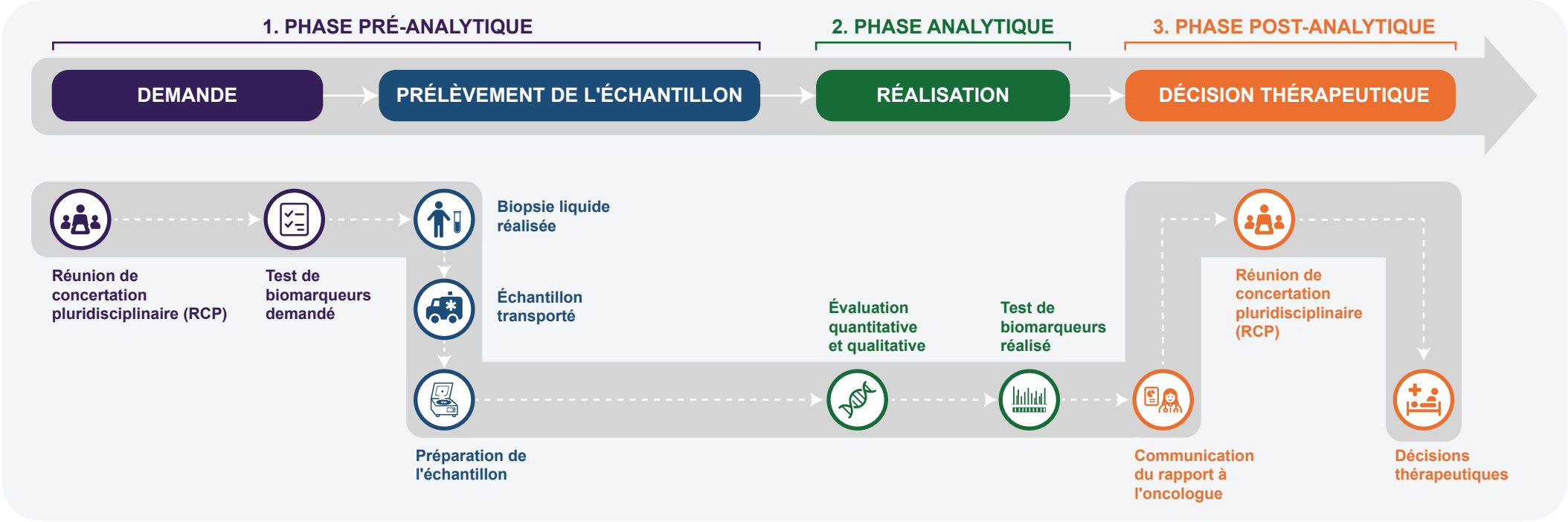
CHAMP D'APPLICATION

Procédure standardisée pour la gestion de la biopsie liquide (LBx), structurée selon les phases pré-analytique, analytique et post-analytique, et basée sur les bonnes pratiques établies pour optimiser la détection des variants génétiques associés à la réponse aux thérapies moléculaires ciblées.

La LBx représente une approche minimale invasive pour la médecine de precision en oncologie, permettant l'identification et la surveillance dynamique des variants génomiques associés à la fois à la réponse aux thérapies ciblées et à l'émergence d'une résistance à ces traitements. Son utilité clinique, dépend de la qualité et de la standardisation de l'ensemble des différentes étapes, du prélèvement sanguin jusqu'au rapport final. Dans ce contexte, une collaboration étroite et bien coordonnée entre les pathologistes, les différents professionnels des services cliniques et des laboratoires et les oncologues est essentielle afin de garantir une sélection appropriée des tests réalisés, une manipulation optimale des échantillons, des performances analytiques robustes et une interprétation clinique précise des résultats conduisant à une prise de décision thérapeutique optimale et adaptée à chaque patient.

Les étapes clés de ce flux de travail et le rôle de l'équipe multidisciplinaire (EMD) sont illustrés à la Figure 1.



