

DEPARTEMENT D'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

Procédure opératoire standard : PAT.PRELEV.GES

Manuel des prélèvements en anatomie pathologique: Instructions aux prescripteurs et préleveurs

Version : 10

Date de publication : 21/01/2021

	Auteur	Evaluateurs	Approbateur final
Nom	R.GREIMERS	L.HABRAN,	R.GREIMERS
Fonction	Responsable AQ de Discipline Anatomie et Cytologie Pathologiques	Responsable biologie moléculaire,	Suppléance Chef de département

Modifications

Révision mise à jour des liens web

[Détail des modifications dans Vivaldi](#)

Table des matières

1	INTRODUCTION	4
2	RESPONSABILITES	5
3	ADMINISTRATION	6
3.1	CONTACTS GENERAUX	6
4	EQUIPE MEDICALE ET SCIENTIFIQUE	7
5	FORMULAIRES DE DEMANDE D'EXAMENS OU D'ANALYSES	7
5.1	LA DEMANDE D'EXAMENS	8
5.1.1	<i>Identification du patient</i>	9
5.1.2	<i>Identification du prélèvement :</i>	9
5.1.3	<i>Identification du médecin prescripteur :</i>	9
6	SECURITE-HYGIENE	9
6.1	RISQUE CHIMIQUE	9
6.2	RISQUE BIOLOGIQUE	10
7	HISTOLOGIE	10
7.1	CONDITIONS GENERALES	11
7.1.1	<i>POUR UNE BONNE FIXATION DU PRELEVEMENT</i>	11
7.1.1.1	TYPE DE FIXATEUR : TOUJOURS DU FORMOL	11
7.1.1.2	MISE EN CONTACT IMMEDIATE :	11
7.1.1.3	QUANTITE DE FORMOL	11
7.1.1.4	LA DUREE DE FIXATION	11
7.1.1.5	LA TEMPERATURE.....	11
7.1.1.6	ETANCHEITE DES FLACONS OU POTS	12
7.1.1.7	ACHEMINEMENT-TRANSPORT	12
7.1.2	<i>Bonnes pratiques des prélèvements mammaires</i>	12
7.2	EXAMENS URGENTS EXTEMPORANES ET MATERIEL FRAIS.....	13
7.2.1	<i>Renseignements pratiques :</i>	14
7.2.2	<i>Délai et mode particulier de transmission</i>	14
7.3	AUTRES EXAMENS URGENTS OU PRIORITAIRES	15
7.3.1	<i>les lavages broncho alvéolaire urgents</i>	15
7.3.2	<i>Les rejets de greffes</i>	15
8	IMMUNOHISTOLOGIE	15
8.1	IMMUNOHISTOLOGIE CONVENTIONNELLE	15
8.2	MISE EN EVIDENCE D'ANTIGENES PHARMACO-DIAGNOSTIQUES.....	16
8.2.1	<i>Aspect pratiques et délais de réponse:</i>	16
8.3	CAS PARTICULIER DES IMMUNOHISTOCHIMIES HER2-NEU ET ALK.....	16
9	BIOLOGIE MOLECULAIRE	17
9.1	ANALYSE SISH HER2-NEU	17
9.1.1	<i>Aspects pratiques et délai de réponse:</i>	18
9.2	DETECTION D'ANOMALIES GENETIQUES ET EPIGENETIQUES.....	18
9.2.1	<i>Aspects pratiques et délai de réponse</i>	19
9.3	DETECTION DE LA MONOCLONALITE LYMPHOÏDE B.....	20
9.3.1	<i>Aspects pratiques et délai de réponse :</i>	20
9.4	DETECTION DES REARRANGEMENTS T (TCR β –TCR γ).....	21
9.4.1	<i>Aspects pratiques et délai de réponse :</i>	21
9.5	RECHERCHE D' HPV A HAUT RISQUE.....	21
9.6	ASPECT PRATIQUES ET DELAI DE REPOSE:	22
10	CYTOLOGIE NON GYNECOLOGIQUE	22
11	CYTOLOGIE GYNECOLOGIQUE	24
11.1	MODALITES PRATIQUES.....	24

11.2	DELAI DE REPONSE	25
12	AUTOPSIES	25
12.1	AUTOPSIES ORDINAIRES	25
12.2	AUTOPSIES FETALES ET NEONATALES	26
13	DERMATOPATHOLOGIE.....	27
13.1	LOCALISATION ANATOMIQUE DU PRELEVEMENT	28
13.2	PRINCIPES GENERAUX POUR LES BIOPSIES STANDARDS A VISEE DIAGNOSTIQUE.	28
13.2.1	<i>Sites de biopsie</i>	29
13.2.2	<i>Type de biopsies.....</i>	29
13.2.2.1	<i>Biopsies au punch</i>	29
13.2.2.2	<i>Biopsies incisionnelles en ellipse au bistouri.....</i>	30
13.3	PRINCIPES GENERAUX POUR LES BIOPSIES EXCISIONNELLES	30
13.3.1	<i>Biopsie excisionnelles au bistouri</i>	30
13.3.2	<i>Biopsie excisionnelle au punch</i>	30
13.3.3	<i>Shave excision ou shave biopsy</i>	31
13.3.4	<i>Le grattage plus électrocoagulation</i>	31
13.4	PRELEVEMENTS NON FIXES	31
13.4.1	<i>Les prélèvements d'ongles.....</i>	32
13.4.2	<i>Les biopsies de surface</i>	32
13.4.3	<i>Les D-squames</i>	32
13.4.3.1	<i>Indication d'utilisation du D-squame et de la biopsie de surface</i>	33
13.4.4	<i>Les squames</i>	33
13.4.5	<i>Les frottis</i>	33
13.4.6	<i>Les examens de cheveux</i>	34
13.4.6.1	<i>La recherche de teignes</i>	34
13.4.6.2	<i>Le trichogramme</i>	34
13.4.6.3	<i>L'examen des hampes</i>	34
13.5	LES EXAMENS COMPLEMENTAIRES	35
13.5.1	<i>Microscopie électronique</i>	35
13.5.2	<i>Immunohistologie</i>	35
13.5.3	<i>Biologie moléculaire</i>	35
13.6	DELAI DE REPONSE EN DERMATOPATHOLOGIE.....	35
13.6.1	<i>Examens histologiques standards</i>	35
13.6.2	<i>Délai de réponse moyen pour les prélèvements non fixés</i>	36
14	MICROSCOPIE ELECTRONIQUE	36
15	TRANSMISSION DES RESULTATS.....	36
16	DELAIS DE REPONSES	37
17	ANNEXES.....	41

1 INTRODUCTION

Ce manuel des prélèvements en anatomie pathologique est un document public mis à la disposition des cliniciens, prescripteurs et préleveurs tant externes qu'internes du Département d'anatomie et cytologie pathologique du CHU de Liège dans le but de fournir des informations précises concernant les processus pré-analytiques et ainsi d'obtenir les prélèvements réalisés dans des conditions optimales.

