



## 5.2 Conditions pré-analytiques

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

## 5.3 Recommandations techniques

### 5.3.1 Fixation du matériel

#### ⚠ LES PRELEVEMENTS DOIVENT ETRE FIXES AU FORMOL

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

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

### 5.3.2 Sélection du matériel

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

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

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

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

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

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

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

## 5.4 Catalogue des analyses réalisées

### 5.4.1 Recherche de mutation du gène *KRAS*

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

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

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

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

### 5.4.3 Recherche de mutation génétique du gène *BRAF*

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

### 5.4.4 Recherche de mutation génétique du gène *EGFR*

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

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

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

#### **5.4.5 Recherche de mutation génétique MSI**

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

#### **5.5 Délai de rendu des résultats (après réception)**

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

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

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

## 5.6 Examen de recherche de mutation génétique en SOUS TRAITANCE

### AIDE AUX PRELEVEMENTS DE BIOLOGIE MOLECULAIRE POUR LES EXAMENS EN SOUS-TRAITANCE

#### 1 - Le prescripteur :

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

#### 2 - Pathologiste responsable :

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

#### 3 - Réception au cabinet Sipath-Unilabs :

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

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

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

# 6. HYGIENE ET SECURITE

## 6.1 Informations usage et transport du formol

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

**Quelques conseils de bonne manipulation des flacons contenant du formol :**

### ➤ CAISSE TRANSPORTEURS

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

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



Les flacons doivent être fermés hermétiquement :



Oui



Non !

**Mauvaise fermeture des flacons : quelques conséquences possibles :**



**Fuite de fixateur :**

Mauvaise fixation du prélèvement



**Etiquettes effacées ou détériorées :**

Problème d'identitovigilance



## 6.2 Fiche de données sécurité Formol tamponné à 4%

### RUBRIQUE 1 : IDENTIFICATION DES DANGERS

#### 1.1. Classification de la substance ou du mélange

Conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 et ses adaptations.

Sensibilisation cutanée, Catégorie 1 (Skin Sens. 1, H317).

Mutagénicité pour les cellules germinales, Catégorie 2 (Muta. 2, H341).

Cancérogénicité, Catégorie 1A (Carc. 1A, H350).

Ce mélange ne présente pas de danger physique. Voir les préconisations concernant les autres produits présents dans le local.

Ce mélange ne présente pas de danger pour l'environnement. Aucune atteinte à l'environnement n'est connue ou prévisible dans les conditions normales d'utilisation.

#### 1.2. Éléments d'étiquetage

Conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 et ses adaptations.

Pictogrammes de danger :

GHS07



GHS08



Mention d'avertissement : DANGER

### FORMOL 4% TAMPONNE PH7 CE

Etiquetage additionnel :

Réservé aux utilisateurs professionnels.

Mentions de danger et informations additionnelles sur les dangers :

H317 Peut provoquer une allergie cutanée.

H341 Susceptible d'induire des anomalies génétiques.

H350 Peut provoquer le cancer.

Conseils de prudence - Prévention :

P201 Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.

P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P272 Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Conseils de prudence - Intervention :

P302 + P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau

P308 + P313 EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.

P333 + P313 En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.

P362 + P364 Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

Conseils de prudence - Elimination :

P501 Éliminer le contenu/récipient comme matière dangereuse par une filière spécialisée.

### RUBRIQUE 3 : PREMIERS SECOURS

D'une manière générale, en cas de doute ou si des symptômes persistent, toujours faire appel à un médecin.

NE JAMAIS rien faire ingérer à une personne inconsciente.

#### 3.1. Description des premiers secours

En cas de contact avec les yeux :

Laver abondamment avec de l'eau douce et propre durant 15 minutes en maintenant les paupières écartées.

En cas de contact avec la peau :

Enlever les vêtements imprégnés et laver soigneusement la peau avec de l'eau et du savon ou utiliser un nettoyeur connu.

Prendre garde au produit pouvant subsister entre la peau et les vêtements, la montre, les chaussures, ...

En cas de manifestation allergique, consulter un médecin.

Lorsque la zone contaminée est étendue et/ou s'il apparaît des lésions cutanées, il est nécessaire de consulter un médecin ou de faire transférer en milieu hospitalier.

En cas d'ingestion : Ne rien faire absorber par la bouche.

En cas d'ingestion, si la quantité est peu importante, (pas plus d'une gorgée), rincer la bouche avec de l'eau et consulter un médecin. Garder au repos. Ne pas faire vomir.

Faire immédiatement appel à un médecin et lui montrer l'étiquette.

En cas d'ingestion accidentelle appeler un médecin pour juger de l'opportunité d'une surveillance et d'un traitement ultérieur en milieu hospitalier, si besoin est. Montrer l'étiquette.

### 3.2. Principaux symptômes et effets, aigus et différés

Aucune donnée n'est disponible.

### 3.3. Indication des éventuels soins médicaux immédiats et traitements particuliers nécessaires

Aucune donnée n'est disponible.

## **RUBRIQUE 4 : MESURES À PRENDRE EN CAS DE DISPERSION ACCIDENTELLE**

### 4.1. Précautions individuelles, équipement de protection et procédures d'urgence

Se référer aux mesures de protection énumérées dans la rubrique 5

Pour les non-secouristes, éviter tout contact avec la peau et les yeux.