1. PHASE PRÉ-ANALYTIQUE

1.1. Identification du patient

- ☐ Utiliser au moins deux identifiants uniques (par ex. nom, prénom, code fiscal)
- ☐ Vérification de l'identité lors de la réception de la LBx au laboratoire
- ☐ Inclure un bref résumé clinique dans le formulaire de demande (par ex. patient atteint d'un cancer du poumon après un traitement de première ligne avec un inhibiteur de l'EGFR, ou patiente atteinte d'un cancer du sein après un traitement de première ligne avec un inhibiteur de CDK4/6 plus un inhibiteur de l'aromatase)
- ☐ Obtenir le consentement éclairé du patient

1.2. Prélèvement de l'échantillon

- ☐ Sang périphérique prélevé par ponction veineuse (4-10 mL par tube) — 10-20 mL de volume total recommandé
- ☐ Immédiatement après le prélèvement, les tubes doivent être très doucement inversés 8 à 10 fois pour assurer un mélange adéquat avec le réactif de stabilisation.
  - ☐ Les tubes avec stabilisateurs pour l'ADNtc/ARNtc sont préférés (par ex. Streck Cell-Free BCT ou PAXgene Blood Tubes)
- ☐ Alternativement, **si des tubes EDTA** sont utilisés, effectuer la séparation du plasma **dans les 2 heures suivant le prélèvement**, comme décrit à la section 2.1

1.3. Transport et conservation

- ☐ Température contrôlée : 18–25 °C
- ☐ Transport dans les 24-48 heures des tubes avec stabilisateur (maximum 72 heures)
- ☐ Maintenir les tubes à la verticale pendant le transport à 18-25°C; éviter l'agitation, les températures extrêmes, la lumière directe du soleil, la réfrigération, et ne pas congeler le sang total avant la séparation du plasma.
- ☐ Documentation obligatoire incluse : données du patient, date et heure du prélèvement, type de tube
- ☐ Les échantillons non conformes doivent être signalés et gérés conformément aux procédures de qualité.

1.4. Réception au laboratoire

- ☐ Vérifier l'intégrité du tube et la cohérence des données cliniques
- ☐ Enregistrement dans le LIMS
- ☐ Échantillons non éligibles : suspension et notification

2. PHASE ANALYTIQUE

2.1. Isolement du plasma

- ☐ Centrifugation primaire : 1600–2300g, 10 min, 4°C
- ☐ Deuxième centrifugation pour la purification en utilisant les mêmes paramètres que ci-dessus ou avec une vitesse de centrifugation supérieure
- ☐ Séparation du plasma en évitant la contamination par le culot cellulaire
- ☐ Préparation d'aliquotes de 1,5–2 mL
- ☐ Extraction immédiate des acides nucléiques ou conservation dans des conditions appropriées, comme décrit à la section 2.2

2.2. Conservation

- ☐ Préférée : –80 °C pour le long terme
- ☐ Alternative : –20 °C pour un maximum d'un mois
- ☐ Éviter les cycles répétés de congélation-décongélation
- ☐ Pour les périodes de conservation supérieures à un mois et jusqu'à trois ans, -80 °C est recommandé. Pour une conservation en deçà d'un mois, -20 °C peut être utilisé, en supposant que l'échantillon est considéré comme étant dans un contexte de travail et en cours de traitement actif.

2.3. Extraction des acides nucléiques et contrôle qualité

- ☐ Extraction à partir d'au moins 2 à 4 mL de plasma
- ☐ Les méthodes automatisées sont préférées en raison du temps de manipulation réduit, d'un risque de contamination plus faible et d'une reproductibilité améliorée
- ☐ Quantification par fluorimétrie et PCR en temps réel

2.4 Analyse moléculaire

Principales technologies disponibles pour l'analyse de l'ADNtc :

- ☐ PCR digitale
- ☐ Séquençage de nouvelle génération (large plage de référence et identification de nouveaux variants)
- ☐ PCR en temps réel / PCR allèle-spécifique

