



Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents

Hospices Civils de Lyon – Centre Léon Bérard



Manuel de Prélèvement

Le Laboratoire de Génétique Constitutionnelle est ouvert de 8h à 17h30 du lundi au vendredi, les jours ouvrables.

Les prélèvements sont à envoyer à l'adresse suivante :

Dr Qing WANG/Dr Pierre NAIBO

Dr Nadia BOUTRY-KRYZA/Pr Alain CALENDER

**Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents HCL/CLB
Centre Léon Bérard – Bâtiment Cheney B (2^{ème} étage)
28 rue Laennec
69373 Lyon Cedex 08**

Tél laboratoire : 04 78 78 28 28 postes 7329 ou 7742 - Fax : 04 78 78 28 68

Tél Secrétariat : 04 69 85 60 97

Tél : 04 78 78 27 23 qing.wang@lyon.unicancer.fr

Tél : 04 69 85 62 60 pierre.naibo@lyon.unicancer.fr

Tél : 04 78 78 29 24 nadia.boutry-kryza@lyon.unicancer.fr

MANUEL DE PRELEVEMENT

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| TABLE DES MATIERES | 2 |
| 1. Mission du Laboratoire de Génétique Constitutionnelle | 4 |
| 2. Objet du Manuel de Prélèvement | 5 |
| 3. Les renseignements à notifier..... | 5 |
| 3.1. La prescription d'examen..... | 5 |
| 3.2. L'identification des échantillons | 6 |
| 3.3. La transmission des données cliniques..... | 7 |
| • Identité patient..... | 7 |
| • Identité prescripteur..... | 7 |
| • Informations concernant les analyses..... | 7 |
| • Demande d'analyse accélérée | 7 |
| 4. Les prélèvements | 7 |
| 4.1. La ponction veineuse | 8 |
| • La préparation du patient | 8 |
| • La préparation du matériel de prélèvement sanguin | 8 |
| 4.2. Le prélèvement sur tube PAXgene™ Blood RNA..... | 9 |
| • Une méthode performante pour l'étude de l'ARN..... | 9 |
| • Le prélèvement en quelques points essentiels | 9 |
| 4.3. Le prélèvement buccal sur Carte Indicating FTA® Elute | 10 |
| • Une méthode de prélèvement non invasive | 10 |
| • Le prélèvement en quelques points essentiels | 10 |
| • Références des produits pour le prélèvement buccal..... | 10 |
| 4.4 ADN extraits (constitutionnel ou tumoral) | 10 |
| 4.5 Bloc d'échantillon tissulaire FFPE (<i>Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded</i>)..... | 11 |
| 4.6 La mise à disposition du matériel pré-analytique..... | 11 |
| 5. L'élimination des déchets | 11 |
| 5.1. Le tri des déchets..... | 11 |
| • Déchets non contaminés et non perforants | 11 |
| • Déchets contaminés et/ou perforants : DASRI..... | 11 |
| 5.2. L'enlèvement et l'élimination des DASRI | 12 |
| 6. Le conditionnement, le stockage et le transport des échantillons..... | 12 |
| 6.1. Le conditionnement..... | 12 |
| 6.2. Le stockage..... | 12 |
| 6.3. Le transport des échantillons | 13 |
| 7. La réception des échantillons au laboratoire et les conditions d'acceptabilité..... | 13 |

| | |
|---|-----------|
| 7.1. Les modalités de réception des échantillons | 13 |
| 7.2. Les conditions d'acceptabilité des échantillons | 13 |
| 7.3. Les critères de rejet des échantillons..... | 13 |
| 7.4. L'identitovigilance | 14 |
| 7.5. Le suivi des non-conformités de transmission | 14 |
| 7.6. L'accusé de réception des prélèvements | 14 |
| 8. La transmission des résultats | 14 |
| 8.1. Avis et interprétation : expertise du biologiste..... | 14 |
| 8.2. La transmission des résultats : confidentialité et fiabilité | 15 |
| • Transmission des résultats au prescripteur..... | 15 |
| • Transmission des résultats au préleveur | 15 |
| • Transmission des résultats au patient | 15 |
| 8.3. Les délais d'obtention des résultats..... | 15 |
| 8.4. La facturation/prise en charge..... | 15 |
| 8.5. L'archivage des résultats | 16 |
| 9. Les analyses complémentaires | 16 |
| 10. Adresse et numéros utiles | 16 |
| 11. Présentation du catalogue des analyses génétiques..... | 16 |
| DESCRIPTIF DU PROCESSUS DE PRELEVEMENT | 17 |
| Catalogue des analyses génétiques (1) | 18 |
| Catalogue des analyses génétiques (2) | 19 |
| Catalogue des analyses génétiques (3) | 20 |
| Bibliographie | 29 |

1. Mission du Laboratoire de Génétique Constitutionnelle

Le Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, appelé ci-après Laboratoire de Génétique, réalise les tests génétiques dans l'objectif d'identifier une prédisposition aux cancers familiaux.

Ces tests sont proposés soit aux personnes atteintes d'un cancer pour rechercher une mutation dans les gènes concernés responsables de l'hérédité dans la famille (**test initial**), soit aux apparentés de la famille pour connaître leur statut de porteur de la mutation familiale permettant une surveillance adaptée (**test prédictif ou présymptomatique**).

Les examens des caractéristiques génétiques d'une personne sont soumis aux dispositions législatives et réglementaires prévues initialement par la loi n°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique [1] et modifiées par la loi n°2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique [2] et les textes d'application, notamment l'arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales [3] et le décret n° 2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale [4].

Conformément à l'arrêté du 27 mai 2013 [3], ces examens sont prescrits dans le cadre d'une consultation médicale individuelle adaptée, et pour les tests prédictifs, celle-ci doit être effectuée par un médecin exerçant 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.

Notre Laboratoire de Génétique est agréé pour effectuer les tests génétiques concernant :

- le syndrome familial du cancer du sein et de l'ovaire impliquant les gènes **BRCA1, BRCA2 PALB2, RAD51C, RAD51D** +6 gènes du panel GGC pour les demandes initiales (cf catalogue des analyses),
- la prédisposition héréditaire aux cancers digestifs avec l'étude du panel digestif défini par le Groupe Génétique et Cancer (Panel Digestif GGC),
- le syndrome du cancer colorectal non polyposique (ou HNPCC ou Syndrome de Lynch) impliquant les gènes **MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, POLE et POLD1)** + gènes complémentaires (*APC, MUTYH, CDH1, BMPR1A, SMAD4, PTEN, STK11*) (Panel Lynch),
- le cancer gastrique familial impliquant le gène **CDH1** (Panel Gastrique).

Ces examens ne peuvent pas être prescrits à une personne mineure.

Les missions du Laboratoire de Génétique :

- Informer les médecins prescripteurs et les laboratoires préleveurs des conditions nécessaires à la réalisation des prélèvements et des analyses,
- Exécuter les analyses avec fiabilité et exactitude,
- Valider les analyses et l'interprétation des résultats,
- Transmettre les résultats aux prescripteurs.

Le Laboratoire de Génétique poursuit son engagement dans le développement de la qualité de ses prestations. L'entrée dans la démarche d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 a été réalisée en mai 2013. Le Laboratoire de Génétique est maintenant partiellement accrédité sous le numéro d'accréditation 8-3503 (Portée disponible sur www.cofrac.fr).

Notre laboratoire assure également une veille technologique permanente, permettant de connaître et mettre en œuvre des méthodes nouvelles, performantes, à la pointe de la technologie.

Les biologistes participent à des manifestations scientifiques ainsi qu'à plusieurs réseaux génétiques nationaux et internationaux.

L'équipe du laboratoire est composée de biologistes, de technicien(ne)s de laboratoire, et de représentants de la direction pour la qualité. Tous sont soumis au secret professionnel.

Le personnel 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.

2. Objet du Manuel de Prélèvement

Ce présent Manuel de Prélèvement fournit les informations utiles et nécessaires à la bonne réalisation de la phase pré-analytique. Il s'applique aux **prélèvements correspondant aux examens réalisés par le Laboratoire de Génétique**.

Ce document est destiné à guider **les médecins prescripteurs** d'examens, et inclut des informations à l'usage des **laboratoires préleveurs**, sur les modes de prélèvements, le conditionnement et la transmission des prélèvements au Laboratoire de Génétique. Il comprend des informations pratiques, des recommandations et des indications permettant une prise en charge efficace des patients lors de l'acte de prélèvement et un catalogue des analyses génétiques proposées par le Laboratoire de Génétique.

Ce manuel a pour but non seulement de **répondre aux exigences normatives** mais surtout de permettre un **service de qualité pour les patients**. Il met à disposition des préleveurs diplômés les recommandations précises et requises pour effectuer, dans les meilleures conditions, la phase pré-analytique et plus particulièrement, la partie relative au prélèvement.

La qualité du rendu du résultat dépend directement de la phase pré-analytique et notamment de la qualité du prélèvement. Votre aide et votre participation à cette étape, dans le respect des recommandations sont garanties pour le patient et le prescripteur d'un résultat fiable et juste.

Les modalités de prélèvement, de conservation, de transport des échantillons biologiques doivent répondre, aux exigences de la norme européenne NF EN ISO 15189 [5], aux dispositions obligatoires du Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicales (GBEA) [6], et à la réglementation régissant les transports [7].

Le prélèvement est réalisé en fonction des analyses demandées et selon le mode opératoire correspondant au type de prélèvement, en respectant les règles d'hygiène et de sécurité [8] ainsi que les règles d'élimination des déchets potentiellement contaminés [9; 10].

Le prélèvement réalisé par du personnel externe au Laboratoire de Génétique est une étape de la phase pré-analytique, sous la responsabilité des biologistes. Il ne peut être réalisé que par du personnel habilité et qualifié [11]. Les articles L.6211-14 et L.6211-15 définissent les conditions et modalités de réalisation de l'acte de prélèvement (signature d'une convention entre le Laboratoire de Génétique et les préleveurs externes, diffusion du Manuel de Prélèvement) [12 ; 13]. Nous vous invitons à nous retourner signé, l'accusé de réception de ce Manuel de Prélèvement (**cf. Annexe**), établissant ainsi une convention avec notre Laboratoire de Génétique.

