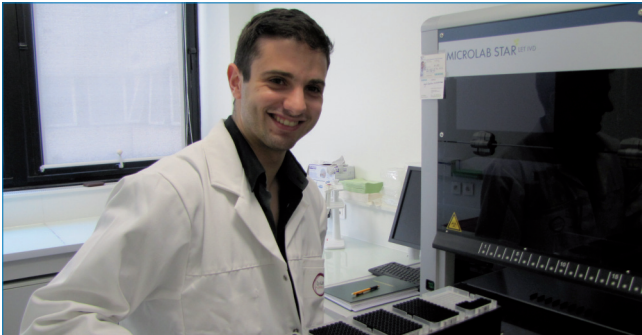


## La solution TPS de Siemens automatise l'extraction d'acides nucléiques sur la plate-forme de pathologie LYSA-P



Filipe Araujo : technicien de laboratoire

**Spectra Biologie :** Nadine Vailhen, vous êtes Directrice des opérations biologiques et histopathologiques au sein du LYSARC. Pouvez-vous nous présenter la plateforme de pathologie LYSA-P du CHU Henri Mondor ?

**Nadine Vailhen :** La plate-forme LYSA-P, dédiée aux lymphomes de l'adulte, réunit les expert anatomopathologistes autour d'une structure opérationnelle pour la relecture centralisée des prélèvements de patients. Elle assure trois missions :

- Valider le diagnostic posé pour tout patient inclus dans les protocoles du LYSA/LYSARC,
- Collecter le matériel tumoral biologique, à la fois inclus en paraffine et congelé, pour disposer d'une banque de tissus tumoraux,
- Mettre en place des projets de recherche biologiques ancillaires pour trouver de nouveaux biomarqueurs et améliorer le pronostic concernant les lymphomes.

La plateforme LYSA-P comprend 6 personnes salariées du LYSARC : 3 techniciens, 2 assistantes administratives, 1 chef de projet technique, et moi-même. La coordination scientifique est assurée par le Pr Thierry Molina, membre du LYSA. Nous travaillons avec un groupe d'une vingtaine de pathologistes reconnus, en France, en Suisse et au Portugal, pour assurer les relectures et les validations des diagnostics.

**Spectra Biologie :** Comment sont mis en place les projets ?

**Nadine Vailhen :** Chaque projet doit être préalablement validé par le Conseil Scientifique du LYSA. Il donne lieu à la mise en place d'un protocole. Notre plateforme est alors impliquée et entre en communication avec les pathologistes qui viennent sur place relire les lames. Chaque cas est relu par au moins deux pathologistes, ce qui garantit la qualité de la relecture au sein de la plateforme. En cas de désaccord sur le diagnostic, un troisième pathologiste est missionné. Nous sommes en cours de mise en place d'une infrastructure qui permettra prochainement une relecture à distance des lames virtuelles.

**Spectra Biologie :** Combien de cas traitez-vous par an ?

**Nadine Vailhen :** Sur l'année 2013, nous avons réceptionné environ 1643 cas ce qui a donné lieu à 14000, techniques et 800 relectures. Nous travaillons sur des essais cliniques internationaux de phases I, II et III. A chaque protocole, pouvant inclure entre 20 et 1000 patients, est affecté un groupe de pathologistes relecteurs, variant entre deux et six, qui

Unique en France, la plate-forme de pathologie LYSA-P du LYSA/LYSARC met à disposition de médecins experts pathologistes les équipements et les compétences nécessaires à la réalisation de nombreuses études translationnelles.

Les responsables de cette structure nous présentent leur activité et les avantages offerts par la solution Tissue Preparation Solution.

définit un panel de techniques à appliquer sur chaque cas en vue de statuer sur le diagnostic.