Il est disponible ici :

https://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_827144/manuels-de-prelevements

Les méthodes d'analyse réalisées par les pathologistes font appel à différentes **techniques complémentaires** :

D'une part l'**examen macroscopique**, c'est-à-dire examen à l'oeil nu, des prélèvements et pièces opératoires, tous confiés au laboratoire de pathologie.

D'autre part un **examen histologique** réalisé au microscope après colorations histochimiques à l'hématoxyline-éosine ou colorations spéciales.

Ces examens peuvent être suivis d'examens complémentaires usant de techniques particulières:

- Immunohistologie
- Biologie moléculaire
- Microscopie électronique.

Un **listing des techniques** utilisées au laboratoire est disponible via le « **menu des analyses** » consultable sur internet :

http://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_355424/referentiel-des-examens-realises-par-l-unilab-lq

Depuis 2009, notre laboratoire s'est engagé dans une démarche visant à assurer la meilleure qualité des analyses réalisées au bénéfice du patient. Elle s'inscrit dans le respect des exigences de la **norme ISO15189** dont un des objectifs est notamment la maîtrise des problèmes ou non-conformités liés à l'analyse dont la fiabilité des résultats est ainsi assurée.

On constate ainsi que près de 80% des problèmes rencontrés dans l'analyse d'un prélèvement ont lieu avant même la réception du prélèvement par le laboratoire, c'est-à-dire dans ce qui est dénommé la **phase-pré-analytique**, sous responsabilité du médecin ou spécialiste préleveur et des transporteurs

L'ensemble de ces problèmes ou non conformités est traité dans un autre document référencé **PAT.NOCO.GES** et accessible aussi via ce lien :

https://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_827144/manuels-de-prelevements

Les problèmes les plus graves rencontrés dans cette phase sont majoritairement responsables des échecs diagnostiques et sont liés à des manquements dans la préservation optimale du prélèvement. Il peut s'agir d'une absence de fixation ou au contraire d'une fixation inadéquate, d'une durée de transport trop longue dans des conditions non-optimales de température etc..qui peuvent conduire à des échecs d'analyse, ou pire, à des résultats faussement positifs ou négatifs.

Il peut s'agir aussi de problèmes administratifs liés à une demande d'analyse incomplète quant à l'identité non ambiguë du patient et de son prescripteur: le risque d'envoi de résultats au mauvais patient/prescripteur est alors bien réel.

Ce manuel reprend les recommandations que doivent impérativement suivre les préleveurs avant tout envoi de prélèvement dans notre laboratoire.

Les demandes d'analyses sont disponibles ici, ou sur simple demande au laboratoire :

https://www.chuliege.be/jcms/c2_17331521/fr/laboratoire-unilab-lg/formulaires

Nous insistons d'une manière globale, et sauf particularités développées plus loin dans le texte, **sur la nécessité absolue de :**

-Remplir tous les champs d'une demande d'analyse, en insistant particulièrement sur la bonne identification du patient et du prescripteur, donner la date et heure du prélèvement, identifier la nature des organes, et donner les renseignements cliniques utiles.

-Fixer les pièces opératoires au formol tamponné pour une **durée minimale de 6 heures et maximale de 48 heures (72 heures pour les seins, voir page 13)**, à température ambiante

-Si envoi de prélèvement frais: nous le faire parvenir maximum **dans l'heure** qui suit son prélèvement, et non congelé.

LES PRELEVEMENTS DOIVENT IDEALEMENT NOUS PARVENIR AVANT 16H30

2 RESPONSABILITES

Prof. Ph. DELVENNE	Chef de Département, Tel : 04-366 24 00 p.delvenne@chuliege.be
Dr.Sci L.HABRAN	Responsable scientifique Biologie moléculaire et Immunohistologie. Tel : 04-366 98 64 Lionel.Habran@chuliege.be

Dr.Sci. R. GREIMERS	Référent Départemental Assurance Qualité Tél : 04-366 24 12 Roland.Greimers@chuliege.be
Les prescripteurs- préleveurs	Doivent fournir un prélèvement conforme et une demande d'analyse complète.
Les technologues et secrétaires de réception	Ont la responsabilité de vérifier la concordance des informations présentes sur la demande et le prélèvement

3 ADMINISTRATION

La **Discipline, ou Département d'anatomie et cytologie pathologiques** est constitué de deux services: le **service d'Anatomie et cytologie pathologiques**, qui dispose d'un laboratoire au CHU (Sart Tilman) et d'un laboratoire au CHR (Citadelle), et le **service de Dermatopathologie** dont l'unique laboratoire est situé au CHU. Depuis 01/06/2013, les activités d'anatomie pathologique des **laboratoires CARAD** de Villers le Bouillet (Huy) sont reprises sous notre agrément et la responsabilité de notre Département.

Nom : Centre Hospitalier Universitaire du Sart-Tilman
Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Adresse : Avenue de l'Hôpital, 3
4000 Liège

Localisation : Tour de pathologie, B23/ Etage +1

Heures d'ouverture : 7h30 à 18h00, du lundi au vendredi

3.1 CONTACTS GENERAUX

Consulter le §15 pour les modalités générales de transmissions de résultats.

Site	Renseignements généraux (Secrétariats)	Résultats médicaux (Pathologistes)	Réception des prélèvements (Dispatching)	Laboratoire	Fax
CHU Sart Tilman Anatomie- pathologique	04-3662410	04-3662483 04-3662416 04-3662414	04-3662176	04-3662415	04-3662919
CHU Sart Tilman	04-3662407	04-3662011	04-3662176	04-3662407	04-3662976

Dermatopathologie		04-3662429 04-3662499			
CHR Citadelle	04-3216417	04-3216915	04-3216752	04-3216753	04-3216760
CARAD-Huy	085-273320	Voir secrétariat	Voir laboratoire	085-273326	085-212147

4 EQUIPE MEDICALE ET SCIENTIFIQUE

L'équipe médicale est donnée sur le site internet du CHU de Liège:

Les pathologistes sont polyvalents et joignables via les secrétariats et contacts du §3.