Le Manuel de Prélèvement est susceptible d'être modifié suite à l'évolution des connaissances ou l'évolution technologique. Afin de vous permettre de disposer d'un Manuel de Prélèvement reflétant l'évolution des informations entre deux versions, nous mettrons à votre disposition des mises à jour effectuées sur notre référentiel lors de l'envoi de courriers.

Nous souhaitons que cette version du manuel corresponde à vos attentes, vous apporte une aide utile et précieuse dans votre pratique professionnelle quotidienne, et vous permette une prise en charge efficace des patients et de répondre à quelques-unes de leurs questions.

Il vous est toujours possible de **contacter le Laboratoire de Génétique pour toutes informations complémentaires**. Nous sommes également attentifs à toutes remarques ou suggestions de votre part qui aideraient à l'amélioration de ce document.

3. Les renseignements à notifier

Conformément aux exigences réglementaires, le Laboratoire de Génétique a émis des **recommandations pré-analytiques** concernant la prescription d'examen, l'identification des échantillons et la transmission des données cliniques.

3.1. La prescription d'examen

Conformément à l'arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales [3], la prescription d'un examen des caractéristiques génétiques ne peut avoir lieu que dans le cadre d'une **consultation médicale individuelle**, et chez une personne asymptomatique, elle doit être effectuée par un médecin œuvrant au sein d'une équipe pluridisciplinaire rassemblant des compétences cliniques et génétiques.

Conformément au décret n°2002-600 du 30 avril 2002 relatif aux conditions de transmission de prélèvements biologiques aux laboratoires d'analyses de biologie médicale [14], tout prélèvement doit nous

parvenir avec une **ordonnance ou feuille de prescription d'examen, et le formulaire de Demande de Diagnostic Moléculaire (cf. Annexe)**. Il est recommandé d'utiliser les formulaires fournis par le Laboratoire de Génétique. La justesse et la qualité des informations transmises avec les prélèvements ont un impact important tant sur la qualité de la prise en charge et la qualité du diagnostic que sur les délais de réponse. L'ordonnance ou feuille de prescription est le point de départ de toute analyse ; sa lisibilité et l'identité du patient sont indispensables.

Le formulaire de Demande de Diagnostic Moléculaire est conforme à l'Arrêté du 20 juin 2003 fixant la présentation de la fiche de prélèvement de biologie médicale et au Décret n°2016-46 du 26 janvier 2016 relatif à la biologie médicale [15 ; 16].

L'ordonnance et la Demande de Diagnostic Moléculaire sont transmises au patient par le médecin prescripteur. Au moment du prélèvement, le patient les transmet au préleveur.

Les tests génétiques sont soumis au **recueil du consentement du patient**. Une attestation de recueil du consentement doit être remise au Laboratoire de Génétique réalisant l'examen.

Pour cela, deux possibilités existent :

- le consentement complété par le patient et par le prescripteur est joint à la feuille de prescription d'examen et/ou Demande de Diagnostic Moléculaire,
- la feuille de prescription mentionne que le prescripteur a recueilli le consentement du patient.

Afin de permettre une prise en charge optimale, il est indispensable que le prescripteur transmette tous les documents relatifs à l'examen prescrit :

- **arbre généalogique** accompagné des informations cliniques essentielles et de la référence de la famille,
- **mutation à rechercher (gène, description) ou copie du résultat du cas index ou d'un apparenté muté** si la mutation a été identifiée dans un autre laboratoire.

Pour un test prédictif, il est impératif de prescrire 2 prélèvements indépendants (heures de prélèvements différentes et/ou préleveurs différents) pour réaliser 2 déterminations indépendantes, à l'issue desquelles le résultat définitif sera adressé.

Des informations complémentaires sur les indications médicales et le choix approprié des analyses sont disponibles auprès des biologistes du laboratoire.

L'ordonnance ou feuille de prescription, l'attestation de recueil du consentement pour les examens des caractéristiques génétiques et la Demande de Diagnostic Moléculaire doivent accompagner le prélèvement.

Pour obtenir les formulaires fournis par le laboratoire et les renseignements nécessaires, s'adresser au Laboratoire de Génétique, ou photocopier et compléter les exemplaires fournis en annexe.

3.2. L'identification des échantillons

On rappelle la nécessité d'un étiquetage rigoureux de tout le matériel transmis. Il est vivement conseillé d'utiliser les étiquettes « patient » produites par le système d'information de l'établissement, après en avoir vérifié l'exactitude. Il faut coller ces étiquettes de façon à toujours laisser visible le niveau de remplissage du tube. Dans le cas où des étiquettes ne sont pas disponibles, il faut identifier le prélèvement de façon manuscrite et lisible.

Le préleveur identifie lui-même chaque échantillon prélevé. Il **vérifie** les informations administratives relatives au patient.

Tous les supports (tubes, frottis buccal, etc.) contenant les échantillons à analyser doivent être identifiés **immédiatement après** le prélèvement et **en présence du patient**, en faisant apparaître de **façon lisible** :

- **NOM marital, NOM de naissance et Prénom** du patient (attention aux différences entre prénom usuel et prénom de naissance : préférer toujours celui enregistré sur la carte nationale d'identité),
- **Sexe**,
- **Date de Naissance**.

Tout échantillon transmis sous quelque forme que ce soit doit impérativement être identifié. L'absence ou l'erreur d'identification d'un échantillon constitue un critère de non-conformité tracée dans le système qualité du Laboratoire de Génétique, entraînant systématiquement la non-exécution des actes.

3.3. La transmission des données cliniques

L'ordonnance ou feuille de prescription doit impérativement être complétée en indiquant les éléments suivants :

- **Identité patient**

Afin d'éviter des confusions liées à des situations d'homonymie et permettre d'associer en toute certitude le patient à ses antécédents et à la famille, ces informations sur l'identité du patient sont indispensables:

- NOM marital (mention obligatoire),
- NOM de naissance (mention obligatoire)
- Prénom du patient (mention obligatoire),
- Date de naissance exacte (mention obligatoire),
- Sexe (*mention obligatoire*),
- N° de famille / individu (si connus).

- **Identité prescripteur**

Afin de permettre une diffusion correcte des résultats, il est indispensable de compléter l'ordonnance avec :

- l'identification du prescripteur (nom, prénom, qualité professionnelle et adresse) ; si le prescripteur est un interne, noter le nom du médecin senior responsable),
- la date de prescription et la signature du prescripteur.

- **Informations concernant les analyses**

Le prescripteur indique lisiblement :

- les analyses à réaliser,
- le type de prélèvement à réaliser.

- **Demande d'analyse accélérée**

Pour permettre une prise en charge optimale d'une demande d'analyse rapide, le prescripteur indique clairement sur l'ordonnance ou par courrier le motif (protocole anti-PARP, chirurgie...) et le délai de résultat souhaité transmis par courrier.

Le prescripteur peut utiliser le formulaire de Demande de Diagnostic Moléculaire mis à disposition par le Laboratoire de Génétique.

Le préleveur remplira la Demande de Diagnostic Moléculaire en vérifiant la concordance entre l'identité du patient à prélever et l'identité saisie sur la feuille de prescription avec :

- l'identification du préleveur (nom, prénom et qualité professionnelle),
- la date et l'heure de prélèvement*.

*L'horodatage du prélèvement, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au Laboratoire de Génétique ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

Le préleveur doit informer le Laboratoire de Génétique de tout incident survenu au cours du prélèvement.

L'absence d'un des éléments ci-dessus est un critère de non-conformité de la demande d'examen.

L'identité du patient doit être reportée et cohérente sur tous les éléments transmis (feuille de prescription, Demande de Diagnostic Moléculaire, tubes, etc.).

4. Les prélèvements

Afin d'éviter toute interprétation erronée des résultats d'analyses, il est demandé de respecter les modalités de prélèvement. Elles sont rappelées dans ce Manuel de Prélèvement.

Lorsqu'un examen est prescrit, le préleveur se réfère à la Demande de Diagnostic Moléculaire.

Il y trouve :

- la nature du prélèvement à réaliser en fonction de l'examen,
- le volume souhaité,
- le type de tubes à prélever pour les prélèvements sanguins,
- les conditions de transport et le délai d'acheminement à respecter,
- la liste des numéros de téléphone et mails des biologistes du Laboratoire de Génétique.

Tous les prélèvements correspondant aux examens réalisés par le Laboratoire de Génétique peuvent être réalisés sur un **sujet non à jeun**. Pour les patients en chimiothérapie, il est préférable de prélever en dehors des périodes d'aplasie.

Pour un test prédictif, il est impératif de réaliser 2 prélèvements indépendants pour effectuer 2 déterminations indépendantes, à l'issue desquelles le résultat définitif sera adressé au prescripteur.

La feuille de prescription et l'attestation de recueil du consentement pour les examens des caractéristiques génétiques doivent accompagner le prélèvement.

4.1. La ponction veineuse

- **La préparation du patient**

En premier lieu, **s'assurer de l'identité du patient** et de la conformité des conditions de prélèvement : vérifier son identité et s'assurer de la concordance entre l'identité du patient et celle inscrite sur l'ordonnance ou la feuille de prescription.

Interroger le patient sur les différents points à compléter sur la Demande de Diagnostic Moléculaire. Observer les règles de sécurité et d'hygiène, être respectueux du capital veineux, écouter le patient sur le vécu de ses prises de sang antérieures, et le mettre en confiance. Choisir le bras opposé à la perfusion pour un patient perfusé.

- **La préparation du matériel de prélèvement sanguin**

Sélectionner les tubes de prélèvement en fonction des analyses prescrites. Pour cela, se référer au catalogue des analyses génétiques.

Matériel utilisé (photos non-contractuelles) :



Quel que soit le prélèvement et le matériel à usage unique utilisé, il est important de respecter les bonnes conditions de stockage : 4-25°C à l'abri de la lumière, et vérifier les dates de péremption des tubes et matériel, avant utilisation.

Dans le cas de prélèvements multiples pour analyses différentes, pour éviter toute contamination due aux différents anticoagulants contenus dans les tubes, il convient de respecter strictement l'ordre de remplissage des tubes.

Veiller également à respecter le volume de remplissage des tubes et procéder à une homogénéisation systématique par 6 à 8 retournements lents pour chaque tube. Le non-respect de cette exigence peut entraîner une hémolyse ou un phénomène de coagulation.

Il est strictement interdit de transvaser du sang d'un tube à un autre, même en cas de prélèvement difficile.

