr> </tbody> </table> <p>- panel Pancréas</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Gènes diagnostiques</th> <th style="width: 50%;">Gènes en cours d'évaluation</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A APC rang A STK11 rang A CDKN2A rang A </td> <td> ATM rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B RAD51C rang B RAD51D rang B TP53 rang B </td> </tr> </tbody> </table>	Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation	MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A APC rang A MUTYH rang A POLD1 rang A POLE rang A BMPR1A rang A SMAD4 rang A STK11 rang A PTEN rang A CDH1 rang A	NTHL1 rang B MSH3 rang B CTNN1A rang B AXIN2 rang B GREM1 rang B RNF43 rang B TP53 rang B ATM rang B CHEK2 rang B	Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation	BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A APC rang A STK11 rang A CDKN2A rang A	ATM rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B RAD51C rang B RAD51D rang B TP53 rang B
Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation									
MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A APC rang A MUTYH rang A POLD1 rang A POLE rang A BMPR1A rang A SMAD4 rang A STK11 rang A PTEN rang A CDH1 rang A	NTHL1 rang B MSH3 rang B CTNN1A rang B AXIN2 rang B GREM1 rang B RNF43 rang B TP53 rang B ATM rang B CHEK2 rang B									
Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation									
BRCA1 rang A BRCA2 rang A PALB2 rang A MLH1 rang A MSH2 rang A MSH6 rang A PMS2 rang A EPCAM rang A APC rang A STK11 rang A CDKN2A rang A	ATM rang B CHEK2 rang B RAD50 rang B RAD51B rang B BRIP1 rang B BARD1 rang B NBN rang B RAD51C rang B RAD51D rang B TP53 rang B									

EXAMEN	Technologie / Kit	Remarques				
		- panel TP53 <table border="1"> <thead> <tr> <th align="center">Gènes diagnostiques</th> <th align="center">Gènes en cours d'évaluation</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td align="center">TP53 rang A</td> <td align="center">/</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation	TP53 rang A	/
Gènes diagnostiques	Gènes en cours d'évaluation					
TP53 rang A	/					
Recherche ciblée d'un variant (cas index 2 ^{ème} prélèvement ou cas apparenté)	Séquençage Sanger ou MLPA Cas particulier : séquençage MUTYH par NGS chez enfant d'un cas index bi-allélique	Avant toute analyse réalisée chez un cas apparenté, une consultation auprès d'un généticien est obligatoire.				
Génotypage UGT1A1 (Recherche du polymorphisme UGT1A1*28)	Analyse de fragments					
Génotypage DPYD (5 variations recherchées : D949V, DPYD*13, DPYD*2A, DPYD*6, E412E dans l'haplotype B3)	Discrimination allélique					
GENETIQUE SOMATIQUE						
Panel Colon/Poumon/Mélanome/GIST (20-100kb) : <i>ALK, BRAF, EGFR, ERBB2 (HER2), KIT, KRAS, MAP2K1, MET, NRAS, PDGFRA, TP53, ROS1, PIK3CA, CTNNB1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, STK11, KEAP1, RB1, RET</i>	Capture Agilent + Séquençage Illumina	En cas d'urgence, cette analyse peut être faite par discrimination allélique +/- analyse de fragment +/- séquençage Sanger sur les hotspots mutationnels. Panel réalisable sur biopsie liquide.				

EXAMEN	Technologie / Kit	Remarques
Panel Gynéco (20-100kb) : <i>BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51B, RAD51C, RAD51D, BRIP1, ATM, CHEK2, NBN, RAD50, BARD1, FANCA, PI3KCA, AKT1, TP53, PTEN, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, POLE, KRAS, NRAS, BRAF, ARID1A, FOXL2, CDK12, DICER1, SMARCA4, KMT2B, PPP2R1A, CTNNB1, IDH1, IDH2, STK11, ERBB2</i>	Capture Agilent + Séquençage Illumina	
Recherche d'instabilité génomique (GIS)	MyChoice® CDx (Myriad genetics)	
Panel MMR somatique (20-100kb) : <i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2</i>	Capture Agilent + Séquençage Illumina	Uniquement après validation de l'indication en RCP oncogénétique.
Analyse MSI (<i>BAT25, BAT26, BAT40, NR21, NR22 et NR27</i>)	Analyse de fragment	Il est préférable d'avoir un échantillon sanguin comme témoin.
<i>ESR1 : Y537C, Y537S, Y537N et D538G</i>	Discrimination allélique	
Exome (liste des gènes disponible sur demande)	Capture Agilent + Séquençage Illumina	



MANUEL DE PRELEVEMENT DE L'UNITE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

MO	PA
BM	
2031	9

EXAMEN	Technologie / Kit	Remarques
RNAseq : panel diagnostique : <i>ALK, BCOR, CIC, COL1A1, CTNNB1, ETV6, EWSR1, FOXO1, FUS, GNAS, JAZF1, MYOD1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PLAG1, SS18, TFE3, USP6 et YWHAE</i>	Capture Agilent + Séquençage Illumina	
RNA seq : panel théranostique : <i>AKT3, ALK, AR, BRAF, EGFR, ERBB2, ERG, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KRAS, NRAS, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRB, RET, ROS1</i>	Capture Agilent + Séquençage Illumina	

	MANUEL DE PRELEVEMENT DE L'UNITE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE	MO	PA
		BM	
		2031	9

18. Documents rattachés :

18.1 [PC/MQ/GL/1500](#) : Gestion de l'amélioration continue au DBPT

18.2 [FM/PA/BM/2924](#) : Formulaire de demande d'examen d'oncogénétique constitutionnelle

18.3 [FM/PA/BM/2720](#) : Formulaire de demande d'examens de Pharmacogénétique

18.4 [FM/PA/BM/2670](#) : Formulaire de demande de recherche de mutations somatiques (Externe)

19. Synthèse des modifications

Version	§	Modification	Motif
7	6	Mise à jour des interlocuteurs du laboratoire	
	17	Mise à jour du catalogue des examens	Ajout indication prostate panel oncogénétique
8	17	Mise à jour du catalogue des examens	Changement de panel colon, poumon, mélanome, GIST (passage v1 à v2)
			Changement de panel Gynéco (passage v3 à v4) Changement de technique UGT1A1 Ajout ROI TP53 MUTYH par NGS chez enfant de cas index bi-allélique
9	8.3	Précision sur le délai de renvoi du bloc au pathologiste responsable du diagnostic	FA185
	17	Mise en place recherche d'instabilité génomique Myriad	