**Spectra Biologie :** Pouvez-vous nous préciser le mode de recrutement des patients concernés ?

**Nadine Vailhen :** Le LYSARC comprend 130 centres inclueurs. Nous recevons donc des biopsies tumorales d'au moins 130 provenances et plus, état donné qu'un patient peut être suivi à la fois par un cabinet privé ou un centre hospitalier. L'extension internationale des protocoles d'essais cliniques de phase III nous conduit aussi à prendre en charge des prélèvements en provenance de nombreux pays : Portugal, Espagne, Etats Unis, Belgique, Suisse, Japon, Corée.... Nous sommes donc confrontés à une grande diversité de techniques de fixations avec une grande variété de tailles de prélèvements, de temps de fixation et de fixateurs utilisés. Cette difficulté d'adaptation est propre à notre plate-forme, unique de France. Il est d'autant plus important pour nous de disposer de techniques automatisées et fiables.

**Spectra Biologie :** Comment gérez-vous les dossiers des patients inclus dans ces essais cliniques ?

**Nadine Vailhen :** Les cas réceptionnés sont enregistrés dans notre système informatique. Les résultats des relectures et des examens d'immunologie sont saisis. L'objectif est de transmettre une validation diagnostique par type de lymphome, d'avoir une gestion du stock, et de disposer de tous les résultats d'immunologie par patient pour les projets ancillaires. Nous pouvons ainsi interroger le système pour obtenir des informations par population ou par type de lymphome : par exemple, pour les patients âgés de 60 ans atteints d'un lymphome à grandes cellules B, quels sont les résultats histochimiques obtenus sur la plateforme et peut-on améliorer la classification des lymphomes à partir de ces résultats.

**Spectra Biologie :** Comment se déroule l'enregistrement d'un patient ?

**Nadine Vailhen :** Lorsqu'un patient est inclus dans un nouveau protocole, le dossier patient est créé et nous recevons le compte rendu du pathologiste initial qui a posé le diagnostic. Nos assistantes lui demandent alors le matériel par courrier, à savoir la tumeur fixée incluse en paraffine ou les

## Publi-reportage



#### La solution Tissue Preparation Solution.

lames, soit blanches, soit colorées. Nous dépendons de la bonne volonté des centres, publics ou privés, qui collaborent beaucoup avec nous. Nous préférons recevoir le bloc initial, vu la diversité des techniques de préparations auxquelles nous sommes confrontés. Nous conservons ces matériels et les restituons sous 24 heures si les centres en ont besoin. Les patients sont donc inclus après diagnostic et nous recevons le prélèvement avant traitement. A réception, le bloc ou les lames sont identifiés par un numéro unique et associés à une liste de techniques à réaliser.

#### Spectra Biologie : Pouvez-vous nous décrire votre processus analytique pour les relectures ?

**Nadine Vailhen :** La première étape est de couper le bloc au microtome. Les lames blanches obtenues sont passées en coloration pour obtenir des HES (Hémalum-Erythrosine-Safran) et, si nécessaire, des Giemsa. D'autres lames blanches sont traitées sur notre automate d'immunologie pour réaliser des marquages spécifiques avec des anticorps spécifiques destinés à classifier le lymphome. Lorsqu'une trentaine de cas ont été traités avec ces techniques, les relecteurs sont contactés pour intervenir sur ces trente cas selon leurs disponibilités. Au cours de leurs interventions, ils peuvent aussi demander de nouvelles techniques d'immunologie pour compléter leur diagnostic. Le diagnostic final, validé par au moins 2 pathologistes, est enregistré dans notre base de données. Il est communiqué par courrier au pathologiste initial et au clinicien ayant inclus le patient dans l'étude.

#### Spectra Biologie : Une grosse partie de votre activité est constituée de projets de recherche et d'études ancillaires en anatomopathologie. En quoi consistent ces projets ?