S'assurer de l'identité du patient.
Sélectionner les tubes de prélèvement en fonction des analyses prescrites.
Respecter les règles d'hygiène et de sécurité.
Éliminer l'aiguille dans le container spécifique à DASRI.

4.2. Le prélèvement sur tube PAXgene™ Blood RNA

- **Une méthode performante pour l'étude de l'ARN**

Le tube PAXgene™ Blood RNA est conçu pour le prélèvement, la conservation et le transport du sang total, en vue de l'étude de transcrits.

Il contient un additif qui stabilise le profil de transcription de gènes *in vivo* en réduisant la dégradation d'ARN *in vitro* pouvant se produire dans les quelques heures suivant le prélèvement, et en minimisant l'induction de gènes après le prélèvement sanguin. La dégradation et l'induction *in vitro* de l'ARN peut entraîner une surestimation ou une sous-estimation du nombre de gènes transcrits.

Matériel utilisé (photo non-contractuelle) :



Tube PAXgene™ Blood RNA

- **Le prélèvement en quelques points essentiels**

- S'assurer que le tube PAXgene™ Blood RNA est à température ambiante (18-25°C), et qu'il est correctement étiqueté avec l'identification du patient, avant de l'utiliser ;
- Si le tube PAXgene™ Blood RNA est le seul tube à être prélevé, collecter au préalable une petite quantité de sang dans un tube d'amorçage ;
- Suivre les recommandations standards de ponction veineuse en respectant les règles d'hygiène et de sécurité ;
- Pour empêcher le risque de reflux :
 - positionner le bras du patient vers le bas,
 - maintenir le tube PAXgene™ Blood RNA en position verticale en-dessous du bras du patient,
 - s'assurer que les additifs ne touchent pas le bouchon ou l'extrémité de l'aiguille ;
- Attendre au moins 10 secondes afin d'obtenir un prélèvement complet ;
- S'assurer que le sang a cessé de s'écouler dans le tube avant de retirer le tube du corps de prélèvement ;
- Effectuer 8 à 10 retournements lents minimum, pour assurer une bonne homogénéisation des tubes ;
- Conserver le tube PAXgene™ Blood RNA à la verticale et à température ambiante (18 à 25°C) pendant un minimum de 2 heures ;
- Faire parvenir le tube au laboratoire dans les 48h après le prélèvement.

Important :

- Il est important de respecter les bonnes conditions de stockage : température ambiante (18-25°C) à l'abri de la lumière, et vérifier les dates de péremption des tubes et matériel, avant utilisation.

Ne pas utiliser le tube PAXgene™ Blood RNA après la date de péremption. Le Laboratoire de Génétique fournit sur demande les tubes PAXgene™ Blood RNA.

- Le tube PAXgene™ Blood RNA est destiné à prélever 2,5mL de sang : un remplissage insuffisant du PAXgene™ Blood RNA entraîne un ratio sang/additif incorrect, susceptible de fausser les résultats d'analyse ou de nuire aux performances du produit.

S'assurer de l'identité du patient.

Vérifier la date de péremption du tube PAXgene™ Blood RNA.

Respecter les règles d'hygiène et de sécurité.

Conserver le tube à la verticale et à température ambiante pendant un minimum de 2 heures après le prélèvement.

4.3. Le prélèvement buccal sur Carte Indicating FTA® Elute

- **Une méthode de prélèvement non invasive**

La carte Indicating FTA® Elute est une carte imprégnée d'une chimie brevetée. Lorsqu'un échantillon biologique (salive) est déposé sur la carte, cette chimie lyse les cellules et dénature les protéines, tandis que les acides nucléiques sont extraits et protégés dans les fibres du papier. La carte Indicating FTA® Elute est adressée à température ambiante au laboratoire.

La zone de dépôt change de couleur, ce qui permet d'identifier sans ambiguïté l'endroit où se trouve l'ADN, permettant de travailler avec des échantillons incolores.

Matériel utilisé (photos non-contractuelles) :



Carte Indicating FTA® Elute

- **Le prélèvement en quelques points essentiels**

Le prélèvement des cellules buccales est effectué à l'aide de l'applicateur stérile à embout en mousse Whatman™, à l'intérieur de la joue du patient.

- Placer l'embout en mousse dans la bouche puis appuyer doucement le long de la gencive et sous la langue ;
- Une fois l'embout en mousse imbibé de salive, frotter l'intérieur de chacune des joues pendant 15 secondes. **Il est important de veiller à ce que l'embout en mousse soit imbibé de salive au cours de cette étape afin de favoriser le bon transfert des échantillons ;**
- Retirer l'embout en mousse de la bouche ;
- Appliquer l'embout en mousse sur la zone de dépôt de la carte Indicating FTA® Elute ;
- Laisser sécher pendant 1 heure à température ambiante sans refermer la carte ;
- Dès que la carte est sèche, l'échantillon est emballé dans une enveloppe contenant un dessiccant pour le transport ou le stockage à température ambiante.

- **Références des produits pour le prélèvement buccal**

Les références sont données pour le fournisseur Whatman

| Fournisseur | Référence | Produit |
|-----------------|-----------|---|
| Whatman | WB 120411 | FTA Elute indicating Card (Cartes FTA Elute avec indicateur) |
| Dutscher | 036414B | Ecouvillons très larges mousse tige pp sterile x50 |
| Whatman | WB 100036 | Multi-Barrier Pouch, Small (8 x 7 cm) (Enveloppe de stockage) |
| Whatman | WB 100003 | Dessiccant |

4.4 ADN extraits (constitutionnel ou tumoral)

Les analyses peuvent être réalisées sur des acides nucléiques déjà extraits par d'autres laboratoires avant d'être envoyés au Laboratoire de Génétique. Ce type de prélèvement doit toutefois rester exceptionnel.

Dans ce cas, la vérification de la conformité du prélèvement primaire incombe au laboratoire d'origine (identification du prélèvement primaire, adéquation du conditionnement et de l'acheminement du prélèvement primaire, etc.). L'aliquot d'ADN doit être identifié de manière univoque avec une référence permettant au personnel du Laboratoire de Génétique de relier le prélèvement à un patient.

4.5 Bloc d'échantillon tissulaire FFPE (*Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded*)

Les prélèvements tissulaires (biopsies, pièces d'exérèse) à transmettre au laboratoire doivent être fixés et inclus en paraffine.

Le fixateur recommandé est le formol tamponné. La durée de fixation en formol est au minimum de 6 à 8h, avec un temps de fixation optimal recommandé se situant entre 24h-48h. Les fixateurs à base d'alcool ou les substituts du formol et l'AFA, ne sont pas recommandés. Les autres fixateurs, liquide de Bouin et autres fixateurs contenant de l'acide picrique (fixateur de couleur jaune) sont proscrits, car pouvant interférer avec les analyses moléculaires.

Il est recommandé de transmettre un bloc suffisamment riche en matériel tumoral (≥ 20 % de cellules tumorales si possible) 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.

Il est également nécessaire de transmettre une lame colorée standard Hématoxyline-Eosine +/- Safran (HE ou HES) pour la sélection de la zone d'intérêt et la détermination du pourcentage de cellules tumorales. Il est déconseillé de transmettre des lames blanches.

Le bloc doit être identifié de manière univoque avec une référence permettant au personnel du Laboratoire de Génétique de relier le prélèvement à un patient (vérification avec le compte-rendu anatomopathologique initial joint à la demande).

Dans le cas où le Laboratoire de Génétique ne dispose pas de prélèvement sanguin, il est également nécessaire de transmettre un bloc riche en tissu sain et une lame colorée standard.

Les blocs d'inclusion seront restitués de manière systématique à l'issue de l'examen moléculaire.

L'ADN extrait du bloc tumoral est conservé au Laboratoire de Génétique en vue d'une prescription complémentaire ou en cas de nécessité de contrôle ultérieur.

4.6 La mise à disposition du matériel pré-analytique

En dehors des tubes PAXgene™ Blood RNA fournis à la demande du prescripteur, le Laboratoire de Génétique ne fournit pas de matériel de prélèvement : contacter le laboratoire pour plus de précisions, si nécessaire.

Les analyses peuvent être réalisées sur un sujet non à jeun.

Toutes les informations sont nécessaires pour une bonne traçabilité des prélèvements et une interprétation correcte des résultats : il est donc important d'étiqueter les prélèvements et de compléter la Demande de Diagnostic Moléculaire avec attention.

En cas de difficulté rencontrée lors du prélèvement, veuillez noter vos remarques sur la Demande de Diagnostic Moléculaire.

5. L'élimination des déchets

La gestion et l'élimination des déchets doivent être assurées par le préleveur conformément à la législation et réglementation en vigueur [9; 10]. Pour des raisons de sécurité, un tri des **Déchets issus d'Activités de Soins à Risques Infectieux** du fait de la présence potentielle de micro-organismes viables ou leurs toxines (ou **DASRI**), doit être effectué dès leur production.

Sur le site du Centre Léon-Bérard, la procédure *DH/USH/LO/PR/0010_Tri des déchets* s'applique.

5.1. Le tri des déchets

- **Déchets non contaminés et non perforants**

Ces déchets sont assimilables aux ordures ménagères (emballages, papier, carton, etc.) ; ils sont ramassés par la ville.

- **Déchets contaminés et/ou perforants : DASRI**

- **Déchets perforants (aiguilles de prélèvements, etc.) utilisés ou non**

Concerne tous matériels et matériaux piquants ou coupants destinés à l'abandon, qu'ils aient été ou non en contact avec un produit biologique. Ces déchets doivent être placés dans des containers spéciaux en plastique rigide non perforable. Ces containers doivent être systématiquement verrouillés après remplissage.

L'aiguille doit être éliminée dans des boîtes dédiées sans jamais être recapuchonnée. Le personnel du Laboratoire de Génétique réceptionnant les prélèvements ne doit pas être en contact avec des aiguilles décapuchonnées.

- **Déchets non perforants (gants, seringues, etc.)**

Ils doivent être recueillis dans des sacs plastiques (norme NF) ou des cartons avec sacs de couleur jaune avec un marquage indiquant qu'il y a un risque biologique. Sur l'emballage, il doit y avoir l'identification du producteur.

Le stockage et l'enlèvement sont également réglementés [9; 10].

5.2. L'enlèvement et l'élimination des DASRI

Les DASRI doivent être stockés dans un emballage prévu à cet effet et éliminé par un circuit spécifique faisant l'objet d'un contrat avec le préleveur directement.