Les spécialistes des techniques spéciales sont :

Biologie moléculaire et Immunohistologie.

Dr.Sci. Lionel Habran, tel 04-366 98 64, Lionel.Habran@chuliege.be

Cytologie en milieu liquide.

Dr. E. Bianchi, tel 04-366 2410, ebianchi@chuliege.be

Microscopie électronique

Dr.Sci Roland GREIMERS, tel,04-366 24 12, Roland.Greimers@chuliege.be

5 FORMULAIRES DE DEMANDE D'EXAMENS OU D'ANALYSES.

Il existe actuellement 11 types de formulaires de demandes d'examen en fonction de certaines particularités :

En interne, ils sont disponibles sur vivaldi dans le dossier MQ.A11.PAT

En externe, ils sont aussi disponibles sur demande au secrétariat d'anatomie pathologique ou de dermatopathologie et sont accessibles sur l'intranet/internet du CHU de Liège via le lien

https://www.chuliege.be/jcms/c2_17331521/fr/laboratoire-unilab-lg/formulaires

N°	Code AQ	Libellé
1	MQ.A11.01	Anatomie pathologique - formulaire général

2	MQ.A11.02	Dermatopathologie - formulaire général
3	MQ.A11.81	Cancer mammaire et gastrique: amplification HER2neu par SISH
4	MQ.A11.04	Anomalies (épi)génétiques K-NRAS/EGFR/MGMT/GIST/BRAF...
5	MQ.A11.05	ADN-ARN infectieux / Lymphomes-Sarcomes-Carcinomes
6	MQ.A11.06	Cytologie cervico-vaginale en milieu liquide- Première lecture
7	MQ.A11.07	Cytologie cervico-vaginale en milieu liquide- Seconde lecture
8	MQ.A11.08	Recherche des virus HPV à haut risque par PCR
9	MQ.A11.09	Immunohistologie pharmaco-diagnostique HER2/ER/PR/EGFR/CD117
10	MQ.A11.10	Demande d'autopsie (non médico-légale)
11	MQ.A11.30	Lavages bronchoalvéolaires

Lorsque la demande émane d'un laboratoire ou prescripteur externe, nous pouvons accepter un formulaire différent des précités à la condition de contenir tous les renseignements utiles repris en §5.1

Les laboratoires CARAD situés à Huy proposent 2 formulaires de demandes disponibles sur demande (§3.1) :

[MQ.A11.89](#) : formulaire général d'histologie et cytologie non gynécologique.

[MQ.A11.94](#) : formulaire spécifique de cytologie gynécologique.

5.1 LA DEMANDE D'EXAMENS

La demande d'examens ou d'analyses doit être complète, lisible, et sans ratures. Elle doit être **signée par le prescripteur et datée**. Elle comprendra :

-Une identification univoque du patient et du médecin prescripteur

-Une liste précise et numérotée des différents prélèvements.

-Les renseignements cliniques utiles à l'analyse et à l'interprétation des résultats : les antécédents médicaux et chirurgicaux, les traitements éventuels pouvant interférer sur les résultats, les diagnostics différentiels cliniques.

Pour être accepté à l'encodage, le prélèvement doit comporter les informations suivantes :

5.1.1 Identification du patient

- Nom-Prénom du patient
- Sexe
- Date de naissance
- Numéro d'identifiant.
- Adresse
- Mutuelle

5.1.2 Identification du prélèvement :

- Date (et heure) de prélèvement obligatoire sur tout formulaire;
- Localisation anatomique du prélèvement (A.R. 01-07-2011)
- Renseignements cliniques

5.1.3 Identification du médecin prescripteur :

- Origine primaire du prélèvement (Hôpital, Polyclinique,...)
- Nom-Prénom du médecin
- Numéro INAMI
- Date de prescription
- Le ou les destinataire(s) des résultats avec l'adresse exacte

Certaines demandes ou certains prélèvements non-conformes aux indications reprises ci-dessus sont pénalisants pour l'analyse (mise en attente obligatoire, jusqu'à obtention des renseignements manquants) ou permettent l'analyse avec émission d'une réserve qui engage la responsabilité du prescripteur-préleveur.

Les personnes qui réceptionnent les prélèvements ont la responsabilité de vérifier la concordance des informations présentes sur la demande et le prélèvement. Toute discordance ou absence d'information conduira à l'édition et au suivi d'une « non-conformité » pour prélèvement ou demande problématique ([PAT.NOCO.GES](#))

6 SECURITE-HYGIENE

6.1 RISQUE CHIMIQUE

Le transport des prélèvements est réalisé dans des emballages étanches : généralement des pots en plastique à couvercle hermétique. Ces pots sont impérativement marqués « CE »

Un quart des non-conformités pré-analytiques concernent des fuites de formol et des pertes éventuelles en tout ou en partie du prélèvement. En outre, La fuite de formol (ou de tout autre fixateur) constitue un danger tant pour le prescripteur que pour le transporteur et le personnel du laboratoire destinataire.

Il n'y a pas nécessité d'ouvrir les flacons sous hotte aspirante. L'immersion des échantillons doit être effectuée rapidement, sans agitation du fixateur, avec une fermeture immédiate et parfaite du flacon. L'utilisation de produits absorbants est conseillée en cas de déversement.

il est demandé au préleveur de veiller particulièrement à la fermeture soigneuse du couvercle.

Les autres fixateurs sont généralement des alcools (en cytologie gynécologique), ou de la glutaraldéhyde (microscopie électronique).

Des fiches toxicologiques sont consultables via internet, notamment sur le site inrs.fr :

Exemple du « formol »

http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_7

6.2 RISQUE BIOLOGIQUE

Lorsque le prélèvement est mis en contact avec le formol, il est fixé et le risque biologique pour le personnel du laboratoire est considéré comme nul.