Pour les secouristes, les intervenants seront équipés d'équipements de protections individuelles appropriés (Se référer à la rubrique 8).

### 4.2. Précautions pour la protection de l'environnement

Contenir et recueillir les fuites avec des matériaux absorbants non combustibles, par exemple : sable, terre, vermiculite, terre de diatomées dans des fûts en vue de l'élimination des déchets.

Empêcher toute pénétration dans les égouts ou cours d'eau.

### 4.3. Méthodes et matériel de confinement et de nettoyage

En cas de souillure du sol, et après récupération du produit en l'épongeant avec un matériau absorbant inerte et non combustible, laver à grande eau la surface qui a été souillée.

Nettoyer de préférence avec un détergent, éviter l'utilisation de solvants.

## **RUBRIQUE 5 : MANIPULATION ET STOCKAGE**

Les prescriptions relatives aux locaux de stockage sont applicables aux ateliers où est manipulé le mélange.

Les personnes qui ont des antécédents de sensibilisation cutanée ne doivent en aucun cas manipuler ce mélange.

### 5.1. Précautions à prendre pour une manipulation sans danger

Se laver les mains après chaque utilisation.

Enlever et laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

Assurer une ventilation adéquate, surtout dans les endroits clos.

Prévention des incendies : manipuler dans des zones bien ventilées.

Interdire l'accès aux personnes non autorisées.

Equipements et procédures recommandées :

Observer les précautions indiquées sur l'étiquette ainsi que les réglementations de la protection du travail.

Eviter l'exposition - se procurer les instructions spéciales avant utilisation.

Les emballages entamés doivent être refermés soigneusement et conservés en position verticale.

Equipements et procédures interdites : Il est interdit de fumer, manger et boire dans les locaux où le mélange est utilisé.

### 5.2. Conditions d'un stockage sûr, y compris d'éventuelles incompatibilités

Stocker à l'abri du gel et de la chaleur

Conserver le récipient bien fermé, dans un endroit sec et bien ventilé.

Le sol des locaux sera imperméable et formera cuvette de rétention afin qu'en cas de déversement accidentel, le liquide ne puisse se répandre au dehors.

Toujours conserver dans des emballages d'un matériau identique à celui d'origine.

### Bibliographie :

<https://www.cancer-environnement.fr/181-Formaldehyde.ce.aspx>

<https://travail-emploi.gouv.fr/sante-au-travail/prevention-des-risques-pour-la-sante-au-travail/autres-dangers-et-risques/article/formaldehyde>

## Annexe

	<b>DEMANDE DE CONDITIONNEMENT</b>	Code-FE-PRE-PRV-001-09
---	-----------------------------------	------------------------

Date de la commande : .....

Tampon / Cachet Docteur / Etablissement
---

**Ou**

 Docteur :  
 Etablissement :  
 Spécialité :  
 Adresse du médecin prescripteur :

Réf. Code CEGID	Quantité Souhaitée	Nom	CDT
<b>DEMANDE BONS D'EXAMEN</b>			
006905		Bon de demande d'examen anatomo-cyto-pathologique	A l'unité
007789		Bon de demande d'examen gynécologie	A l'unité
006788		Bon de demande d'examen biopsies prostatiques	A l'unité
		Bon de demande d'examen placenta	A l'unité
		Bon de demande d'examen biologie moléculaire	A l'unité
		Bon de demande d'examen cytologie urinaire	A l'unité
<b>HISTOLOGIE</b>			
006813		Cassette	Carton de 500
006818		Mousse	Sachet de 500
		Tube pour IF	Sachet de 5
		Cône liquide de Michel	Sachet de 5
011266		Seau 3 L	A l'unité
011267		Seau 5 L	A l'unité
007118		Bidon formol 5l	A l'unité
<b>POTS DE FORMOL</b>			
015188		Petit pot formol pour biopsie	Carton de 25
006810		Pot 150 ml (histo)	Carton de 25
006670		Pot 1 L	Carton de 9
<b>CYTOLOGIE GYNECOLOGIQUE</b>			
007122		Pipelle de Cornier	Boîte de 25
006745		Spéculum	A l'unité
010 351		Flacon ThinPrep HOLOGIC	Boîte de 25
006902		Cervibrush + LBC (prélèvement endoccol)	Boîte de 100
010365		Cervex Brush (vert non cassable)	Sachet de 25
<b>CYTOLOGIE Non Gynécologique</b>			
019879		Pot 100 ml CytoLyt bouchon bleu pour cytologie urinaire	A l'unité
011938		Flacon 30 ml CytoLyt bouchon blanc pour cytoponction	Boîte de 20
<b>SACHET TRANSPORT / DOCUMENT</b>			
007497		Sachet transparent (kangourou)	Paquet de 100
006728		Sac à bretelle blanc	A l'unité
012023		Enveloppe T à bulles (Cyto)	A l'unité
011875		Enveloppe T à bulles (Histo)	A l'unité
		Carnet autocopiant	A l'unité
FE-PRE-PRV-001		Formulaire demande conditionnement	A l'unité

 NB : pour plus de renseignements sur le matériel fourni, vous pouvez vous référer à notre manuel de prélèvements disponible sur notre site Internet : <https://pathologie.unilabs.fr>

Réservé SIPATH	Initiale personne prise de commande	Initiale personne expédition commande
-------------------	-------------------------------------	---------------------------------------

**URGENT**