Les DASRI doivent être éliminés dans des containers comportant une signalétique « risque biologique » et identifiés avec les coordonnées du producteur des déchets. Une fois remplis, ils sont obturés de manière définitive.

Ils suivent une filière d'élimination spécifique qui est de la responsabilité du préleveur. Leur élimination et destruction doivent être tracées.

Au Laboratoire de Génétique, les échantillons biologiques examinés seront traités et éliminés selon la procédure en vigueur, conformément à l'arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires d'analyses où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes [17] et à l'arrêté du 10 juillet 2013 [8].

Les DASRI ne doivent en aucun cas être mélangés et jetés avec les ordures ménagères. Les déchets souillés et/ou perforants doivent être recueillis dans des boîtes à aiguilles ou mini collecteurs. Les déchets non-perforants doivent être recueillis dans des sacs plastiques avec un marquage indiquant qu'il y a un risque biologique. Le stockage et l'enlèvement des DASRI, de la responsabilité du préleveur, sont également réglementés.

6. Le conditionnement, le stockage et le transport des échantillons

6.1. Le conditionnement

Afin de garantir la sécurité du transporteur et des personnes, le transport des prélèvements biologiques humains est soumis à réglementation [7].

Il est impératif d'utiliser du matériel de prélèvement et de conditionnement répondant aux exigences réglementaires, et de respecter l'intégrité des conditionnements.

La réglementation pour le transport de matières infectieuses repose sur les recommandations de l'Organisation des Nations Unies (ONU) [7]. Le conditionnement final des « échantillons prélevés sur des patients » doit répondre à l'Instruction d'emballage P650 en usage, pour le transport de matières infectieuses de la catégorie B attribuées au N°ONU 3373, conformément à l'Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route (ADR).

Les recommandations décrivent les conditions d'emballage, d'étiquetage, les documents d'expédition et les conditions d'acheminement, à savoir entre autres, **triple emballage** et **séparation des documents de transmission dans une poche séparée**, pour éviter le contact avec les liquides biologiques en cas de renversement.

Les échantillons (= emballage primaire) doivent être transportés :

- dans un emballage secondaire (pochette plastifiée ou boîte de transport),
- l'ensemble dans un emballage tertiaire de préférence rigide (boîte spécifique).

6.2. Le stockage

Les conditions de température à respecter pour la conservation des échantillons sont précisées dans le catalogue des analyses génétiques. Sauf indication spécifique, conserver les échantillons à température ambiante.

6.3. Le transport des échantillons

Les modalités de transport doivent être organisées de manière à optimiser les délais et conditions de transport. **Les échantillons sanguins doivent nous parvenir dans les 48h après le prélèvement (délai recommandé).**

Le laboratoire réceptionne les prélèvements **tous les jours aux heures d'ouverture et le vendredi, avant 15h.**

Le transport d'échantillons biologiques doit se faire :

- dans le délai et les conditions décrites dans le catalogue des analyses ;
- dans le respect des règles de sécurité, d'hygiène et de confidentialité en vigueur.

Rappel :

Il est strictement interdit d'envoyer des examens pour deux patients différents dans la même pochette.

Le conditionnement et le transport des échantillons doivent être organisés de manière à optimiser les délais et conditions de transport, dans le respect de la réglementation en vigueur. Les échantillons doivent nous parvenir dans les 48h après le prélèvement (délai recommandé).

7. La réception des échantillons au laboratoire et les conditions d'acceptabilité

7.1. Les modalités de réception des échantillons

A l'arrivée au Laboratoire de Génétique, les prélèvements suivent les étapes de vérification suivantes :

- intégrité de l'emballage,
- identification des échantillons,
- concordance échantillons et prescription transmise,
- respect des conditions et délais de transmission,
- présence de la demande d'analyse et des renseignements.

7.2. Les conditions d'acceptabilité des échantillons

Les échantillons répondant aux exigences décrites dans ce présent manuel sont directement intégrés au processus analytique :

- demande d'analyse complète,
- échantillons correctement prélevés et identifiés,
- conditions et délais d'acheminement respectés.

Pour toute information manquante sur la Demande de Diagnostic Moléculaire, le Laboratoire de Génétique contacte le laboratoire transmetteur pour récupérer l'information.

Si les conditions de prélèvement, l'identification des échantillons ou le délai d'acheminement ne sont pas respectés, le Laboratoire de Génétique déclare une non-conformité dans le système qualité du laboratoire.

7.3. Les critères de rejet des échantillons

Le Laboratoire de Génétique refuse les échantillons et ne peut donc pas réaliser l'analyse prescrite lorsque les prélèvements ne sont pas conformes aux recommandations données par le laboratoire :

- Tube manquant,
- Tube cassé,
- Sang coagulé,
- Tube sans identité ou mal identifié.

Le Laboratoire de Génétique déclare une non-conformité dans le système qualité du laboratoire ; il demande un nouveau prélèvement au prescripteur.

7.4. L'identitovigilance

L'identitovigilance est le fait de s'assurer de l'identité d'un patient avec certitude. Les éléments obligatoires, pour identifier un patient sont :

- NOM marital,
- NOM de naissance,
- Prénom du patient,
- Date de naissance exacte,
- Sexe.

Si un des éléments est manquant, le Laboratoire de Génétique effectuera un suivi pour obtenir l'élément manquant.

Ecarts liés à l'identitovigilance :

- Identité non-concordante,
- Absence d'identité,
- Identité illisible,
- Identité incomplète,
- Identité erronée.

La gestion d'un écart liée à l'identitovigilance est tracée dans le système qualité du laboratoire.

7.5. Le suivi des non-conformités de transmission

Le Laboratoire de Génétique s'engage à avertir rapidement le prescripteur et le préleveur, des non-conformités constatées lors d'une transmission de demande d'examen. Il s'engage à un suivi et à un retour régulier sur les non-conformités de transmission.

En cas de difficultés ou de questions, le Laboratoire de Génétique peut être contacté directement par téléphone pour obtenir des précisions sur les modalités de recueil, conditionnement ou transmission des prélèvements.

7.6. L'accusé de réception des prélèvements

Pour les prélèvements des tests initiaux, un accusé de réception est envoyé au prescripteur informant de la réception du prélèvement, des documents manquants et des éventuels problèmes rencontrés (non-conformités).

Pour les prélèvements des tests prédictifs, le laboratoire n'envoie pas d'accusé de réception dans la mesure où le rendu de résultat est délivré sous 1 mois.

A l'arrivée au Laboratoire de Génétique, les prélèvements suivent des étapes de vérification (demande d'analyse complète, échantillons correctement prélevés et identifiés, conditions et délais d'acheminement respectés). Un accusé de réception du prélèvement est transmis au prescripteur pour les prélèvements des tests initiaux. Les échantillons non-conformes sont tracés dans le système qualité du Laboratoire de Génétique. La gestion des non-conformités non-levées peut entraîner un refus des échantillons.

8. La transmission des résultats

8.1. Avis et interprétation : expertise du biologiste

Le biologiste est le seul interlocuteur pour interpréter les résultats ; il peut faire au prescripteur des commentaires concernant les résultats.

Le biologiste informe le prescripteur ; il peut définir en concertation avec ce dernier des examens complémentaires à effectuer.

8.2. La transmission des résultats : confidentialité et fiabilité

Seul le compte-rendu sur papier à en-tête du Laboratoire de Génétique fait foi.

- **Transmission des résultats au prescripteur**

Conformément à l'arrêté du 27 mai 2013 [3], le compte-rendu est adressé exclusivement au prescripteur ; des règles sont établies afin de préserver la confidentialité des résultats transmis. Le résultat est transmis au patient par le prescripteur.

Les comptes-rendus d'analyses sont systématiquement transmis par courrier interne ou postal, au prescripteur.

A la demande du prescripteur, le compte-rendu peut être transmis à un autre médecin qui sera en charge de la consultation génétique avec le patient.

- **Transmission des résultats au préleveur**

Les résultats ne sont pas transmis au préleveur.

- **Transmission des résultats au patient**

Les résultats ne sont pas transmis au patient.

8.3. Les délais d'obtention des résultats

Etant donné la complexité de l'analyse génétique (approches en biologie moléculaire, plusieurs gènes ou très grande taille du génome à analyser), le délai pour un test initial peut être de plusieurs mois.

Pour un test prédictif, concernant une mutation déjà connue dans la famille, caractérisé par la recherche d'une mutation ciblée, le délai maximum est d'1 mois après réception des deux prélèvements indépendants.

La notion de critère d'alerte n'est pas applicable à ces analyses.

8.4. La facturation/prise en charge

L'acte de prélèvement est pris en charge par la Sécurité Sociale.

Les analyses génétiques réalisées par le Laboratoire de Génétique sont facturées à l'établissement auquel est rattaché le prescripteur selon l'instruction DGOS du 23 février 2018 N° DGOS/PF4/DSS/1A/2018/46 relative aux actes de biologie médicale et d'anatomopathologie hors nomenclatures éligibles au financement au titre de la mission d'intérêt général d'enseignement, de recherche, de rôle de référence et d'innovation G03, aux règles de facturation de ces actes et aux modalités de délégation [18].

Analyse Cas index :

- Panel NGS constitutionnel
 - panel HBOC : entre 20-100kb analysés : **N351** (+/-N906 si interprétation à faire par un laboratoire référent)
 - panel Lynch/Digestif : entre 20-100kb analysés : **N351 + N318** (MLPA PMS2) (+/-N906 Long Range PCR PMS2 si nécessaire).
 - panel cancer gastrique : entre 20-100kb analysés : **N351**
- Panel NGS somatique gènes MMR : **N453 (+ N351** si analyse constitutionnelle réalisée à l'extérieur)
- Recherche par Sanger d'une mutation retrouvée sur un cas index : **N906**
- Recherche par MLPA d'un CNV retrouvé sur un cas index : **N318**

Analyse Apparentés :

- Test prédictif 1 : **N353 ou N906** (Sanger) **ou N318** (MLPA)
- Test prédictif 2 : **N906** (Sanger) **ou N318** (MLPA)

Analyse transcrit :

- Transcrit : **N315**

Aucune facture ne sera envoyée par le Laboratoire de Génétique au patient.

