



Guide de bonnes pratiques pour la prise en charge des petits prélèvements de tumeurs broncho-pulmonaires

Hugues Bégueret, François Chomy, François Laurent, Isabelle Soubeyran, Jean-Philippe Merlio, Nadège Brazzalotto, Laurence Digue



Avec le soutien du laboratoire Roche pour la diffusion

- Pour tous les acteurs de la prise en charge et de l'analyse de ces prélèvements
- Analyse du parcours :

Qui ?	Chirurgien Radiologue Pneumologue	Coursiers	Anatomopathologiste « initial »	Anatomopathologiste « de IB ou CHU »	Biologistes Biopathologistes
Où ?	Bloc opératoire ou Etablissements privés / publics	Etablissement de l'intervention ou Intervenants externes	Etablissement de l'intervention ou Laboratoire privé	Etablissement de la PGMC : IB ou CHU	PGMC : IB ou CHU
Quoi ?	Prélèvement <ul style="list-style-type: none"> - Biopsie sous endoscopie endobronchique - Biopsie transbronchique - Ponction transthoracique - Cytoponction médiastinale Fixation dans le formol parfois	Transport du prélèvement	Fixation dans le formol Coloration + coupes blocs pour immunohistochimie +/- biologie moléculaire Stockage blocs	Coupes blocs pour immunohistochimie +/- biologie moléculaire Stockage blocs/lames	Extraction ADN Analyses biologie moléculaire

Identification du parcours du prélèvement broncho-pulmonaire (QQOQCP)

Qui ?	Quoi ?	Où ?	Quand ?	Comment ?	Pourquoi ?
Clinicien	Examiner le patient Prescrire l'imagerie / prélèvement Prescrire l'analyse de bio mol/FISH	Etablissements publics ou privés	Début de la prise en charge	Demande d'analyse moléculaire avec fiche de prescription	Prise en charge du patient
Préleveur (Radiologue Pneumologue)	Prélèver la tumeur Demander à l'anapath "initial" l'envoi du matériel à la PGMC Demander l'analyse à la PGMC par le biais d'une prescription	Etablissements publics ou privés	Sur demande du clinicien	Biopsie sous endoscopie endobronchique/ Biopsie transbronchique / transthoracique/Cytoponct Demande d'analyse	Prélever suffisamment de tumeur pour pouvoir réaliser le diagnostic et les analyses moléculaires
Technicien/Cadre de l'établissement préleveur	Conditionner le prélèvement Effectuer les tech sur le prélév. S'assurer du transport du prélèvement au service anapath	Etablissements publics ou privés	Lorsque le prélèvement est fait	Fixation formol Vérification de la présence du bon opératoire et de la prescription moléculaire	Permettre la bonne fixation de la tumeur (délai et quantité) Respecter les modalités de transport
Coursier	Transporter le prélèvement : - au labo de pathologie - à la PGMC	Etab l'intervention ou externes	Rapidement - après le prélév. - Après l'anapath	Transport avec le bon opératoire + Vérif de la prescription moléculaire	Respecter les modalités de transport d'échantillons humains (température, emballage)
Techniciens du labo anapath « initial »	Effectuer les tech sur le prélév Envoyer le matériel au labo de biopath PGMC pour relecture/avis et pour analyse bio mol/FISH Stocker blocs/lames	Etab de l'intervention ou Laboratoire privé	Après avoir reçu le prélèvement avec les renseignements opératoires et la prescription	Fixation formol Demande d'analyse moléculaire avec une fiche de prescription	Avoir une bonne fixation de la tumeur (délai et quantité) Respecter modalités de transport Faire des coupes fines Bien conserver les blocs/coupes
Anapath du labo de pathologie « initial »	Poser le diagnostic (CR) Demander relecture /avis au service de biopathologie PGMC Demander analyse moléculaire	Etablissement de l'intervention ou Labo privé	Après avoir reçu le prélèvement avec données opératoires Qd coupes/tech faites	Fixation formol Demande d'analyse moléculaire avec une fiche de prescription	Avoir un diagnostic juste
Biopathologistes PGMC (étape 1)	Confirmer la nature du prélév. Interpréter l'IHC Vérifier la prescription Sélectionner la zone tumorale	Etablissement de la PGMC : IB ou CHU	A réception du prélèvement et de la prescription	Selon les procédures mises en place dans les laboratoires PGMC	Contrôler et valider le prélèvement pour l'analyse
Techniciens PGMC	Extraire l'ADN Réaliser coupes pour IHC/FISH Réaliser les analyses moléculaires	Etablissement de la PGMC : IB ou CHU	Après avoir reçu le prélév. sélectionné par le biopathologiste	Selon les procédures mises en place dans les laboratoires PGMC	Réaliser l'analyse dans des conditions optimales
Biopathologistes PGMC (étape 2)	Rédiger le CR d'analyses pour le prescripteur/ pathologiste)	Etablissement de la PGMC	Après la réalisation de l'analyse	Envoi par voie postale et/ou par messagerie sécurisée	Avoir un résultat interprétable dans des délais optimaux