3. PHASE POST-ANALYTIQUE

3.1. Validation des résultats – paramètres bioinformatiques NGS

- ☐ Pourcentage de lectures mappées > 95 %
- ☐ Couverture moyenne ≥ 5000x
- ☐ Uniformité de la couverture > 90 %

3.2. Détection et interprétation des variants

- ☐ Fréquence allélique, en considérant la LOD (limite de détection)
- ☐ Utilisation de bases de données cliniques mises à jour (par ex. Varsome, Franklin by Qiagen, OncoKB) pour la classification : pathogène, bénin, VUS
- ☐ Application d'échelles de preuves cliniques (ESMO ESCAT) pour fournir des recommandations thérapeutiques

3.3. Rapport

Doit inclure :

- ☐ En-tête avec les données cliniques et les identifiants du patient/échantillon, et la méthode analytique utilisée
- ☐ Liste des mutations détectées avec la signification clinique et le niveau de preuve correspondants
- ☐ Toute recommandation thérapeutique
- ☐ Limites (qualité et quantité d'ADN, sensibilité de la méthode/LOD, faux négatifs possibles)
- ☐ Signature et coordonnées du médecin signataire

4. CONSERVATION DU MATÉRIEL

4.1. Conservation des données et des fichiers

- ☐ Données pseudonymisées
- ☐ Conservation dans des formats standards (PDF, VCF, BAM, FASTQ)
- ☐ Durée de conservation des données:
  - VCF ≥20 ans
  - BAM/FASTQ ≥2 ans

4.2. Réglementations

- ☐ RGPD (Décret législatif 101/2018)
- ☐ Lignes directrices du Ministère de la Santé
- ☐ SIGU
- ☐ ISO 20387

ISLB INTERNATIONAL SOCIETY OF LIQUID BIOPSY

PRECISION CANCER CONSORTIUM

PROCÉDURE DE PRÉLÈVEMENT SANGUIN ET TUBES



- L'hémolyse doit être évitée
- L'utilisation d'aiguilles à ailettes est recommandée
- Mélanger par inversion douce
- 10 mL pour le génotypage
- Jusqu'à 20 mL pour la MRD et en cas de maladie localisée



EDTA

- Traitement rapide entre 2 à 4h

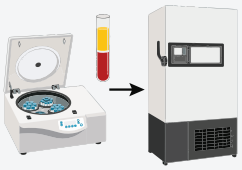


TUBES DE STABILISATION

- Conservation des échantillons jusqu'à 14 jours à TA
- Transport à TA
- Tubes BCT en verre dans des sacs sécurisés

CENTRIFUGATION ET CONSERVATION DU PLASMA

- Protocole de centrifugation en deux étapes
- Première étape à basse vitesse et seconde à vitesse plus élevée
- Freinage léger lors de la première étape de centrifugation



- Conservation à -80 °C
- Les aliquotes de plasma de 300 µL à 2 mL sont préférées
- Les cycles de congélation-décongélation doivent être évités

ISOLEMENT DE L'ADN LIBRE CIRCULANT



- Colonnes à membrane de silice
- Billes magnétiques
- Kits commerciaux disponibles (avec ou sans automatisation)

QUANTIFICATION ET QUALIFICATION



- Dosages basés sur la fluorescence
- Outils basés sur la PCR
- La quantification de la fraction tumorale aide à définir les résultats véritablement négatifs

ANALYSE

REFERENCES (DOIs):

https://doi.org/10.1016/j.bdq.2019.100087
https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2023.102595
https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2024.104427
https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.05.520
https://doi.org/10.1016/j.jlb.2025.100314

ISLB INTERNATIONAL SOCIETY OF LIQUID BIOPSY

PRECISION CANCER CONSORTIUM

Disclaimer

The PCC is a non-profit organization dedicated to driving global access to comprehensive biomarker testing for all patients with cancer. The PCC is composed of and funded by: AstraZeneca, Bristol Myers Squibb, Johnson & Johnson, and Lilly at the time of writing. PCC-338, Date of preparation: November 2026