8.5. L'archivage des résultats

Conformément au décret n°2008-321 du 4 avril 2008 [19], les comptes-rendus d'analyses et leur commentaire explicatif sont conservés par le Laboratoire de Génétique pendant une durée de trente ans minimum ; l'archivage de ces résultats est effectué dans les conditions de sécurité et de confidentialité.

Le consentement écrit et les doubles de la prescription de l'examen des caractéristiques génétiques et des comptes-rendus d'analyses commentés et signés, doivent être conservés par le médecin prescripteur dans le dossier médical de la personne concernée, dans le respect du secret professionnel.

9. Les analyses complémentaires

Durant tout le processus d'analyse, de la prise en charge de l'échantillon au rendu du résultat, le Laboratoire de Génétique assure le **stockage des échantillons dans des conditions garantissant leur intégrité**. Ceci permet une éventuelle vérification des résultats et/ou l'ajout d'analyses supplémentaires, à visée diagnostique au bénéfice direct du patient (hors recherche). Par la suite, le Laboratoire de Génétique conserve les échantillons selon les procédures en vigueur, conformément aux dispositions obligatoires du GBEA [6].

Les produits dérivés des échantillons (ADN, ARN) sont stockés jusqu'à épuisement, sans limitation de durée.

En fonction des résultats des examens initialement prescrits, **des analyses complémentaires peuvent être ajoutées** à l'initiative du biologiste. Ces analyses seront, autant que possible, réalisées sur le prélèvement initial dans le respect des conditions pré-analytiques requises ; le cas échéant, un nouveau prélèvement sera demandé.

Tout transfert de ces échantillons vers une autre structure pour la réalisation d'examens complémentaires fera l'objet d'une entente préalable avec le prescripteur de l'examen.

10. Adresse et numéros utiles

Le Laboratoire de Génétique constitutionnelle est ouvert de 8h à 17h30 du lundi au vendredi, les jours ouvrables.

Les prélèvements sont à envoyer à l'adresse suivante :

Dr Qing WANG/Dr Pierre NAIBO

Dr Nadia BOUTRY-KRYZA/Pr Alain CALENDER

**Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents HCL/CLB
Centre Léon Bérard – Bâtiment Cheney B (2^{ème} étage)
28 rue Laennec
69373 Lyon Cedex 08**

Tél laboratoire : 04 78 78 28 28 postes 7329 ou 7742 - Fax : 04 78 78 28 68

Tél Secrétariat : 04 69 85 60 97

Tél : 04 78 78 27 23 qing.wang@lyon.unicancer.fr

Tél : 04 78 78 62 60 pierre.naibo@lyon.unicancer.fr

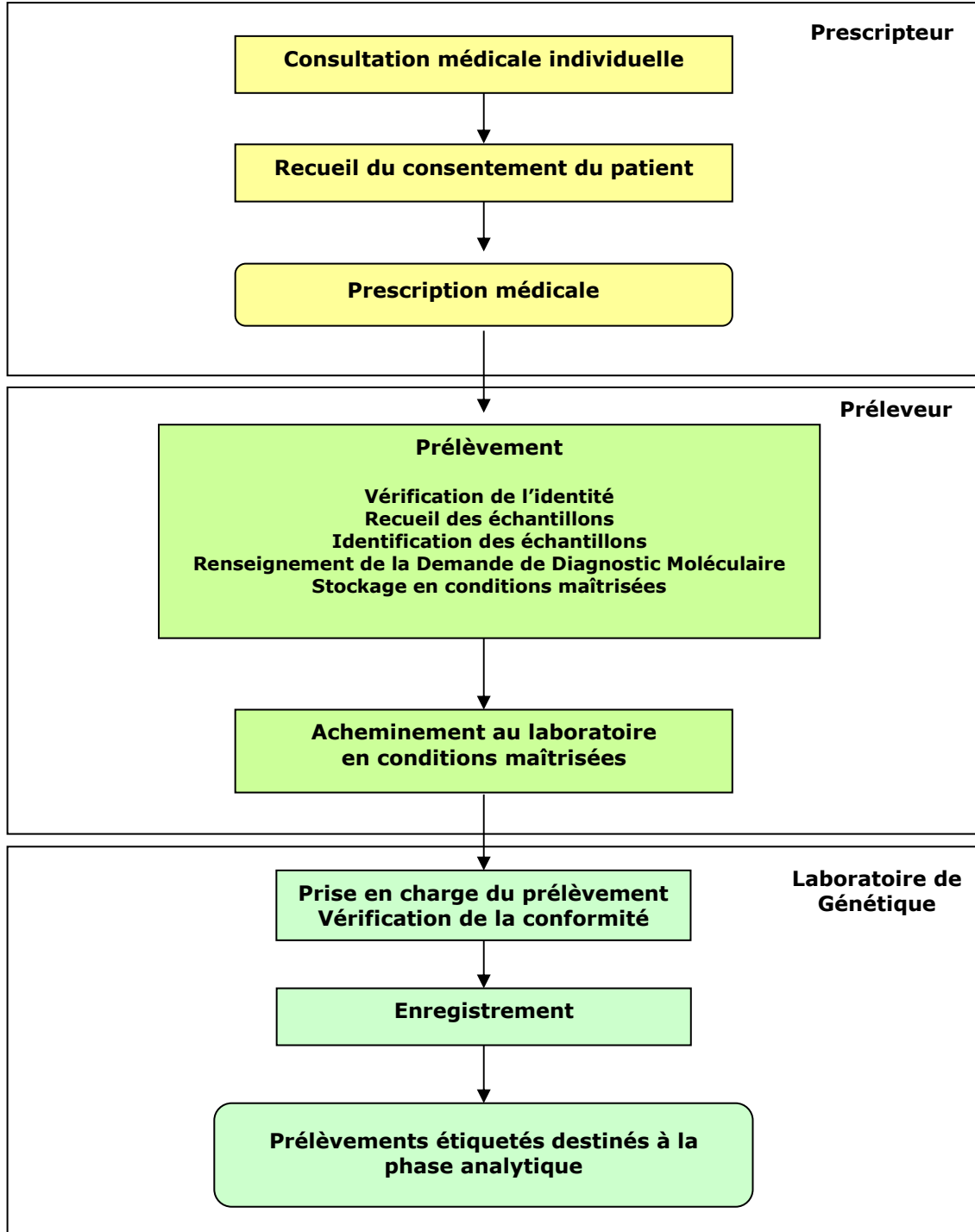
Tél : 04 78 78 29 24 nadia.boutry-kryza@lyon.unicancer.fr

11. Présentation du catalogue des analyses génétiques

Sur la liste des analyses réalisées par le Laboratoire de Génétique, figurent :

- le type de prélèvement en fonction de l'analyse à réaliser,
- le volume d'échantillon à prélever en fonction de l'analyse à réaliser,
- le type de tube à prélever en fonction de l'analyse à réaliser,
- les conditions de conservation et de transport,
- le délai maximum recommandé de transport des échantillons au Laboratoire de Génétique,
- le délai d'analyse des échantillons,
- le biologiste responsable de l'analyse.

DESCRIPTIF DU PROCESSUS DE PRELEVEMENT



Catalogue des analyses génétiques (1)

| Analyse | Prélèvement | Volume | Support | Conditions de conservation * et de transport | Délai de transport recommandé | Délai d'analyse | Biologistes |
|--|---------------------|-------------------------------|--|--|-------------------------------|-----------------|---|
| Test initial Panel Panel Digestif ^A Panel Lynch ^B Panel Gastrique ^C | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 3 mois | Pr Alain PUISIEUX Dr Qing WANG Dr Pierre NAIBO |
| Confirmation Test initial Sanger 2 ^{ème} prélèvement Mutation des gènes MLH1/MSH2/MSH6/PMS2***/POLE/ POLD1 | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| | Prélèvement buccal | | Carte Indicating FTA® Elute | | - | | |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Confirmation Test initial MLPA 2 ^{ème} prélèvement Mutation des gènes MMR/EPCAM/CDH1 | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| Test prédictif Sanger 1 ^{ère} détermination Mutation des gènes MLH1/MSH2/MSH6/PMS2***/POLE/ POLD1/CDH1 | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Test prédictif Sanger 2 ^{ème} détermination Mutation des gènes MLH1/MSH2/MSH6/PMS2***/POLE/ POLD1/CDH1 | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| | Prélèvement buccal | | Carte Indicating FTA® Elute | | - | | |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Test prédictif MLPA 1 ^{ère} et 2 ^{ème} détermination Mutation des gènes MMR/EPCAM/CDH1 | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| Etude de transcrits des gènes MMR | Prélèvement sanguin | 15mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | - | Variable | |
| | | +2 tubes PAXgene™ | tube PAXgene™ | | | | |

Catalogue des analyses génétiques (2)

| Analyse | Prélèvement | Volume | Support | Conditions de conservation * et de transport | Délai de transport recommandé | Délai d'analyse | Biologistes |
|--|---------------------------------------|--------|---------|--|-------------------------------|-----------------|---|
| Etude somatique des gènes MMR † | ADN tumoral | - | - | T° ambiante | - | Variable | Pr Alain PUISIEUX Dr Qing WANG Dr Pierre NAIBO |
| | ADN tissu sain | - | - | | - | | |
| | Bloc FFPE + lames HES et tissu sain** | - | - | | - | | |

(1) tubes EDTA : tubes à bouchon violet

(2) tubes héparinés : tubes à bouchon vert

* Conditions de Conservation avant l'envoi ou si délai nuit/WE

** sauf si le laboratoire dispose déjà d'un prélèvement sanguin du patient

*** toutes les analyses sur le gène *PMS2* se font sur prélèvement sanguin exclusivement quelle que soit la méthode utilisée

† cf *GEN-Annexe-208_Demande d'analyse somatique dans le cadre d'un syndrome de Lynch*

^A **Panel Digestif (GGC)** : gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *POLE* et *POLD1* + gènes complémentaires (*APC*, *MUTYH*, *BMPR1A*, *SMAD4*, *CDH1*, *PTEN*, *STK1*)

^B **Panel Lynch** : gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *POLE* et *POLD1*