- Pour tous les acteurs de la prise en charge et de l'analyse de ces prélèvements
 - Oncologues
 - Pneumologues, Chirurgiens, Radiologues
 - Cadres, Infirmiers, manipulateurs radio
 - Coursiers
 - Pathologistes et Techniciens
 - Plateforme de génétique moléculaire des cancers



Objectifs

- Décrire les différentes étapes
 - par catégorie professionnelle
 - Onglet par profession
 - avec des recommandations simples
 - basées sur bibliographie et expérience
 - Algorithmes
 - Photographies...
- Mieux utiliser (et économiser) les prélèvements
- Améliorer la qualité du parcours



Oncologues

- Expliquer les principales étapes
 - de l'examen anatomo-pathologique
 - Diagnostic
 - IHC pour ALK, ROS1 (CBNPC NE), PD-L1 (tout CBNPC)
 - à la demande d'analyse à la PGMC (fiche prescription)
- Sensibiliser aux délais
 - AP: 3 à 7 j
 - PGMC: 7 à 14 j
- Mettre en place la messagerie MSSanté (pour résultats en temps réel et sécurisés)



Pneumologues, Chirurgiens et Radiologues

- Idem oncologues +
- Les prélèvements
 - Fibroscopie: 5 biopsies tumorales (*Guvenc 2015*)
 - Transthoraciques: aiguille coaxiale et 3 prélèvements avec angles de tirs et zones différents
- La fixation : immédiate dans formol tamponné à 10% (pas de congélation sanitaire)
- La transmission du prélèvement
 - Identification du patient
 - Site de prélèvement
 - Situation clinique (pathologie métastatique)
 - Date et l'heure du prélèvement
 - Identification du préleveur



En cas de rebiopsie, préciser la nature de la pathologie et les altérations initiales

- La transmission du prélèvement
- **La fixation** : immédiate dans formol tamponné à 10% (pas de congél sanitaire)



Les bonnes pratiques de transport des prélèvements

- Vérifier le bon emballage des prélèvements
- S'assurer :
 - que les prélèvements sont systématiquement accompagnés du bon de demande d'examen
 - qu'ils sont acheminés le plus rapidement possible
 - de leur traçabilité (température, identifiant patient, coordonnées de l'expéditeur et du destinataire...)