**Nadine Vailhen :** Ces travaux sont conduits en étroite collaboration avec les pathologistes qui se regroupent pour mettre en place les projets. L'an dernier, nous avons notamment travaillé sur une étude regroupant plusieurs protocoles d'un même type de lymphome. Nous avons fait une série d'immuno-marquages pour caractériser l'origine cellulaire des lymphomes. Nous utilisons pour cela une technique de Tissue Micro Array (TMA). On vient prélever une carotte de 0,6 ou 1 mm sur le bloc initial que l'on insère ensuite dans un bloc de paraffine vierge. Cette technique nous permet de regrouper une trentaine de patients différents sur un même bloc. Des coupes sont pratiquées sur ce bloc pour obtenir une lame blanche de TMA sur laquelle seront appliqués différents anticorps. Tous ces résultats de projets

ancillaires sont ensuite associés aux résultats cliniques des patients qui sont gérés par une équipe du Lysarc basée sur Lyon.

#### Spectra Biologie : Vous utilisez un extracteur TPS de Siemens. Quelle est l'activité prise en charge par cet équipement ?

**Nadine Vailhen :** Il entre en jeu dans les projets anapath ancillaires pour lesquels nous réalisons des extractions d'ADN et d'ARN en vue d'effectuer par exemple des séquençages haut débit sur d'autres plateformes. Pour cela, nous réalisons des coupes un peu plus épaisses que pour les immuno-marquages ou les colorations. Il est important de souligner que nous recevons du matériel précieux qui doit être économisé le plus possible. L'extracteur TPS Siemens utilise très peu de matériel initial. Il permet de réaliser des extractions d'ADN et d'ARN à partir de coupes de 10 µ obtenues à partir du bloc initial. Nous envoyons ensuite les échantillons aux différentes plateformes qui vont réaliser leur analyse : étude de mutation, séquençage à haut débit....

#### Spectra Biologie : Pourquoi avoir fait le choix de cet extracteur ?

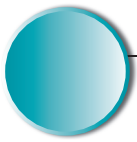
**Nadine Vailhen :** Avant de nous équiper, nous ne pouvions pas répondre à la demande des pathologistes. Nous ne réalisions que quelques extractions d'ADN à l'aide d'une technique manuelle qui prenait beaucoup de temps. De plus, la plupart des techniques de séquençage sont encore faites à partir de biopsies tumorales congelées. Or, ces prélèvements sont rares. Ils ne représentent que 30 % des tissus qui nous parviennent, la majorité étant des inclusions en paraffine. Ils sont aussi plus difficiles à conserver. Les pathologistes souhaitant réaliser des extractions sur tous les prélèvements, nous devons nous équiper d'un extracteur performant pour tous les types de matériels, congelés ou inclus en paraffine.

**Filipe Araujo :** L'extracteur TPS de Siemens a l'avantage d'intégrer automatiquement les opérations préalables de déparaffinage des coupes qui, si elles devaient être faites manuellement, présenteraient des risques importants pour le technicien, causés par des produits tels que le xylène (dangereux) et l'éthanol (inflammable). Cela permet aussi de limiter la manipulation des tubes préalablement au passage sur l'extracteur, ce qui sécurise leur identification. En termes de productivité, chaque série permet de réaliser les extractions simultanées sur 48 échantillons. L'ADN est extrait en 3 heures 15 minutes et l'ARN en 3 heures 50 minutes. Plusieurs programmes sont disponibles, soit pour extraire uniquement l'ADN ou l'ARN, soit pour extraire les deux simultanément en 4 heures.

**Nadine Vailhen :** Lorsque les échantillons sont chargés dans l'automate, aucune manipulation n'est nécessaire jusqu'à l'obtention des produits dérivés. Le processus est entièrement automatisé.

#### Spectra Biologie : Avant d'utiliser en routine l'extracteur TPS, avez-vous procédé à des tests comparatifs portant sur la qualité d'extraction ?