^C **Panel Gastrique** : gène *CDH1*

Catalogue des analyses génétiques (3)

| Analyse | Prélèvement | Volume | Support | Conditions de conservation * et de transport | Délai de transport recommandé | Délai d'analyse | Biologistes |
|---|---------------------|-------------------------------|--|--|-------------------------------|------------------------------------|--|
| Test initial Panel Mutation des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D + gènes complémentaires du panel GGC ⁽³⁾ | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | Variable selon indication clinique | Pr Alain CALENDER Dr Nadia BOUTRY-KRYZA |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Confirmation Test initial Sanger 2 ^{ème} prélèvement Mutation des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| | Prélèvement buccal | - | carte Indicating FTA® Elute | | - | | |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Confirmation Test initial MLPA 2 ^{ème} détermination Mutation des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 2 mois | |
| Test prédictif Sanger 1 ^{ère} détermination Mutation des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Test prédictif Sanger 2 ^{ème} détermination Mutation des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 1 mois | |
| | Prélèvement buccal | - | carte Indicating FTA® Elute | | - | | |
| | ADN | - | - | | - | | |
| Test prédictif MLPA 1 ^{ère} et 2 ^{ème} déterminations Mutation des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D | Prélèvement sanguin | 10mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | 2 mois | |
| Etude de transcrits des gènes BRCA1/BRCA2/PALB2/RAD51C/RAD51D | Prélèvement sanguin | 15mL de sang total au minimum | tubes EDTA ⁽¹⁾ ou hépariné ⁽²⁾ | T° ambiante | 48h | Variable | |
| | | +2 tubes PAXgene™ | tube PAXgene™ | | | | |

* Conditions de Conservation avant l'envoi ou si délai nuit/WE

(1) tubes EDTA : tubes à bouchon violet

(2) tubes héparinés : tubes à bouchon vert

(3) Gènes complémentaires du panel GGC : *PTEN, CDH1, TP53, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2* (la détection des mutations dans les régions pseudogéniques n'est pas garantie), *EPCAM* (grands réarrangements uniquement)

Toute autre analyse est réalisée par un laboratoire extérieur. Pour toute question concernant certaines analyses ou procédures à suivre, contacter le laboratoire

Annexe040_V5_Catalogue des analyses du Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents HCL/CLB

Version du 06/06/2019

DEMANDE DE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE

!! A JOINDRE AVEC LE PRELEVEMENT : Renseignements cliniques, arbre généalogique et consentement !!

Cadre réservé au laboratoire de génétique :

PATIENT : (Toutes ces mentions sont obligatoires)

Nom marital : Date de naissance : / /
Nom de naissance : Sexe : Homme Femme
Prénom : N° de Famille/Ind (si connus) :

PRESCRIPTEUR :

Je soussigné, Dr / CG
.....
.....

N° de bon de demande (pour facturation) :

certifie que, conformément au Code Civil (Art. 16-10) et au Code de la Santé Publique (Art. L1131-1), je suis en possession du consentement éclairé signé par le sujet dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques d'une personne.

Date de prescription : / / Signature :

ANALYSE(S) MOLECULAIRE(S) DEMANDEE(S) :

Pour toute demande d'analyse accélérée, merci de mentionner clairement par courrier ou mail le motif et le délai souhaité.

• **Dépistage génétique d'une prédisposition au :**

- Cancer familial du sein et de l'ovaire :**
 - Panel sein/ovaire* (panel GGC HBOC)
 - Commentaire éventuel :
 - Analyse accélérée : Motif : Délai :
 - Tumospéc
- Cancer familial digestif :**
 - Panel digestif complet** (panel GGC Tube digestif)
 - Panel restreint Lynch (HNPCC) Gènes : *MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, POLE, POLD1*
 - Panel restreint cancer gastrique familial Gène : *CDH1*

• **Faire pratiquer au laboratoire d'analyses ou à domicile un prélèvement de :** (Il n'est pas nécessaire d'être à jeun)

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Test Initial / Cas Index | <input type="checkbox"/> Test Prédictif / Apparenté |
| <input type="checkbox"/> 1 ^{er} prélèvement | <input type="checkbox"/> 1 ^{er} prélèvement |
| <input type="checkbox"/> 2 ^{ème} prélèvement (stockage) | <input type="checkbox"/> 2 ^{ème} prélèvement |
| <input type="checkbox"/> Confirmation de mutation | |

- 10 ml de sang total au minimum sur tubes EDTA ou héparinés
- Prélèvement buccal sur papier FTA Elute® (2^{ème} prélèvement seulement, hors recherche grand réarrangement)
- ADN
- Autre :

- Analyse de transcrits** Prélèvement sur 2 tubes PaxGene® + 15 ml de sang total au minimum sur tubes EDTA ou héparinés

• **Mutation à confirmer chez un cas index ou à rechercher chez un apparenté**

Ref. Famille : Gène : Mutation :

Merci de joindre une copie du résultat du cas index ou d'un apparenté muté si la mutation a été identifiée dans un autre laboratoire.

PRELEVEUR :

Nom/Prénom : Date de prélèvement : / /
Qualité : Heure de prélèvement : :

L'acte de prélèvement est pris en charge par la Sécurité Sociale / Les analyses génétiques ne sont pas facturées.

CONDITIONS DE CONSERVATION ET D'ENVOI :

- A température ambiante dans un emballage adapté
 - Par envoi rapide (Il est important que le prélèvement arrive au laboratoire au plus tard **le vendredi, avant 15h**)
- Pour tout renseignement complémentaire, se référer au Manuel de Prélèvement du Laboratoire ou s'adresser au Laboratoire de Génétique.

*cf. Note d'information sur le panel sein / ovaire

** cf. Note d'information sur le panel digestif

NOTE D'INFORMATION SUR LE PANEL

« PREDISPOSITION AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE »

Dans le cadre de la prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire, nous proposons depuis 2017, une analyse par panel de gènes.

L'enrichissement des gènes d'intérêt est réalisée par capture grâce au kit réactif « Hereditary Cancer Solution » commercialisé par SophiaGenetics. Le séquençage est assuré par un séquenceur Miseq (Illumina).

Il existe 2 types de gènes dans ce panel, les gènes dits « de diagnostic » permettant une prise en charge du patient et de sa famille, et les gènes dit « de recherche ».

En première intention, 11 gènes étaient jusqu'à présent analysés : *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *PTEN*, *TP53*, *CDH1*, *MLH1*, *MSH2* et *MSH6*.

Pour être en accord avec les recommandations générales et sur demande de certains prescripteurs, nous allons maintenant rendre les gènes *EPCAM* et *PMS2*, avec cependant 2 particularités :

- Pour le gène *EPCAM*, seuls les grands réarrangements seront rendus. En effet, les délétions de la fin du gène *EPCAM* sont associées au syndrome de Lynch par modification des régions promotrices du gène *MSH2* situé en aval du gène *EPCAM*. C'est alors le défaut d'expression du gène *MSH2* qui entraîne les manifestations cliniques. Les mutations ponctuelles du gène *EPCAM* ne sont pas associées au syndrome de Lynch et ne seront pas rendues dans le cadre du panel HBOC.
- Pour le gène *PMS2*, en raison de la présence d'un pseudogène de forte homologie, certaines régions de ce gène restent difficiles à étudier et nécessitent souvent la réalisation de technique complémentaire afin d'affirmer ou non la présence d'un variant sur le gène. Peu de laboratoire assure ces techniques complémentaires.

Nous estimons pour l'instant que la sensibilité diagnostique de ces régions d'homologie est moins élevée pour ces régions. Nous émettrons donc une réserve sur nos compte-rendus sur ces régions d'homologie du gène *PMS2* en cas de négativité.

En résumé, le panel HBOC (13 gènes) proposé par notre laboratoire se composera désormais de :

1) Gènes diagnostiques

Les gènes accessibles à l'analyse diagnostique se répartissent en 2 catégories :

⇒ **Gènes principaux diagnostiques : *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D***

Nous assurons l'intégralité de l'analyse sur ces gènes (détection de mutations de petites tailles et recherche des grands réarrangements) avec une sensibilité diagnostique au moins équivalente à nos précédentes méthodes.

- Les variants et/ou mutations retrouvés seront confirmés par séquençage ciblé Sanger et l'interprétation sera effectuée au laboratoire.
- En cas d'échec d'analyse ou de couverture insuffisante d'une région, nous nous engageons à compléter l'analyse par d'autres méthodes disponibles au laboratoire (Séquençage Sanger, MLPA).
- En cas de demande d'analyse accélérée, merci de l'indiquer clairement sur la fiche de prescription (délai et motif).

NOTE D'INFORMATION SUR LE PANEL

« PREDISPOSITION AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE »

⇒ Gènes complémentaires : TP53, CDH1, PTEN, MLH1, MSH2, MSH6, EPCAM (grands réarrangements), PMS2

Pour ces gènes complémentaires, l'analyse sera de qualité diagnostique équivalente à la catégorie précédente (excepté les zones pseudogéniques de PMS2) mais :

- Pour les variants et/ou mutations retrouvés : un aliquot d'ADN sera transféré dans le laboratoire référent pour confirmation en séquençage Sanger et interprétation. Nos laboratoires référents pour l'année 2019 sont les suivants :
 - TP53 : Rouen, Pr Frébourg
 - PTEN : Bordeaux, Pr Longy
 - CDH1, MLH1, MSH2, MSH6, EPCAM, PMS2 : Centre Léon Bérard, Dr WangLes comptes-rendus seront transmis directement au prescripteur par ces laboratoires référents.
- En cas d'échec d'analyse ou couverture insuffisante des gènes complémentaires demandés, nous **n'assurons pas** un complément d'analyse en séquençage Sanger.
Les zones non analysées seront indiquées clairement sur le compte-rendu. Nous vous laisserons le soin de décider ou non de demander une nouvelle analyse dans un laboratoire référent. Nous pourrions transférer le matériel biologique sur votre demande.
- En cas de mutations identifiées sur ces gènes complémentaires, les tests prédictifs seront à adresser ensuite directement au laboratoire référent.
- En cas d'urgence pour l'un de ces gènes complémentaires, la demande initiale est à adresser directement au laboratoire référent (notamment pour TP53).
- **En cas de négativité sur le gène PMS2, une réserve sera émise sur la sensibilité diagnostique :**
 - La détection des grands réarrangements des exons 12 à 15 n'est pas réalisée (région de très forte homologie avec le pseudogène, gênant les normalisations).
 - La détection des grands réarrangements des autres exons est possible mais pas garantie
 - La détection des mutations ponctuelles est possible sur l'ensemble du gène mais n'est pas garantie sur les exons de forte homologie avec le pseudogène.

