



## AmpliSeq Focus Panel – Préparation et envoi des échantillons

Afin d'obtenir des acides nucléiques dont la qualité permet de garantir les résultats de l'*AmpliSeq Focus Panel*, il est important de respecter les conditions adéquates de l'**étape pré-analytique**, en particulier celles concernant la fixation et la préparation des échantillons.

### 1- Fixation:

Seule la fixation au **formol à 10 %** neutre tamponné durant 24 à 72 heures permet la préservation des acides nucléiques. Les autres fixateurs peuvent entraîner des faux négatifs et ne sont pas acceptés (liquide de Bouin/Hollande, B5, AZF, décalcification acide, etc). La sous ou la sur-fixation peut entraîner des résultats non optimaux.

### 2- Coupes au microtome:

Elles nécessitent un matériel propre afin d'éviter les contaminations croisées et les RNases. Le matériel à usage unique ou des pinces à bouts lisses nettoyés avec des anti-RNases (par exemple RNase Away™) sont encouragés.

- 1) Porter des gants et les changer fréquemment, en particulier entre les échantillons
- 2) Changer la lame du microtome pour chaque cas
- 3) Utiliser un matériel propre pour transférer les coupes (aiguille stérile pour transférer les *scrolls* dans le tube Eppendorf 1.5 ml)
- 4) Utilisation d'une plaque chauffante ou d'un bain marie propre (pour les lames non colorées)
- 5) Le matériel de support (lames, tubes) doit être correctement étiqueté (2 identifiants requis)

### 3- Préparation des échantillons:

Type	Instructions
Coupes FFPE*	<p>≥ <b>10% de cellules tumorales</b> sur l'ensemble de la surface de l'échantillon est nécessaire (proportion de cellules tumorales viables sur l'ensemble des cellules nucléés).</p> <p>1) <b>10 coupes</b> à 5-µm (minimum 5 coupes) dans un tube Eppendorf de 1.5 ml</p> <p>2) <b>1 lame H&amp;E</b></p>
Lames blanches (non colorées) FFPE	<p>Indispensable pour la macrodissection quand les <b>cellules tumorales &lt;10%</b></p> <p>1) <b>6 lames blanches étiquetées</b> à 5-µm d'épaisseur, non chauffées</p> <p>2) <b>1 lame H&amp;E</b>, la région tumorale entourée si les cellules tumorales &lt;10%</p>

\*FFPE: block de tissue fixé et inclus en paraffine. Si le % tumoral est supérieur à 10%, les scrolls sont préférés

Revisé par Dr. Gomez 23-10-26



## AmpliSeq Focus Panel – Informations sur l'analyse

### Indications

L'analyse permet de détecter la présence d'anomalies génomiques, ayant un rôle diagnostique, pronostique ou prédictif pour certaines thérapies ciblées dans un certain nombre de tumeurs solides (broncho-pulmonaire, colorectal, mélanomes, etc).

### Méthodologie

L'*AmpliSeq Focus Panel* est un test de séquençage ciblé de nouvelle génération permettant l'analyse des régions dites "*hotspot*" dans 52 gènes d'intérêt pour les tumeurs solides. Ce panel permet l'étude simultanée et dans une même technique d'altérations génomiques associées aux tumeurs solides les plus fréquentes (broncho-pulmonaires, colorectales, etc). L'analyse parallèle de l'ADN et de l'ARN permet la détection des diverses altérations incluant : 1) des variations ponctuelles (SNV), 2) des petites insertions / délétions (indels), 3) des amplifications (augmentation du nombre de copies des gènes), et 4) des fusions de gènes. La liste des gènes analysés est détaillée ci-dessous. Merci de contacter le laboratoire pour toute information complémentaire.

### Liste des gènes

ADN (variations " <i>hotspot</i> " et *amplifications)				
AKT1	EGFR*	FGFR4*	JAK3	MYCN*
ALK*	ERBB2*	GNA11	KIT*	NRAS
AR*	ERBB3	GNAQ	KRAS*	PDGFRA*
BRAF*	ERBB4	HRAS	MAP2K1	PIK3CA*
CCND1*	ESR1	IDH1	MAP2K2	RAF1
CDK4*	FGFR1*	IDH2	MET*	RET
CDK6*	FGFR2*	JAK1	MTOR	ROS1
CTNNB1	FGFR3*	JAK2	MYC*	SMO
DDR2				

ARN (fusions)				
ABL1	EGFR	ETV5	NTRK1	PPARG
ALK	ERBB2	FGFR1	NTRK2	RAF1
AKT3	ERG	FGFR2	NTRK3	RET
AXL	ETV1	FGFR3	PDGFRA	ROS1
BRAF	ETV4	MET		

### Interprétation

Seules les altérations avec une signification clinique reconnue de nature diagnostique, thérapeutique ou pronostique sont rapportés (Tier I et II; PMID: 27993330). Des résultats additionnels peuvent être fournis à la demande.

**Note:** Les grandes délétions ne sont pas détectées.

### Types d'échantillons acceptés

- Pourcentage de cellules **tumorales**  $\geq$  10%. L'information doit absolument nous être transmise, pour attester la validité du test.

- Matériel (cellulaire ou tissulaire), congelé ou fixé et inclus en paraffine (FFPE)

- Pour le FFPE: RUBANS OU LAMES BLANCHES uniquement seront acceptés

- Lames blanches: minimum de 5 coupes de 5  $\mu$ m d'épaisseur sur des lames de verre non traitées par la chaleur et non chargées, avec 1 lame H&E (indiquant la zone tumorale d'intérêt si une procédure de macrodissection est envisagée).

La procédure est détaillée dans le document de préparation d'échantillons.

### Limites

L'interprétation des résultats doit être faite en **connaissance de l'ensemble du contexte clinique, radiologique et histologique**. Si les résultats obtenus sont incohérents ou si vous avez de nouvelles informations pertinentes, merci de bien vouloir contacter le laboratoire dans les plus brefs délais pour une mise à jour de l'interprétation.

Les résultats peuvent être compromis si les procédures recommandées de préparation tissulaire n'ont pas été suivies.

Un résultat négatif n'exclut pas de façon formelle la présence d'une altération mais peut être lié aux limites de détection de ce test (% insuffisant de cellules tumorales par exemple).

De rares polymorphismes peuvent être présents et peuvent conduire à des faux négatifs ou positifs.

**Délai des résultats:** 10 jours ouvrables

Revisé Dr Gomez 23-10-26