Par contre, lorsque le prélèvement nous est envoyé frais, il est toujours considéré par notre personnel comme potentiellement contaminant : **il est cependant demandé au préleveur de nous informer sur le statut infectieux avéré ou supposé (HIV, Hépatite C, ...) du prélèvement.**

On demande aussi de ne pas tâcher le formulaire de demande, ni avec du fixateur, ni avec des traces du prélèvement (sang !). Le formulaire doit éventuellement être protégé sous plastique: un formulaire humide peut aussi rapidement devenir illisible.

7 HISTOLOGIE

Secteur principal de l'anatomie pathologique, il correspond à l'analyse macroscopique puis microscopique des prélèvements tissulaires obtenus par biopsie, dissection d'une pièce opératoire, ou d'autopsies. Ces prélèvements doivent être fixés dans du formol préalablement à la réalisation de coupes minces qui seront colorées selon des méthodes histochimiques standard (hématoxyline-éosine) ou spéciales

Il incombe au médecin préleveur de fixer correctement ses prélèvements selon §7.1.

S'il désire nous les envoyer frais (non-fixés), il suivra §7.2

7.1 CONDITIONS GENERALES

7.1.1 POUR UNE BONNE FIXATION DU PRELEVEMENT.

7.1.1.1 TYPE DE FIXATEUR : TOUJOURS DU FORMOL

D'une manière générale, les analyses sont réalisées à partir de tissus inclus en blocs de paraffine. Les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés **EXCLUSIVEMENT au formol 10%** tamponné (= formaldéhyde 4% pH neutre).

7.1.1.2 MISE EN CONTACT IMMEDIATE :

La **mise en contact** avec le formol doit se faire **immédiatement après le prélèvement**, (au moins dans les 10 MINUTES qui suivent le prélèvement et, dans tous les cas, avant l'heure qui suit le prélèvement).

7.1.1.3 QUANTITE DE FORMOL

La **quantité de formol sera en large excès** et le prélèvement doit au minimum être entièrement recouvert quelque soit la position du flacon. Le volume du pot sera par conséquent adapté à cet usage.

7.1.1.4 LA DUREE DE FIXATION

La **durée de fixation** recommandée varie entre **6 et 48 heures** : il est donc recommandé de nous faire parvenir la pièce fixée le jour même ou dès le lendemain

Note : Le formol pénètre les tissus à raison de 1 mm par heure de contact : le délai peut être réduit à 2 heures pour les très petites biopsies. **Il ne peut en aucun cas excéder 72 heures.**

En conséquence, il convient d'être vigilant pour les prélèvements du vendredi. Ils DOIVENT nous parvenir le lundi au plus tard.

Bien entendu si la fixation débute dans votre hôpital et que le prélèvement nous arrive rapidement, c'est à nous de veiller à ne pas dépasser ensuite ces 72 heures.

C'est pour cette raison que nous vous demandons d'inscrire sur le formulaire de demande la **date et l'heure du prélèvement**.

7.1.1.5 LA TEMPERATURE

La fixation se réalise à la **température ambiante** du local. Il est inutile de déposer un prélèvement fixé au frigo.

7.1.1.6 ETANCHEITE DES FLACONS OU POTS

Le préleveur veillera scrupuleusement à l'étanchéité de ses flacons collecteurs ; Les pots mal fermés constituent une grande part de non-conformités et nuisent à la qualité du prélèvement :

- mauvaise fixation due à la perte du niveau suffisant de formol
- perte possible de l'échantillon (pot vide !)
- danger chimique pour les utilisateurs et navetteurs,

7.1.1.7 ACHEMINEMENT-TRANSPORT

Comme conséquence du point 7.1.1.4, il convient d' être vigilant pour les prélèvements du vendredi : ils doivent impérativement nous parvenir le lundi suivant.

Comme conséquence du point 7.1.1.5 , le transport se réalisera aussi à température ambiante normale; *attention aux arrêts en plein soleil en été : pas de prélèvement derrière le pare-brise pendant des heures, par exemple ; si on peut tolérer 30°C, on ne peut pas accepter les plus de 50°C possibles à cet endroit.*

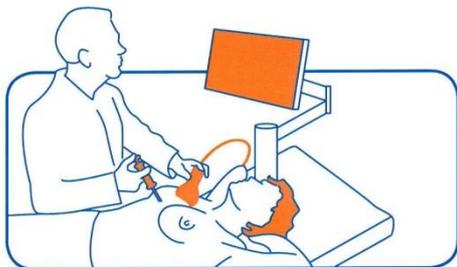
Les prélèvements nous arriveront de préférence avant 16h30 (préparation de machines)

7.1.2 Bonnes pratiques des prélèvements mammaires

Voir : [PAT.PRELEV.GES.A11 copie ci-dessous](#)

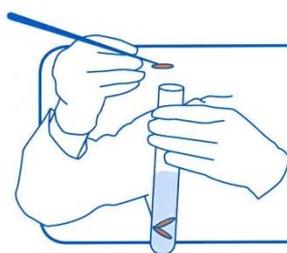
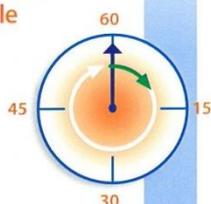
Bonnes pratiques des prélèvements mammaires

BIOPSIE



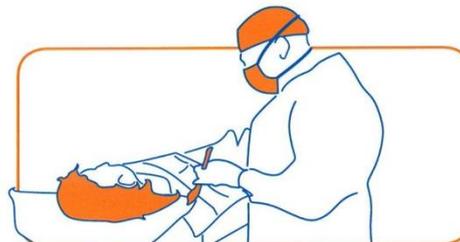
**Temps avant fixation :
le plus vite possible**

<1 heure^{1,2}
de préférence
dans les 10 minutes



Mettre la biopsie
dans un flacon avec
le fixateur :
le formol neutre
tamponné à 10%

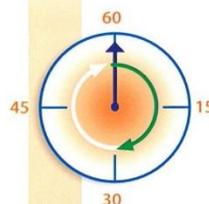
PIÈCE OPÉRATOIRE



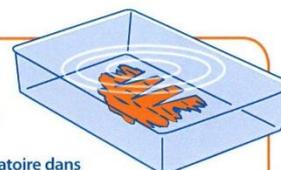
En cas de prélèvement en fin de journée ou de semaine, une bonne communication entre le chirurgien et le pathologiste est importante pour garantir une prise en charge optimale des prélèvements