⇒ **Refus possible :**

Nous laissons la possibilité aux patients de refuser un ou plusieurs gènes. Cette information est à indiquer dans la case « Commentaire éventuel » de la fiche de prescription. Ces gènes n'apparaîtront pas sur le compte-rendu final. Cette possibilité doit rester une exception.

2) Gènes dits « de recherche » :

Dans ce panel, sont également analysés des gènes dits « de recherche » :

- | | | |
|---------|-----------|----------|
| - ATM | - BARD1 | - MRE11A |
| - CHEK2 | - BRIP1 | - MYH |
| - NBN | - XRCC2 | - PIK3CA |
| - RAD50 | - FAM175A | - STK11 |

Les données ne sont pas regardées en première intention. Elles sont cependant stockées et disponibles.

Ces données seront utilisables pour des protocoles de recherche clinique, type TUMOSPEC ou autres, selon les modalités des différents protocoles.

**DEMANDE DE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE
PROCESSUS ACCELERE**

PATIENT : (Toutes ces mentions sont obligatoires)

Nom marital :

Date de naissance : / /

Nom de naissance :

Sexe : Homme Femme

Prénom :

N° de Famille/Ind (si connus) :

PRESCRIPTEUR :

Nom/Prénom :

Qualité :

Adresse :

Date de demande : / /

DEPISTAGE GENETIQUE D'UNE PREDISPOSITION AU CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE

Motif de demande d'analyse rapide :

Anti-PARP / OLAPARIB (Cancer de l'ovaire)

Diagnostic initial (date :))

Rémission

Rechute (date :))

Chirurgie

Date Chirurgie prévue :

Traitement en cours : OUI / NON

Si oui, dates de chimio :

Nombre de cures et rythme :

Autres :

.....

Délai de résultat souhaité :

.....

Commentaires :

.....

.....

.....

.....

Merci d'adresser cette fiche complétée

le plus rapidement possible

par fax au **04 78 78 28 68** ou par mail **nadia.boutry-kryza@lyon.unicancer.fr**

NOTE D'INFORMATION SUR LA MISE EN SERVICE D'UN PANEL ELARGI SUR LE SYNDROME DE LYNCH ET LES SYNDROMES ASSOCIES

Suite à l'avancée scientifique et technologique, nous évoluons vers l'analyse d'un panel de gènes élargi dans le cadre de la prédisposition héréditaire au syndrome de Lynch, au cancer gastrique familial et aux cancers digestifs.

1/ LES GENES

Les gènes "diagnostic":

Correspond aux 14 gènes de prédisposition avérés dans les cancers digestifs. Les études épidémiologiques ont montré un risque élevé de cancers associés chez les porteurs de variants pathogènes dans ces gènes. Ils ont été validés par le groupe de génétique de cancer (GGC, Unicancer) en 2017 pour le dépistage des syndromes des cancers familiaux digestifs. Pour ces gènes dits « diagnostic » on distingue les gènes de première intention et les gènes complémentaires.

L'analyse sur les gènes de première intention sera effectuée avec une sensibilité au moins équivalente à celle des méthodes utilisées jusqu'à présent. Nous assurons une couverture complète des séquences codantes et les régions de jonction intron/exon. Les variants de classe 3/4/5 seront confirmés par une méthode indépendante (séquençage ciblé en Sanger ou MLPA) avec l'interprétation biologique.

L'analyse sur les gènes complémentaires s'effectue sur toutes les régions codantes couvertes et les variants de classes 3/4/5 seront confirmés et interprétés par notre laboratoire ou par le soin d'un laboratoire référent. Les régions non-couvertes seront décrites mais pas complétées.

Selon le tableau clinique, les données cliniques et biologiques tumorales (statut MSI, expression des protéines MMR), les gènes "cibles" diagnostique sont les suivants:

- **Cancers digestifs (cas avec présentation familiale atypique d'un syndrome de Lynch) :**
 - o Gènes de première intention : *MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, POLE* et *POLD1*
 - o Gènes complémentaire: *APC, MUTYH, BMPR1A, SMAD4, CDH1, PTEN, STK1*
- **Syndrome de Lynch:** *MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, POLE* et *POLD1* (gènes de première intention)
- **Cancer gastrique familial :** *CDH1* (gène de première intention)

A noter que pour le gène *EPCAM*, seulement des délétions de grande taille sont prises en compte car c'est le seul mécanisme d'altération connu à présent. Pour les gènes *POLE* et *POLD1*, seul le domaine de l'exonucléase (exons 9 à 14 pour *POLE* et exon 7 à 12 pour *POLD1*) est analysée puisque les altérations connues sont localisées exclusivement dans ces régions.

2/ PRESCRIPTION

La modalité de prescription reste inchangée. Les prescripteurs sont invités à sélectionner le groupe de gènes correspondant sur la fiche "Demande de diagnostic". Les consentements recueillis devront faire mention du choix souhaité. En cas de négativité sur les gènes de première intention et après concertation avec les prescripteurs ou selon l'avis RCP, il est possible de lever le filtre, pour révéler les variants de classe 3/4/5 détectés dans d'autres gènes de diagnostic.

3/METHODE D'ANALYSE

Nous effectuons l'analyse avec la méthode d'enrichissement par capture (Sondes Agilent) suivi d'un séquençage MiSeq (Illumina). L'analyse bioinformatique sera assurée en parallèle par le service de bioinformatique du Centre Léon Bérard via l'interface CleanOmics (CLB). Les données seront stockées dans le serveur du CLB.

DEMANDE D'ANALYSE SOMATIQUE DANS LE CADRE D'UN SYNDROME DE LYNCH

Cadre réservé au laboratoire de génétique :

N° identification :

Date de réception : / /

PATIENT : (Toutes ces mentions sont obligatoires)

Nom marital :

Date de naissance : / /

Nom de naissance :

Sexe : Homme Femme

Prénom :

N° de Famille/Ind (si connus) :

PRESCRIPTEUR :

Nom/Prénom :

*Le prescripteur s'assure qu'il est en possession d'un
consentement éclairé si nécessaire*

Qualité :

Adresse :

Signature :

Date de prescription : / /

ANALYSE(S) MOLECULAIRE(S) DEMANDEE(S) :

- Recherche de mutations ponctuelles somatiques dans les gènes **MLH1 / MSH2 / MSH6 / PMS2** et perte d'hétérozygotie (LOH)

Il est indispensable que le laboratoire dispose également du matériel constitutionnel (sang, tissu sain)

PHENOTYPE TUMORAL CONNU :

- Instabilité microsatellite : MSS MSI-H Non interprétable Non réalisé/Non disponible

- Perte d'expression : MLH1 MSH2 MSH6 PMS2 Non interprétable Non réalisé/Non disponible

- Hyperméthylation du promoteur MLH1 : Oui Non Non réalisé

- Présence mutation BRAF : Oui Non Non réalisé

DESCRIPTION DU MATERIEL BIOLOGIQUE TRANSMIS

Tissu tumoral

Tissu sain

Bloc paraffine (si possible, joindre lame HES)

Bloc paraffine (si possible, joindre lame HES)

N° bloc :

N° bloc :

ADN

ADN

N°.....

N°.....

PATHOLOGISTE

Nom/Prénom :

Etablissement :

Estimation rapport cellules tumorales / cellularité de la zone sélectionnée :%

Commentaires :

NOTE D'INFORMATION A L'ATTENTION DES PRESCRIPTEURS/PRELEVEURS RELATIVE A L'ACTE DE PRELEVEMENT DANS LE CADRE D'UNE ENQUETE GENETIQUE POUR CANCERS FAMILIAUX

Les tests génétiques sont prescrits dans l'objectif d'identifier une prédisposition aux cancers familiaux. Ces tests ne peuvent être pratiqués, conformément à la loi de bioéthique, que dans des laboratoires agréés. Ces tests sont proposés soit aux personnes atteintes d'un cancer pour rechercher une mutation dans les gènes concernés responsable de l'hérédité dans la famille (**test initial**), soit aux apparentés de la famille pour connaître leur statut de porteur de la mutation familiale permettant une surveillance adaptée (**test prédictif**).

Notre laboratoire de génétique est agréé pour effectuer les tests génétiques concernant :

- le syndrome familial du cancer du sein et de l'ovaire impliquant les gènes **BRCA1, BRCA2 PALB2, RAD51C, RAD51D** +6 gènes du panel GGC pour les demandes initiales (cf catalogue des analyses),
- la prédisposition héréditaire aux cancers digestifs avec l'étude du panel digestif défini par le Groupe Génétique et Cancer (Panel Digestif GGC),
- le syndrome du cancer colorectal non polyposique (ou HNPCC ou Syndrome de Lynch) impliquant les gènes **MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, POLE et POLD1)** + gènes complémentaires (*APC, MUTYH, CDH1, BMPRIA, SMAD4, PTEN, STK11*) (Panel Lynch),
- le cancer gastrique familial impliquant le gène **CDH1** (Panel Gastrique).

Ces tests se font à partir d'un prélèvement sanguin ou buccal. Pour les patients en chimiothérapie, il est préférable de prélever en dehors des périodes d'aplasie.

Ci-après les consignes à respecter lors de la prescription d'un test génétique et la réalisation du prélèvement.

Informations pour le prescripteur :

Envoyer les documents suivants directement au laboratoire de génétique au préalable, ou les joindre avec le prélèvement :

- la prescription, spécifiant la **nature du test** (initial/prédictif/autre),
- l'attestation du recueil du **consentement** ou le consentement éclairé signé par le sujet dans le cadre de l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne,
- l'**arbre généalogique**,
- les **informations concernant la mutation** (gène, description) à rechercher (photocopie de l'attestation du cas index ou d'un apparenté muté) s'il s'agit d'un test prédictif dont la recherche initiale a été effectuée dans un autre laboratoire.

Remplir la Demande de Diagnostic Moléculaire du laboratoire de génétique ou la Demande d'analyse somatique dans le cadre d'un syndrome de Lynch, en joignant cette note d'information afin que le patient puisse se faire prélever dans le laboratoire d'analyses de son choix.

Informations pour le laboratoire préleveur :

Identification des prélèvements :

Tout prélèvement doit **impérativement** comporter : Nom Marital, Nom de naissance, Prénom, Date de naissance, Sexe, Date et heure de prélèvement. Bien respecter le **type de tube** et la **quantité** indiqués sur la Demande de Diagnostic Moléculaire.

