

Annexe 2 : procédure d'envoi des échantillons biologiques dans les laboratoires de référence

Enregistrement du patient dans RELYE (Réseau des Lymphomes de l'Enfant de la SFCE)

Formulaire d'inclusion du patient à envoyer à nawel.bedjaoui-ext@aphp.fr, accompagnée de la feuille de consentement pour les analyses biologiques. Le centre recevra par retour de courriel les instructions de prélèvement, selon procédure RELYE (cf procédure spécifique).

Analyses biologiques dans les Lymphomes Lymphoblastiques –T

I- Prélèvements sanguins et médullaires pour l'évaluation la MDD (Minimal Disseminated Disease) et la MRD

Des prélèvements sanguins et médullaires sont requis dans le but d'étudier la MDD et la MRD par cytométrie de flux à J0, J8, J33 d'induction et en fin de consolidation (sortie d'aplasie).

Du fait de la rareté de la pathologie, il a été convenu avec le comité lymphome que les prélèvements seraient centralisés à Lyon (Dr Adriana PLESA - Centre Hospitalier Lyon Sud). Si possible, du matériel résiduel sera conservé en culot sec, pour éventuel analyse de la MRD par immunogénétique (ddPCR) à Necker.

Au diagnostic uniquement, il faut également envoyer Sang et Moelle à Necker pour analyse immunogénétique de la MDD.

IMPORTANT : avant le début du traitement

Pour tout J0, contacter le Dr Adriana PLESA du laboratoire du CHLS au 04 78 86 29 79 pour mieux organiser l'envoi des échantillons, en cas d'absence contacter l'ARC de l'IHOP Mme Jung 04 69 16 60 94, le Dr GARNIER 04 69 16 65 71.

Qui prélever ? Tout patient présentant un lymphome lymphoblastique T.

Quand prélever ?

- A J0 (avant le début des corticoïdes) :
 - Sang : 2 à 3 tubes EDTA (10 à 15 ml au total) en fonction du poids du patient
 - Moelle : 1-2 ml sur tube EDTA
- J 8 : 2 à 3 tubes de sang EDTA (10 à 15 ml au total) en fonction du poids du patient
- J 33 :
 - Sang : 2 à 3 tubes EDTA (10 à 15 ml au total) en fonction du poids du patient
 - Moelle (si envahie au diagnostic) : 1-2 ml sur tube EDTA
- En fin de consolidation : Sang : 2 à 3 tubes EDTA (10 à 15 ml au total) en fonction du poids du patient

Conservation :

- Conserver les prélèvements à température ambiante (22°-27°) et à l'abri de la lumière.
- Conservation possible du vendredi au lundi matin.

Envoi :

- Remplir et faxer la feuille de traçabilité des prélèvements au laboratoire d'Adriana PLESA. L'insérer dans la boîte des prélèvements et organiser l'envoi rapidement.
- Adresser les prélèvements à :

Dr. Adriana PLESA, MD
Unité d'Hématologie Cellulaire - Immunophénotypage des hémopathies
Service d'Hématologie Biologique - Bâtiment 3D
Groupement Hospitalier Lyon Sud
165, Chemin du Grand Revoyet
69495 Pierre-Bénite Cedex

Tel: + (33) 478 862 979

Fax: + (33) 478 863 340

email: adriana.plesa@chu-lyon.fr

secrétariat : + (33) 478 861 176

Pièce technique labo immunophénotypage : + (33) 478 861 182

Nota bene :

- Le J0 est possible un vendredi mais il faut envoyer les prélèvements le plus tôt possible pour être réceptionnés à Lyon le samedi. Les tubes seront ainsi techniqués le lundi matin à la première heure. Prévenir le laboratoire d'immunophénotypage du CHLS :
 - soit au **04 78 86 29 79**, numéro direct du Dr Adriana PLESA,
 - soit au **04 78 86 11 82**, numéro des techniciennes d'immunophénotypage.
- Si J8 et J33 tombent le vendredi (ou jour férié), il est préférable de prélever au J7 et J32 en début d'après-midi et d'envoyer les tubes rapidement pour qu'ils arrivent au laboratoire de Lyon le vendredi.

II- Analyse des marqueurs moléculaires pronostiques au diagnostic

De façon parallèle, il faut également transmettre du matériel tumoral

au laboratoire du Pr Vahid ASNAFI à l'hôpital Necker-Enfants-Malades pour analyses moléculaires :

Laboratoire d'Onco-Hématologie
Tour Pasteur 2^{ème} étage
Hôpital Necker Enfants Malades
149 rue de Sèvres, 75743 Paris cedex 15-
Tel : 01 44 49 49 33

Les prélèvements tumoraux, effectués au diagnostic, peuvent être de différente nature : liquides (liquide pleural, péricardique infiltrés c'est-à-dire au moins 50% de blastes) ou tissulaires (masse médiastinale, ganglionnaire).

Les liquides peuvent être envoyés frais dans les 24h ou envoyés congelés après simple rinçage et centrifugation (au moins 10 millions de cellules).

Concernant les tissus, ils doivent être envoyés congelés. En absence du matériel pathologique frais ou congelé, l'ADN extrait de prélèvement FFPE peut être analysé, sous réserve de la qualité des acides nucléiques obtenus. Il est possible de transmettre soit les blocks FFPE, pour extraction à Necker, soit l'ADN extrait localement, avec une préférence pour un transfert du block.

Si l'envoi est constitué d'ADN déjà extrait, il doit contenir au moins 2µg d'ADN (extraction selon la méthode standard).

Merci de joindre à vos prélèvements les comptes-rendus des examens d'anatomopathologie et/ou cytométrie en flux indispensables à la bonne prise en charge des échantillons.

Si vous avez des questions vous pouvez contacter :

chrystelle.abdo@aphp.fr ou elizabeth.macintyre@aphp.fr pour toute question concernant la MDD/MRD ou immunogénétique

vahid.asnafi@aphp.fr ou ludovic.lhermitte@aphp.fr pour toute question concernant l'oncogénétique.

Il est conseillé d'envoyer toute communication concernant les prélèvements aux 4 membres de l'équipe (CA, EM, VA, LL), afin d'assurer un retour optimal.

➤ *Tableau récapitulatif des prélèvements et envois à effectuer:*

	J0	J8	J33	fin de conso
MDD (sang)	X(sang et moëlle) A Lyon et Necker	X(sang) A Lyon	X(sang et moëlle) A Lyon	X(sang +/- moëlle) A Lyon
Prélèvement tumoral au diagnostic	A envoyer à Necker dès que possible			
CRF et autres documents	Fax d'inclusion (consentement anonymisé)		Envoi du début du CRF avec compte-rendus associés anonymisés	