**Temps avant fixation :
le plus vite possible**

<1 heure^{2,3}
mais préférentiellement
endéans les 30 minutes



- Colorer les marges à l'encre
- Inciser dans la pièce à travers la tumeur
- Mettre la pièce opératoire dans un récipient assez grand, avec assez de fixateur : le formol neutre tamponné à 10%



Remplir le formulaire de demande en y mentionnant :

- l'heure précise de la prise de la biopsie
- l'heure précise de la mise en contact avec le fixateur

Après min. 6 à max. 72 heures de fixation : début des techniques histologiques^{2,4}

Une correcte durée de fixation évite le risque de fixation insuffisante ou trop importante et assure une interprétation précise du statut de HER2

7.2 EXAMENS URGENTS EXTEMPORANES ET MATERIEL FRAIS

Il s'agit d'examens histologiques et/ou cytologiques réalisés sur demande urgente du clinicien (le plus souvent le chirurgien). Le but de ces examens est d'adapter la procédure en cours (le plus souvent chirurgicale) aux caractéristiques de la pathologie mise en évidence durant l'intervention.

Les techniques histologiques se basent sur la technique de **coupes à congélation**. Les coupes sont réalisées au cryostat et colorées selon la technique HE-extemporanée. **L'avantage de cette technique est sa rapidité** (10 minutes/lame) mais la qualité obtenue avec cette technique est inférieure à la qualité utilisée en routine. Le diagnostic posé extemporanément doit être validé par l'analyse ultérieure du prélèvement fixé au formol et coloré suivant la filière classique.

7.2.1 Renseignements pratiques :

- La technique se pratique **uniquement** à partir de **matériel frais, ne pas mettre de sérum physiologique ni de fixateur**.
- Le délai d'**acheminement** doit être le plus **court** possible pour garantir la qualité de l'examen. Si pour des raisons d'éloignement il fallait plus de cinq minutes pour amener le prélèvement au laboratoire alors dans ce cas il faut placer le prélèvement dans un sachet de transport et ensuite l'entourer de glaçons dans un conteneur *ad hoc*. Le prélèvement ne doit pas geler et donc ne doit pas être en contact des glaçons. **Le délai total entre le moment du prélèvement et sa réception au laboratoire ne doit pas excéder 30 minutes.**
- **Le téléphone** pour « extemporanée » (**04 366 2483**) est disponible de 8h à 18h30 tous les jours ouvrables. Un service de garde est assuré 24h/24 pour les extemporanées. Les pathologistes de garde sont joignables via le service des urgences 04 366 7711.
- Un flux explicatif est donné ici pour une urgence en dehors des heures de service:

https://www.chu.ulg.ac.be/upload/docs/application/pdf/2018-12/prise_en_charge_pat_hors_heures.pdf

7.2.2 Délai et mode particulier de transmission

- Le résultat est transmis par téléphone dans les 45 minutes maximum.
- Le protocole extemporané est ensuite intégré au protocole final associé à la validation définitive de l'analyse classique de la biopsie répondue dans les 8 jours ouvrables.

7.3 AUTRES EXAMENS URGENTS OU PRIORITAIRES

Une **demande prioritaire de première intention** se fait sur **décision du prescripteur** qui annote la demande du mot « urgent » ou assimilé (« prioritaire » « réponse rapide »..). Elle sera traitée rapidement en priorité. Il s'agit d'une priorité globale ou chaque technique demandée sera réalisée dans les meilleurs délais, le délai technique étant souvent incompressible.

Deux types de demandes sont systématiquement prioritaires :

7.3.1 les lavages broncho alvéolaire urgents

Les lavages broncho alvéolaire (LBA) urgents sont ceux prescrits pour la **recherche de germes opportunistes chez patients immunodéprimés**.

Ces prélèvements arrivent directement à la réception du service d'Anatomie pathologique. Après étiquetage, la personne réceptionniste (secrétaire ou technologue) prévient les technologues de cytologie de l'arrivée d'un LBA. Ce matériel non fixé (**PAT.FRAIS.GES**) est pris en charge par les cytologistes de façon à rendre un diagnostic le plus rapidement possible. Ce temps correspond au temps incompressible nécessaire pour effectuer la technique. Les lames sont colorées (**PAT.PRISMA.APP, PAT.CYTONONGYN.ANA**) et le screening des lames est réalisé par un(e) cytotechnicien(ne) expérimenté(e).

7.3.2 Les rejets de greffes

Une prise en charge rapide de cette demande d'analyse est toujours réalisée, avec réponse téléphonique au prescripteur dans un premier temps, suivi d'un compte-rendu.

8 IMMUNOHISTOLOGIE

8.1 IMMUNOHISTOLOGIE CONVENTIONNELLE

Un panel d'environ 200 antigènes différents est disponible.

Ils sont détectés par révélation chromogénique (DAB) réalisée par des automates Roche de type BENCHMARK ULTRA

C'est généralement l'anatomopathologiste qui s'auto-prescrit en interne au laboratoire et électroniquement les immunohistologies en seconde intention.

Cependant si la demande provient d'un prescripteur externe, celui-ci utilisera le formulaire de demande générale (**formulaire 1, MQ.A11.01**) ou son propre formulaire, à condition qu'y figurent les renseignements demandés en §5.1

8.2 MISE EN EVIDENCE D'ANTIGENES PHARMACO-DIAGNOSTIQUES.

Analyse immuno-histologique pour la mise en évidence d'antigènes pharmaco-diagnostiques dans le cadre de la prescription d'une médication spécifique à la tumeur pour les patients oncologiques.

Les 5 antigènes suivants peuvent être recherchés UNE FOIS PAR AN ou par épisode diagnostique, sur prescription écrite du médecin traitant :

- Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)
- Oestrogen Receptor (ER)
- Progesterone Receptor (PR)
- CerB2/Her2 neu (HER2NEU) (sein et estomac)
- C-kit/CD117 (CD117)

8.2.1 Aspect pratiques et délais de réponse:

Le **médecin traitant** remplira le **Formulaire 9, MQ.A11.09 ou formulaire 1, MQ.A11.01**, à envoyer par fax au 04/3662919 ou par courrier au Laboratoire d'Anatomie pathologique, Tour de Pathologie +1, CHU Sart Tilman, B-4000 Liège.