Envoi des prélèvements :

Les prélèvements doivent être envoyés au laboratoire de génétique avec les documents à disposition du patient (voir adresse et conditions de conservation et d'envoi sur la Demande de Diagnostic Moléculaire).

Transmission des résultats :

Le résultat des tests ne sera pas communiqué au laboratoire préleveur ayant effectué le prélèvement. Seul le médecin prescripteur reçoit le compte-rendu.

Facturation / Prise en charge :

L'acte de prélèvement est pris en charge par la Sécurité Sociale.

Les analyses génétiques réalisées par le laboratoire de génétique sont hors nomenclature ; ainsi il ne sera envoyé aucune facture par le laboratoire de génétique, ni au laboratoire préleveur ni au patient.

Critères de refus d'un prélèvement :

L'absence ou l'erreur d'identification du prélèvement ainsi que la réception d'un tube manquant, cassé ou coagulé constituent des critères de refus. Ces prélèvements seront enregistrés avec une non-conformité majeure dans le système qualité du laboratoire qui entraîne la non-exécution des actes.

Pour tout renseignement complémentaire, se référer au Manuel de Prélèvement du laboratoire ou s'adresser au laboratoire de génétique.

ACCUSE DE RECEPTION DU MANUEL DE PRELEVEMENT

Je soussigné(e),

.....
(Nom, Prénom, Qualité, Lieu d'exercice),

reconnais par la présente, avoir reçu et lu une copie du Manuel de Prélèvement (Version 8) du laboratoire.

Je comprends et consens par ailleurs à :

- ce que les prélèvements pour les examens effectués au laboratoire de génétique soient réalisés en respectant les exigences du Manuel de prélèvement tel que défini dans la norme NF EN ISO 15189 et conformément à l'arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales, en ce qui concerne :
 - les conditions de prescription et la transmission des données cliniques ;
 - les conditions d'identification des échantillons, le conditionnement, le stockage et le transport des échantillons ;
- me rapprocher du Laboratoire de Génétique afin de compléter mon information le cas échéant ;
- ce que les prélèvements suivent les étapes de vérification à l'arrivée au Laboratoire de Génétique (demande d'analyse complète, échantillons correctement identifiés, conditions et délais d'acheminement respectés) ;
- ce que les échantillons non-conformes soient tracés dans le système qualité du Laboratoire de Génétique ;
- ce que les comptes-rendus d'analyses soient transmis par courrier postal au prescripteur dans le respect des conditions de confidentialité.

Fait à

Le

Signature

Bibliographie

Le Laboratoire de Génétique a mis en place un système de management de la qualité impliquant un respect strict des procédures de prélèvement et de transmission des échantillons biologiques conformément :

- [1] à la Loi n°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique. JORF n°182 du 7 août 2004.
- [2] à la loi n°2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique. JORF n°157 du 8 juillet 2011.
- [3] à l'arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales. JORF n°130 du 7 juin 2013.
- [4] au décret n° 2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale. JORF n°143 du 22 juin 2013.
- [5] à la Norme NF EN ISO 15189 : 2012 (indice de classement : S 92-060). Laboratoires de biologie médicale. Exigences concernant la qualité et la compétence.
- [6] à l'Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. JORF n°287 du 11 décembre 1999, page 18441 : texte n°4.
- [7] au Guide pratique sur l'application du règlement relatif au Transport des matières infectieuses 2009-2010. Organisation mondiale de la Santé, 2009.
- [8] à l'Arrêté du 10 juillet 2013 relatif à la prévention des risques biologiques auxquels sont soumis certains travailleurs susceptibles d'être en contact avec des objets perforants. JORF n°202 du 31 août 2013.
- [9] aux Articles R. 1335-1 et suivants du Code de la santé publique (anciennement décret n°97-1048 du 6 novembre 1997 relatif à l'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques) et modifiant le Code de la santé publique.
- [10] à l'Arrêté du 6 janvier 2006 modifiant l'arrêté du 24 novembre 2003 relatif aux emballages des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques d'origine humaine. JORF n°17 du 20 janvier 2006, page 915 : texte n°21.
- [11] au Décret n°2004-802 du 29 juillet 2004 relatif aux parties IV et V (dispositions réglementaires) du code de la santé publique et modifiant certaines dispositions de ce code et annexe. JORF n°183 du 8 août 2004, page 37087 : texte n°37086.
- [12] à l'Ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. JORF n°0012 du 15 janvier 2010, page 819 : texte n°43.
- [13] à la Loi n°2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale. JORF n°124 du 31 mai 2013.
- [14] au Décret n°2002-660 du 30 avril 2002 relatif aux conditions de transmission de prélèvements biologiques aux laboratoires d'analyses de biologie médicale et modifiant le décret n°76-1004 du 4 novembre 1976 fixant les conditions d'autorisation des laboratoires d'analyses de biologie médicale. JORF n°102 du 2 mai 2002.
- [15] à l'Arrêté du 20 juin 2003 fixant la présentation de la fiche de prélèvement de biologie médicale prévue au deuxième alinéa de l'article 20-5 du décret n°76-1004 du 4 novembre 1976 modifié fixant les conditions d'autorisation des laboratoires d'analyses de biologie médicale. JORF n°152 du 3 juillet 2003, page 11243 : texte n°36.
- [16] au Décret n°2016-46 du 26 janvier 2016 relatif à la biologie médicale. JORF du 28 janvier 2016, texte n°16.
- [17] à l'Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes. JORF n°179 du 4 août 2007, page 13106 : texte n°22.
- [18] à l'Instruction DGOS du 23 février 2018 *N° DGOS/PF4/DSS/1A/2018/46 relative aux actes de biologie médicale et d'anatomopathologie hors nomenclatures éligibles au financement au titre de la mission d'intérêt général*

d'enseignement, de recherche, de rôle de référence et d'innovation G03, aux règles de facturation de ces actes et aux modalités de délégation.

➤ [19] au 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. JORF n°0082 du 6 avril 2008, texte n°51

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

| Date | N° Version | Modification | Rédacteur |
|----------|------------|--|-------------------------------|
| 26/04/13 | V1 | Création | G. Gouysse |
| 05/09/13 | V2 | Modification volume de sang prélevé pour les analyses des Cas Index | M. Léoné |
| 29/10/14 | V3 | Mise à jour documents législatifs, identitovigilance avec carte nationale d'identité, suppression « Prélèvement en quelques points essentiels » en 4.1, ajout de précisions concernant le prélèvement buccal sur carte FTA, mise à jour coordonnées du laboratoire suite au déménagement. | M. Léoné |
| 10/12/15 | V4 | Ajouts « le résultat est transmis au patient par le prescripteur » dans le §8.2 (Remarque Rapport de l'Inspection ARS du 19/11/2014), « Pour les patients en chimiothérapie, il est préférable de prélever en dehors des périodes d'aplasie » dans le §4 ; Actualisation de la liste des biologistes avec l'arrivée du Dr Adrien Buisson Modification logo CLB. | M. Léoné |
| 17/01/17 | V5 | Ajout du gène <i>PALB2</i> , Ajout de l'analyse somatique dans le cadre d'un syndrome de Lynch Ajout de la portée d'accréditation dans §1, Mise à jour documents législatifs, Ajout de précisions concernant les documents à transmettre dans §3.1, Ajout de la mention de demande d'analyse rapide dans §3.3, Ajout des §4.4 et 4.5, Précisions concernant le caractère obligatoire de l'item « Nom de naissance » dans §7.4. | M. Léoné G. Gouysse |
| 05/10/17 | V6 | Modification du catalogue des analyses (ajout gènes <i>RAD51C</i>, <i>RAD51D</i> +6 gènes du panel GGC pour les demandes initiales), Ajout de l'absence de critère d'alerte dans §8.3, Ajout de la conservation des produits dérivés (ADN, ARN) dans §9, Ajout de la note d'information panel « sein ovaire » V2 | N. Boutry-Kryza A. Buisson |
| 28/06/18 | V7 | Modification de la référence des écouvillons pour le prélèvement buccal dans §4.3, Mise à jour de l' <i>Annexe-033_Demande de Diagnostic Moléculaire</i> , Mise à jour de l' <i>Annexe-034_Note d'information à l'attention des prescripteurs_préleveurs</i> , Ajout de l' <i>Annexe-260_Note d'information panel digestif</i> . | M. Léoné G. Gouysse |
| 17/06/19 | V8 | Mise à jour des contacts (Ajout de Pierre Naïbo, départ d'Adrien Buisson), Mise à jour de l' <i>Annexe-033_Demande de Diagnostic Moléculaire</i> , Mise à jour de l' <i>Annexe-034_Note d'information à l'attention des prescripteurs_préleveurs</i> , Mise à jour de l' <i>Annexe-040_Catalogue des analyses du Laboratoire de Génétique (Ajout des analyses MLPA, de l'analyse du gène PMS2, de l'analyse somatique des gènes MMR à partir d'ADN tumoral tissu sain, de l'analyse des gènes PMS2 et EPCAM dans le panel GGC, et l'analyse à partir d'ADN pour les analyses test initial des gènes MMR/POLE/POLD1/EPCAM + gènes complémentaires (selon prescription) (APC/MUTYH/CDH1/BMPR1A/SMAD4/PTEN/STK11) ainsi que le gène CDH1)</i> , Ajout de l' <i>Annexe-202_Demande de Diagnostic Moléculaire_Processus accéléré</i> , Mise à jour de l' <i>Annexe-205_Note d'information sur le panel_Prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire</i> , Mise à jour de l' <i>Annexe-208_Demande d'analyse somatique dans le cadre d'un syndrome de Lynch</i> , Mise à jour de l' <i>Annexe-260_Note d'information panel digestif</i> , Ajout de la facturation des analyses dans le §8.4 et de la référence [18], Mise à jour des logos HCL et GCS. | M. Léoné G. Gouysse |

| Rédacteurs | Vérificateurs | Approbateurs | Destinataires |
|---|--------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| Nom : Mélanie LEONE Géraldine GOUYSSSE | Nom : Pierre NAIBO | Nom : Qing WANG Nadia BOUTRY-KRYZA | Prescripteurs Préleveurs |
| Date : 17/06/2019 | Date : 11/07/2019 | Date : 11/07/2019 | |