

BRCA Tumour Panel – Préparation et envoi des échantillons

Afin d'obtenir des acides nucléiques dont la qualité permet de garantir les résultats de le *BRCA Tumour 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
Scrolls FFIP*	Le CCT est le nombre de cellules tumorales nucléées viables proportionnellement au nombre total de cellules. <ul style="list-style-type: none"> • ≥ 10% de contenu en cellules tumorales (CCT) sur toute la surface coupée est requis • 10 scrolls à 10 µm (minimum 5 rouleaux) dans un tube Eppendorf de 1,5 ml avec 2 identifiants de patients doivent être soumis. • 1 lame H&E
Lames blanches (non colorées) FFIP*	Requis pour la macrodissection lorsque le CCT global est <10 % <ul style="list-style-type: none"> • 6 lames blanches étiquetées à 10-µm d'épaisseur, non chauffées • 1 lame H&E, la région tumorale entourée si le CCT est <10%

(*)FFIP: block de tissu fixé en formol et inclus en paraffine.



BRCA Tumour Panel – Information sur l'analyse

Indications

Cette analyse détecte les anomalies génomiques des gènes *BRCA1* et *BRCA2* qui peuvent rendre le patient éligible à une thérapie ciblée avec des inhibiteurs de PARP. Cette analyse peut être demandée pour les patients atteints des types de tumeurs suivants:

- Sein (triple négatif, HER2 négatif, ER+ à haut risque, gBRCA-positif*)
- Ovaire (non mucineux de haut grade)
- Prostate (résistant à la castration)
- Pancréas (tous)

*Patients présentant une variation pathogène germinale du gène *BRCA1/2*

Méthodologie

Le *BRCA Tumour Panel* est un panel ciblé de séquençage de nouvelle génération pour l'analyse de l'entier des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Ce test analyse uniquement l'ADN et peut détecter plusieurs types d'altérations, notamment : (i) les variations de nucléotides simples (SNV), (ii) les petites insertions/délétions (indels), (iii) les variations du nombre de copies (délétions et duplications).

Gènes Testés

- *BRCA1*
- *BRCA2*

Interprétation

Seules les variations classées comme pathogènes ou probablement pathogènes selon les critères modifiés de l'ACMG sont rapportés (PMID : 25741868, <https://cspec.genome.network/cspec/ui/svi/affiliation/50087>). Des résultats additionnels peuvent être fournis à la demande. Ce test ne permet pas de déterminer avec certitude si une variation est présente dans la lignée germinale ou limitée à la tumeur.

Types d'échantillons acceptés

- **Pourcentage de cellules tumorales $\geq 10\%$** est requise. Cette information est obligatoire pour évaluer la validité du test.
- **Rubans** ou **lames blanches** provenant d'échantillons fixés au formol et inclus en paraffine (FFIP) (cytologie ou histologie) sont acceptés.
- Les blocs FFIP ne sont PAS acceptés
- Rubans : **Dix** rubans à **10 μ m**
- Lames blanches: minimum de 5 lames étiquetées de 10 μ m d'épaisseur sur des lames de verre non traitées par la chaleur et non chargées, avec 1 lame H&E (la zone tumorale doit être délimitée avec un marqueur permanent si une macrodissection est nécessaire).
- La procédure complète est détaillée dans le document *Preparation and Shipping Guidelines*.

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).

La détection des CNV ne peut être garantie si le pourcentage de cellule tumorale est $<40\%$.

Délai des résultats: 4-6 semaines