Il indiquera notamment la **date (et heure) exacte du prélèvement**, qui n'est pas forcément la date de signature de la demande.

Pour les blocs venant de l'extérieur, le protocole anatomo-clinique complet doit être fourni. Le médecin demandeur devra vérifier la fixation adéquate du prélèvement et émettre une réserve dans le cas contraire.

Les tests sont réalisés tous les jours et le délai moyen de réponse est de 8 jours.

Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique ou fera l'objet d'un protocole additionnel.

Le médecin signataire est disponible pour tous renseignements complémentaires.

8.3 CAS PARTICULIER DES IMMUNOHISTOCHIMIES HER2-NEU ET ALK

La détection par immunohistochimie de l'amplification du gène HER2/NEU dans le cancer du sein est un marqueur pronostic. Cette amplification est également directement corrélée à la réponse au traitement par thérapie ciblée anti-HER2. Une amplification mise en évidence par immunohistochimie doit ensuite être validée par une technique d'hybridation *in situ* colorimétrique (SISH). Les SISH sont réalisées quotidiennement par le laboratoire d'anatomie pathologique au Sart-Tilman.

Il en va de même pour la recherche de la translocation ALK qui est également corrélée à la réponse au traitement par la thérapie ciblée anti-ALK. Une surexpression mise en

évidence par immunohistochimie doit ensuite être validée par une technique d'hybridation fluorescente *in situ* (FISH).

Ces analyses FISH sont réalisées en collaboration avec le Service de Génétique.

9 BIOLOGIE MOLECULAIRE

Les conditions du §4.1 doivent être respectées pour toute demande.

Une demande spécifique d'analyse de ces tests doit être remplie par le prescripteur. Dans le cas de prélèvements fixés au formol, le médecin demandeur doit vérifier et indiquer la fixation adéquate du prélèvement ; la durée de fixation **recommandée** varie entre **6 et 48 heures (6 et 72 heures** dans le cadre des analyses SISH Her2 dans le **cancer du sein**). Ce délai est une donnée à remplir sur le **formulaire de demande de l'analyse souhaitée** (voir les annexes de cette procédure).

Si le médecin prescripteur ou clinicien est interne au CHU, cette demande peut être envoyée par courrier interne ou faxée au 04/ 366 24 19.

Si les blocs viennent de laboratoires extérieurs, le protocole anatomo-clinique complet doit être associé et l'ensemble peut être envoyé par la poste au laboratoire de biologie moléculaire à l'adresse suivante :

Service d'Anatomie et cytologie Pathologiques -Service Pr Delvenne
Laboratoire de Biologie moléculaire
CHU Sart-Tilman B23, +1
Avenue de l'Hôpital, 3
4000 Liège
Tel : 04/366 98 64 fax : 04/ 366 24 19

9.1 ANALYSE SISH HER2-NEU

Il s'agit d'un test prédictif pour la réponse à des agents thérapeutiques, qui ciblent HER2/Neu (ex : Trastuzumab). Il est aussi prédictif de la résistance relative à la thérapie endocrinienne. Le test est associé à un pronostic sévère (taux de récurrence et risque de mortalité plus élevés.)

L'analyse des résultats se fait selon les recommandations d'un nouveau guide belge et de références internationales:

- 1) Update of the Belgian guidelines for HER2 testing in breast cancer (Lambein K. et al., Belgian Journal of Medical Oncology 2014: 8 (4); 109-15)
- 2) ASCO (American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologist) Guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor to testing in breast cancer. Journal of clinical Oncology. Wolf AC et al. , 2007; 25: 118-145)
- 3) A. Jouret-Mourin et al., Belgian guidelines for Her2 testing in gastric cancer. Belgian Journal of Medical Oncology 2011 ; 5 :14-22.

9.1.1 Aspects pratiques et délai de réponse:

L'hybridation moléculaire *in situ* (SISH) est une analyse de seconde intention qui, dans les cancers du sein, ne sera réalisée systématiquement que si une expression nulle (Triple négatifs en ER, PR et HER2) ou élevée (score 2+ ou 3+) de HER2/Neu a été préalablement mise en évidence par immunohistologie (voir §8.2). Les stades 0 et 1+ sont examinés sur demande. Par contre, cette analyse sera réalisée sur TOUS les cancers gastriques, quel que soit le niveau d'expression HER2.

Une demande spécifique d'analyse du test SISH/HER2/Neu ([formulaire 3, MQ.A11.81](#)) doit être remplie par le prescripteur. Cette demande peut être envoyée par courrier interne ou par la poste. Dans le cas d'une demande émanant de l'extérieur il est demandé de nous fournir systématiquement le bloc de paraffine avec la demande, ainsi que sur demande éventuelle de notre part, la lame immunohistologique ayant conduit à l'évaluation de l'expression de HER2/neu (lame et bloc qui vous seront restitués).

Les conditions du §7.1 doivent être respectées, notamment, la mise en contact avec le formol doit se faire rapidement et, en tous cas, dans l'heure qui suit le prélèvement. La durée de fixation **recommandée** varie entre **6 et 48 heures**. Ce délai est une donnée à remplir sur le **formulaire précité**.

Note : selon les nouvelles guidelines belges et suite à des tests validés en laboratoire, la durée maximale de fixation peut-être portée à 72 heures, uniquement pour le cancer du sein.

Les tests sont réalisés tous les jours sauf le lundi et le délai de réponse est de 4 jours environ.

Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tous renseignements complémentaires.

9.2 DETECTION D'ANOMALIES GENETIQUES ET EPIGENETIQUES

Concerne :

KRAS et NRAS : **cancer colorectal ;**

EGFR : **cancer du poumon ;**

MGMT : **gliome ;**

BRAF : **mélanome métastatique et cancer colorectal**

c-KIT et PDGFRA : **tumeurs stromales gastro-intestinales.**

La recherche de mutations dans les gènes **EGFR** (cancer du poumon), **c-KIT** et **PDGFRA** (tumeurs stromales gastro-intestinales) permet de déterminer la sensibilité des patients à certains inhibiteurs de tyrosine kinase.

La recherche d'une mutation des codons 12, 13, 61, 146 du gène **KRAS** et 12, 61 du gène **NRAS** est un test prédictif à la réponse d'une thérapie anti-EGFR dans le cancer colorectal.