- Fixation

- Formol tamponné à 10%
- Durée pour biopsies: minimum 6h/maximum 72h

➡ La qualité du diagnostic dépend du respect des conditions de fixation

- Décalcification si nécessaire

Bain d'EDTA à 10% après fixation dans le formol tamponné neutre à 10%
(Choi, *J Pathol Transl Med.* 2015)

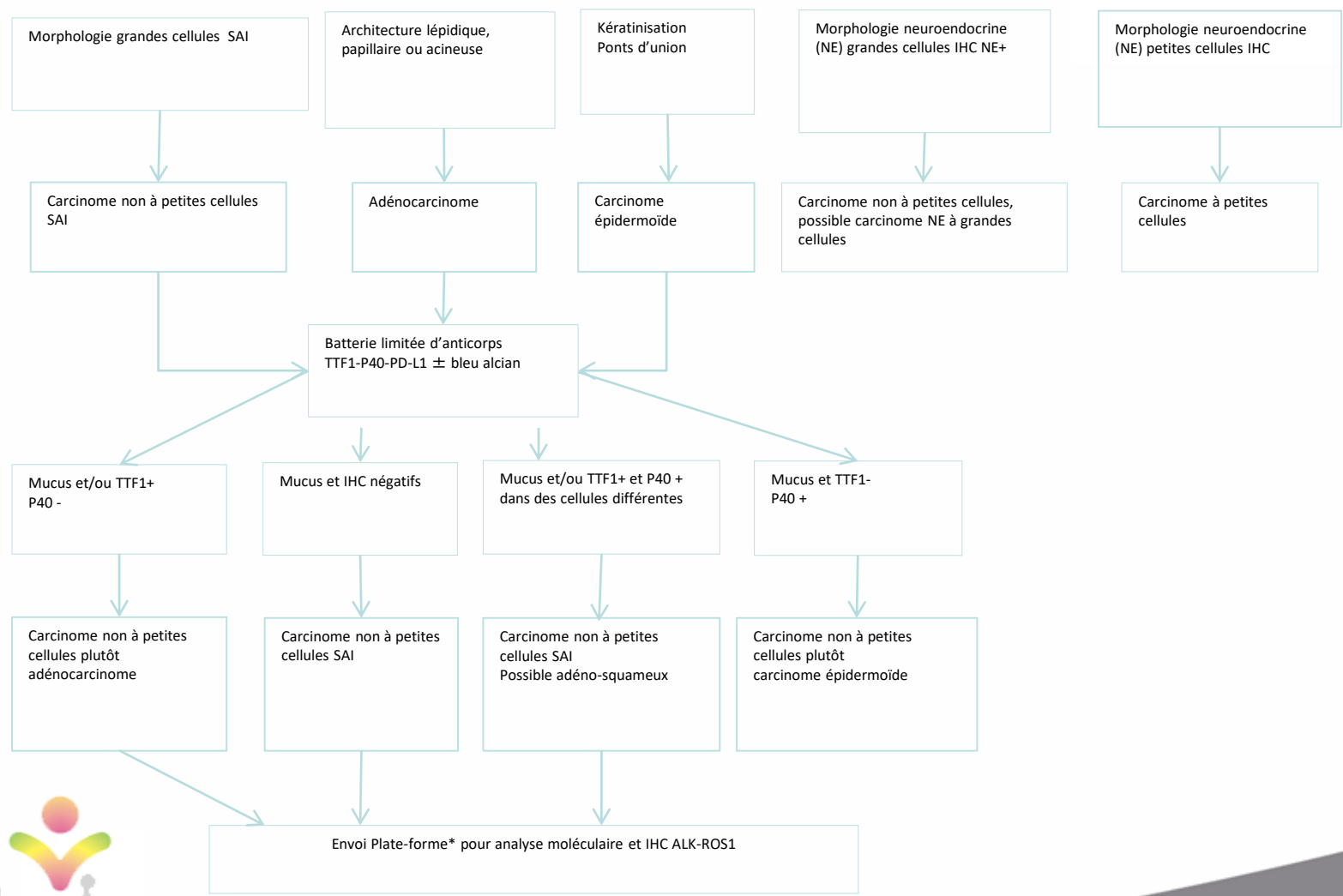


Pathologistes et techniciens : économiser le matériel

- Inclusion des biopsies
 - Mettre 2 à 3 biopsies par bloc (si possible 2 blocs)
- Les coupes
 - Epaisseur 3-4 microns
 - Réaliser 6 lames blanches (dont une pour HES)
 - Economiser le bloc en recueillant 2 niveaux sériés par lame et en utilisant l'ensemble du ruban
- Conservation des lames
 - 2 semaines à température ambiante maximum
 - Si besoin de témoin à long terme (ALK...), enrober les lames en paraffine et conserver à 4° C