**Nadine Vailhen :** Après mise à disposition de l'automate, nous avons défini un protocole de validation comportant



## La solution TPS de Siemens automatise l'extraction d'acides nucléiques sur la plate-forme de pathologie LYSA-P (suite)

deux comparaisons. Nous avons comparé les résultats issus de l'extraction manuelle à ceux obtenus via le TPS et nous avons comparé les résultats des extractions d'ADN/ARN obtenus via le TPS entre les échantillons sur paraffine et les échantillons issus de prélèvements congelés. Nous n'avons pas constaté de perte de données entre les différentes méthodes, quelles que soient la nature des échantillons utilisés. Les résultats de ces tests nous ont incités à faire le choix du TPS.

### **Spectra Biologie : Quelles sont les opérations de maintenance nécessaires au bon fonctionnement de l'extracteur TPS de Siemens ?**

**Filipe Araujo :** Les opérations de maintenance ont lieu tous les six mois. Un logiciel permet de faire les tests nécessaires avant chaque lancement pour confirmer le bon fonctionnement de l'appareil : vérification de la pression dans le système de pipetage et calibration. Il y a aussi

très peu de déchet en matière de solutions de produits chimiques.

### **Spectra Biologie : Au sein de votre organisation, quelles sont les perspectives d'évolution de cette technique d'extraction ?**

**Nadine Vailhen :** Dans la majorité des protocoles issus du LYSARC, une extraction d'ADN et ARN est aujourd'hui prévue pour chaque biopsie tumorale de chaque patient. Cette technique va donc prochainement devenir une nouvelle technique de routine sur la plateforme LYSA-P. Nous resserrons nos liens de partenariat avec les plate-formes de séquençage de Fabrice Jardin, à Rouen, et de Thierry Fest, à Rennes. Avec la solution TPS de Siemens, notre objectif est d'être très réactifs pour réaliser les extractions après réception des prélèvements de biopsie, afin qu'après séquençage, le traitement puisse être rapidement adapté pour le patient.



Le LYSA (The Lymphoma Study Association) a pour but de réunir des professionnels spécialisés dans le domaine du lymphome pour promouvoir la recherche et clinique, améliorer la prévention, la prise en charge et le traitement des patients atteints de lymphome et diffuser la connaissance sur les lymphomes. Créé le 10 février 2012, le LYSA est issu de la fusion du GELA (Groupe d'Étude des Lymphomes de l'Adulte) et du Comité Lymphome du GOELAMS (Groupe Ouest-Est d'études des Leucémies Aigües et autres Maladies du Sang).



Le LYSARC (The Lymphoma Academic Research Organisation) est une structure opérationnelle académique ayant pour but l'organisation et la conduite des études cliniques, biologiques et épidémiologiques et autres recherches acceptées par le Conseil d'Administration du LYSA après avis consultatif du Conseil Scientifique de ce dernier. En juin 2012, le GELARC devient officiellement la structure opérationnelle associée aux activités de recherche du LYSA et prend le nom de LYSARC. Le LYSARC est actuellement la plus grande organisation européenne dédiée aux opérations cliniques dans le domaine du lymphome. Le LYSARC est certifié « Centre de Traitement de Données » par l'Institut National du Cancer (INCa) et, conjointement au LYSA est labellisé « Intergroupe coopérateur français de dimension internationale dans le domaine du cancer » par l'INCa. Il bénéficie aussi du soutien de la Ligue Contre le Cancer et du CeNGEPS (Centre National de Gestion des Essais des Produits de Santé). LYSA et LYSARC sont deux associations Loi de 1901, juridiquement indépendantes.

- [www.lysa-lymphoma.org](http://www.lysa-lymphoma.org)
- [www.lysarc.org](http://www.lysarc.org)

# SIEMENS

- Contact Siemens : [philippe.boullenger@siemens.com](mailto:philippe.boullenger@siemens.com)
- Contact Lysarc : [nadine.vailhen@lysarc.org](mailto:nadine.vailhen@lysarc.org)