Le gène **MGMT** code pour une enzyme de réparation de l'ADN capable d'inhiber la destruction des cellules cancéreuses par les agents alkylants. La méthylation du promoteur de ce gène rend ce gène silencieux et est un facteur prédictif de la réponse thérapeutique aux agents alkylants.

L'analyse de mutations dans le codon 600 du gène **BRAF** chez les patients atteints d'un mélanome métastatique permet de déterminer la sensibilité aux inhibiteurs de la BRAF kinase.

L'analyse se base sur les informations suivantes :

- 1) Van Krieken JH, Jung A, Kirchner T, Carneiro F, Seruca R, Bosman FT, Quirke P, Flejou JF, Plato HT, de Hertogh G et al.: KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch* 2008, 453:417-431.
- 2) Tejpar S, in't Veld P., Kockx M., and the Belgian Working group of molecular pathology: Harmonization of Molecular Oncology testing in Belgium: introduction of KRAS testing for colorectal cancer. *Belgian Journal of Medical Oncology* 2009, 3:16-22.
- 3) Sharma S, Salehi F, Scheithauer BW, Rotondo F, Syro LV, Kovacs K. Role of MGMT in tumor development, progression, diagnosis, treatment and prognosis. *Anticancer Res.* 2009 Oct;29(10):3759-68
- 4) Cristina R Antonescu The GIST paradigm: lessons for other kinase-driven cancers *J Pathol* (2010)
- 5) Jackman DM, Miller VA, Cioffredi LA, Yeap BY, Jänne PA, Riely GJ, Ruiz MG, Giaccone G, Sequist LV, Johnson BE Impact of epidermal growth factor receptor and KRAS mutations on clinical outcomes in previously untreated non-small cell lung cancer patients: results of an online tumor registry of clinical trials. *Clin Cancer Res.* 2009 Aug 15;15(16):5267-73. Epub 2009 Aug 11.
- 6) Cadranet J, Zalcman G, Sequist L. Genetic profiling and EGFR-directed therapy in NSCLC: evidence and clinical implications. *Eur Respir J.* 2010 Oct 29.
- 7) Arkenau H-T. et al (2011) Targeting BRAF for patients with melanoma, *British Journal of Cancer* 104, 392-398.
- 8) Spittle C. & al (2007) Application of a BRAF pyrosequencing assay for mutation detection and copy number analysis in malignant melanoma, *JMD* 9, 464-471.
- 9) Tiacci E. & al (2011) BRAF mutations in hairy-cell leukaemia, *NEJM* 364, 2305-15.

9.2.1 Aspects pratiques et délai de réponse

Les conditions du §5.1 et §7.1 doivent être respectées.

Une demande spécifique d'analyse de ces tests (**formulaire 4 ,MQ.A11.04**) doit être remplie par le prescripteur. Le médecin demandeur doit vérifier et indiquer la fixation

adéquate du prélèvement ; la durée de fixation recommandée varie entre **6 et 48 heures**. Ce délai est une donnée à remplir sur le **formulaire précité**.

Cette demande peut être envoyée par courrier interne ou par la poste. Dans le cas d'une demande émanant de l'extérieur il est demandé de nous fournir systématiquement le bloc de paraffine avec la demande, ainsi que la lame colorée à l'hématoxyline-éosine (lame qui vous sera restituée).

Les tests sont réalisés de façon hebdomadaire et le délai de réponse est d'une semaine environ.

Une copie du résultat est intégrée au protocole anatomo-pathologique.

Le médecin signataire est disponible pour tous renseignements complémentaires.

9.3 DETECTION DE LA MONOCLONALITE LYMPHOÏDE B.

Détection de la monoclonalité lymphoïde B, basée sur une réaction en chaîne de la polymérase (PCR, Polymerase Chain Reaction) des réarrangements clonaux amplifiant la région V-D-J des gènes de chaînes lourdes d'immunoglobuline à l'aide d'amorces complémentaires de la région CDRI (FR1A-IGH), CDRII (FR2A-IGH) et CDRIII (FR3A-IGH) chez les patients à lympho-proliférations suspectes.

L'analyse se base sur les informations suivantes :

1. Miller, JE, Wilson, SS, Jaye, DJ, Kronenberg, M. An automated semiquantitative B and T cell clonality assay. Mol. Diag. 1999,4(2):101-117.
2. Van Dongen, JJM et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor recombinations in suspect lymphoproliferations : Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia. 2003,17(12):2257-2317.
3. Sandberg, Y, van Gastel-Mol, EJ, Verhaaf, B, Lam, KH, van dongen, JJM, Langerak, AW. BIOMED-2 multiplex immunoglobulin/T-cell receptor polymerase chain reaction protocols can reliability replace Southern Blot analysis in routine clonality diagnostics. J. Mol. Diag. 2005,7(4) :495-503.
4. van Krieken, JHJM et al. Improved reliability of lymphoma diagnostics via PCR-based clonality testing:-Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. Leukemia 2007,21:201-206.

9.3.1 Aspects pratiques et délai de réponse :

Les conditions du §5.1 et §7.1 doivent être respectées dans le cas d'échantillons fixés, ou du §7.2 dans le cas d'échantillons frais.

Si les blocs viennent d'un laboratoire extérieur, le protocole anatomo-clinique complet doit être associé. La durée de fixation doit être mentionnée sur la demande.

Une demande spécifique de recherche de réarrangements géniques doit être remplie (**formulaire 5, MQ.A11.05**) par le médecin prescripteur. Cette demande peut être envoyée par courrier interne ou par la poste.

Les tests sont réalisés toutes les semaines et le délai entre le prélèvement initial et la réponse au prescripteur est de 20 jours.

Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tous renseignements complémentaires.

9.4 DETECTION DES REARRANGEMENTS T (TCR β –TCR γ).

Détection des réarrangements clonaux amplifiant la région V (région variable)-D (région de diversité) –J (région de jonction) de gènes de la chaîne Bêta ou Gamma du récepteur de cellules T chez les patients à lymphoproliférations suspectes, basée sur une réaction en chaîne de la polymérase (PCR, Polymerase Chain Reaction). Ces tests sont utilisés pour détecter à partir de l'ADN la vaste majorité des malignités clonales à cellule T.