Algorithme de prise en charge des petits prélèvements de tumeurs broncho-pulmonaires par le pathologiste



Les techniques HE, BA, TTF1, P40, PD-L1: limiter le nb des IH

Pour tout CBNPC métastatique, le test PD-L1 doit être réalisé systématiquement dès le diagnostic

Merck	Bristol-Myers-Squibb	Merck	Roche	AstraZeneca
Pembrolizumab (anti-PD-1)	Nivolumab (anti-PD-1)	Avelumab (anti-PD-L1)	Atezolizumab (anti-PD-L1)	Durvalumab (anti-PD-L1)
DAKO VENTANA	DAKO	DAKO	VENTANA	VENTANA
22C3 ou SP263	28-8	73-10	SP142	SP263
Scoring sur CT	Scoring sur CT	Scoring sur CT	Scoring sur CT + CI	Scoring sur CT
AMM 2ème ligne : PD-L1 ≥1% AMM première ligne : PD-L1 ≥ 50%	AMM en 2ème ligne Pas de testing pour la prescription	Pas d'AMM	Pas d'AMM	Pas d'AMM

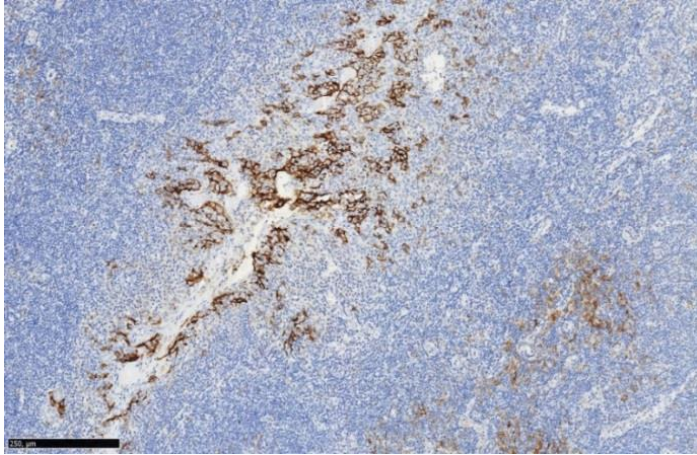


CT : cellules tumorales

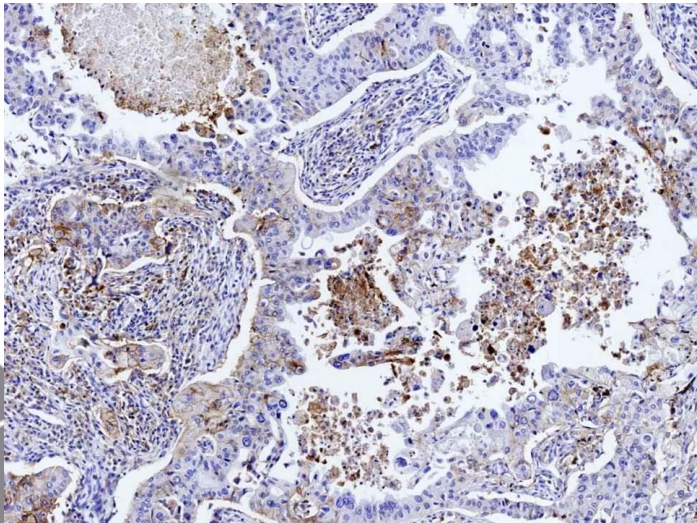
CI : cellules immunitaire

Amygdale

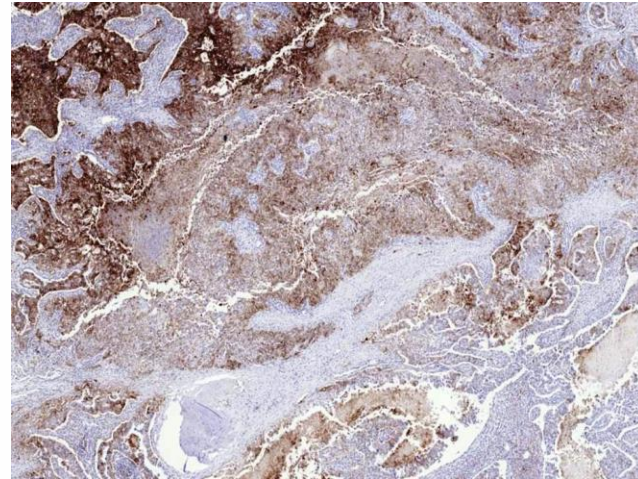
Marquage des cellules épithéliales des cryptes et des macrophages au niveau des centres germinatifs



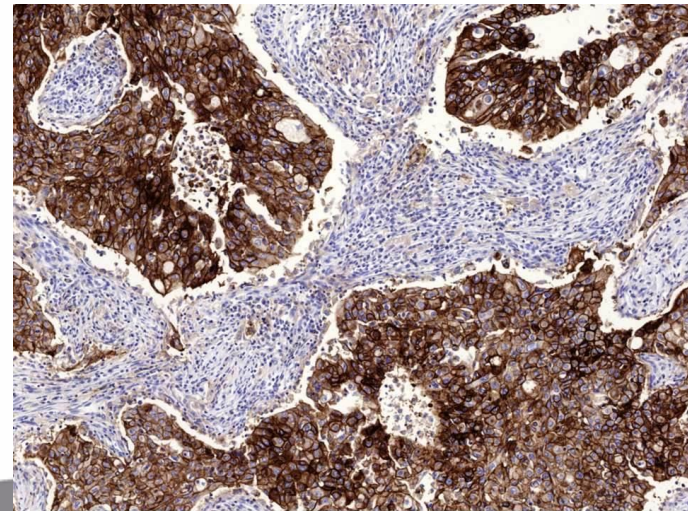
Fort expresseur (PD-L1 > 50%)



Marquage hétérogène au sein de la tumeur



Faible expresseur (PD-L1 ≥ 1 - $\leq 49\%$) (marquage non spécifique par la nécrose tumorale)



Pour tout CBNPC non épidermoïde, avancé ou métastatique, le test ALK doit être réalisé systématiquement dès le diagnostic

- Anticorps anti-ALK recommandés
- Interprétation
 - Le marquage est cytoplasmique, en général diffus dans la quasi-totalité des cellules tumorales
 - Marquage plus faible dans les adénok mucineux (risque de faux -)
 - Témoin externe positif sur chaque lame
 - Scoring de l'intensité du marquage : 3+; 2+; 1+
 - Les cas douteux en IHC (1+ et 2+) doivent être contrôlés par technique FISH
- Participer régulièrement à des programmes d'évaluation externe de qualité

Pour tout CBNPC non épidermoïde, avancé ou méta, le test ROS1 doit être réalisé systématiquement dès le diagnostic

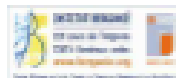
- Anticorps anti-ROS1 recommandés
- Interprétation
- Participer régulièrement à des programmes d'évaluation externe de qualité



- Conditions d'envoi du matériel :
 - Bloc FFPE (riche en cellules tumorales) + Lame HES + CR initial + Fiche de prescription (courrier inutile)
 - ⇒ <http://www.canceraquitaine.org> onglet PGMC
 - Indiquer le prescripteur (cf. circulaire de facturation des actes RIHN)
- Conditions d'acceptation d'analyses
 - Conformité du matériel, de la prescription, des analyses demandées
 - Matériel suffisant sur la lame et bloc (10%)



Fiche de prescription



PRESCRIPTION D'ANALYSE PGMC⁺ - INCa



Partie à remplir par le médecin prescripteur et à transmettre au pathologiste

Identification MEDECIN PRESCRIPTEUR

(ou tampon)

Nom, coordonnées :

Tel :

Fax :

Signature :

Identification PATIENT (ou étiquette)

NOM D'USAGE [_____] SEXE M F

NOM DE FAMILLE* [_____]

* nom de naissance ou patronymique

PRENOM DE L'ETAT CIVIL [_____]

NE(E) LE [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

ADRESSE [_____]

[_____]

CP [_____] VILLE [_____]

Type de tumeur :

Mélanome

Tumeur cérébrale

Tumeur conjonctive

Tumeur colorectale

Tumeur pulmonaire non épidermoïde non à petites cellules

Autre : _____ (Pour les demandes spécifiques cancer du sein, BRCA, ADN circulant ou ACS-é moléculaire, utiliser les fiches spécifiques : www.canceraquitaine.org/plateforme-de-genetique-moleculaire-des-cancers)

Indications d'analyse : primo-détermination ou détection de mutation de résistance

Date de la prescription : ____ / ____ / ____

Type tumoral : stade avancé ou métastatique oui non

Référence du prélèvement : n° _____ date : _____

Analyse demandée : EGFR RAS BRAF KIT ALK HER2 RER/MSI** Autre : _____

**Si demande pour RER/MSI colon ou Lynch, cocher ci-dessous sinon cf. feuille de prescription ACS-é pour autre demande RER/MSI :

Recherche à visée diagnostique

Agé de moins de 60 ans sans antécédent (IHC ou BM)

Antécédents personnels et/ou familiaux évocateurs d'un syndrome de Lynch quelque soit l'âge / demande des services d'oncogénétique (IHC+BM)

Recherche à visée thérapeutique

Colon Stade 2 nécessitant chimio Stade avancé/métastatique (IHC ou BM)

- Détermination du statut ALK et ROS1 (+ PDL-1)
 - IHC ALK si positif 3+ : suffisant pour thérapie ciblée
 - IHC ALK positive 1+ ou 2+ : faire FISH
 - IHC ROS1+ : faire FISH
- Alternative: détection des transcrits de fusion par NGS
 - En cours de validation sur petit matériel
 - Nécessite une extraction ARN supplémentaire
- Délai de réalisation: 3 à 7 jours (si IHC puis FISH)



Conclusions

- Guide en cours de finalisation
- 500 exemplaires prévus
- Distribution gratuite

Conclusions

Coursiers

- Les bonnes pratiques de transport des prélèvements P. 32

Pathologistes et techniciens

- 1. Analyse HER2, des délais minimums à respecter ... P. 36
- 2. La fixation P. 37
 - A. Les délais de fixation P. 37
 - B. Le volume de fixateur P. 41
 - C. Le choix du fixateur P. 41
- 3. La préparation des lames P. 42
 - A. Nombre de blocs de paraffine nécessaires P. 42
 - B. Les coupes P. 42
 - C. La conservation P. 42
- D. Le prétraitement P. 43
 - a. Le déparaffinage P. 43
 - b. Le démasquage P. 43
- E. La dilution des anticorps P. 43
- 4. La problématique des prélèvements de fin de semaine P. 44
- 5. L'utilisation de témoins P. 45
- 6. La détermination du statut HER2 P. 46
- 7. Les sources d'erreur d'interprétation P. 48

Oncologues

Radiologues

Chirurgiens, chefs de blocs,
assistants opératoires, Ibodes

Coursiers

Pathologistes
et techniciens

Conclusions

- Guide en cours de finalisation
- 500 exemplaires prévus
- Distribution gratuite

- Ne pas hésiter à être relecteur
- 2^e phase : Dimension Nouvelle-Aquitaine ?