L'analyse se base sur les informations suivantes :

- 1) Miller, JE, Wilson, SS, Jaye, DJ, Kronenberg, M. An automated semiquantitative B and T cell clonality assay. *Mol. Diag.* 1999, 4(2):101-117.
- 2) Van Dongen, JJM *et al.* Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 2003, 17(12):2257-2317.
- 3) Sandberg, Y, van Gastel-Mol, EJ, Verhaaf, B, Lam, KH, van Dongen, JJM, Langerak, AW. BIOMED-2 multiplex immunoglobulin/T-cell receptor polymerase chain reaction protocols can reliably replace Southern Blot analysis in routine clonality diagnostics. *J. Mol. Diag.* 2005, 7(4):495-503.
- 4) van Krieken, JHJM, *et al.* Improved reliability of lymphoma diagnostics via PCR-based clonality testing: report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia* 2007, 21(2):201-206.

9.4.1 Aspects pratiques et délai de réponse :

Idem § 9.3.1

9.5 RECHERCHE D' HPV A HAUT RISQUE.

-Recherche d'HPV à haut risque au moyen d'une méthode de diagnostic moléculaire sur des prélèvements cervico-vaginaux dans le cadre d'un dépistage. Cette prestation ne peut être effectuée et portée en compte **que par un médecin spécialiste en anatomie-pathologique ou un spécialiste en biologie clinique sur prescription du médecin spécialiste prestataire de la prestation 589853 – 589-864 ou 588873 – 588884** et n'est remboursable qu'en présence démontrée de cellules atypiques (ACS-US; ASC-H; AGC-ecc, NOS ou AGC-ecc, favor neoplastic)

dans le prélèvement cervico-vaginal, **confirmé en deuxième lecture**, ou pour le suivi du traitement d'une néoplasie cervicale intra-épithéliale de haut grade (CIN2 et CIN3 et AIS-ecc) avec prélèvement(s) cervico-vaginal(aux) négatif(s) (Moniteur belge 29.05.2009, page 39266).

- Recherche d'HPV à haut risque dans un cadre d'investigation de pré-vaccination HPV, non remboursé ou test demandé hors du cadre légal précité (Moniteur belge 29.05.2009, page 39266), non remboursé également: **L'analyse sera réalisée et facturée directement à la patiente au tarif INAMI en vigueur. Il est de la responsabilité du prescripteur d'en informer sa patiente.**

9.6 Aspect pratiques et délai de réponse:

Les tests sont réalisés à partir d'un prélèvement cervico-vaginal réalisé en milieu liquide. Ces prélèvements sont réalisés par un gynécologue au moyen d'un brossage. Cette brosse est alors placée dans un pot destiné à la cytologie en milieu liquide (ThinPrep® Preservcyt, ou Surepath). L'analyse HPV est réalisée dans la semaine suivant la demande. Elle suit l'analyse cytologique déjà réalisée à partir du même prélèvement qui est conservé 6 semaines à cet usage.

Que les prélèvements viennent d'un laboratoire extérieur ou non, une demande spécifique de recherche d'HPV à Haut risque dans le cadre d'un dépistage ou d'un suivi diagnostique ou thérapeutique (**formulaire 8, MQ.A11.08**) doit être remplie par le prescripteur (un pathologiste).

Si les prélèvements viennent de l'extérieur, le protocole cytologique complet doit être associé à la demande.

S'il s'agit d'une recherche HPV dans un cadre pré-vaccination, le **formulaire de Cytologie Cervico-Vaginale-Première lecture (formulaire 6, MQ.A11.06)** sera utilisé par tout médecin prescripteur; **L'analyse sera réalisée et facturée directement à la patiente au tarif INAMI en vigueur. Il est de la responsabilité du prescripteur d'en informer sa patiente.**

Les tests sont réalisés toutes les semaines et le délai moyen de réponse est de 10 jours.

Le résultat est intégré au protocole cytologique. Le médecin signataire est disponible pour tous renseignements complémentaires.

10 CYTOLOGIE NON GYNECOLOGIQUE

Les demandes usuelles de cytologie non gynécologiques se font sur le formulaire général **formulaire 1, MQ.A11.01**.

Les demandes d'analyse de **LCR** se font sur le **formulaire spécifique 11, MQ.A11.30**

Les liquides (cytologie exfoliative) et les frottis (lames sèches ou fixées) constituent les prélèvements cytologiques. Le matériel cytologique est analysé après avoir été

préparé et coloré suivant des procédures spécifiques variant en fonction du type d'échantillon reçu.

- Tous les **liquides pour analyse cytologique** sont placés dans des pots de 100 cc ou un tube de 60 cc qui ne doivent **pas déborder** et doivent être **fermés hermétiquement**.



ils sont acheminés frais au laboratoire (30 minutes). Si pour des raisons d'éloignement ou des problèmes de navettes ces prélèvements ne peuvent être acheminés dans les meilleurs délais au labo il faut les mettre dans un frigo entre 4 et 8°C et les faire parvenir au labo le **plus rapidement possible** et au plus tard le jour même.

- **Les brossages** d'origine bronchique, biliaire, pancréatique, médiastinale et paraoesophagienne sont envoyés frais dans le liquide de rinçage (liquide physiologique) le plus rapidement possible

- **Les LCR** sont envoyés frais le plus rapidement possible et endéans 24 heures max. dans des tubes stériles de 10 cc



- **Les frottis** : l'utilisation de lames rodées est vivement recommandée car on peut inscrire facilement à l'aide d'un crayon gras, le nom le prénom et la date de naissance du patient sur la partie rodée de la lame. Elles sont ensuite acheminées au laboratoire, séchées (à l'air libre) ou fixées (avec de la laque pour cheveux ou un mélange éthanol+éther volume à volume)

La coloration est différente pour :

le frottis sec : coloration de MayGrumwald Giemsa MGG ; PMS en dermatopathologie

le frottis fixé : coloration de Papanicolaou , Diff quick, colorations spéciales.

En particulier, **les frottis de moelle** sont acheminés sous forme d'étalements (on colore 3 lames au MGG et en fonction du résultat, des colorations de cytochimie et des colorations spéciales comme le PAS sont demandées par le médecin pour confirmation du diagnostic).

Les résultats comportant l'examen cytologique font l'objet d'un protocole qui sera délivré le plus rapidement possible.

Les prélèvements doivent parvenir au laboratoire **avant 16H30** .

11 CYTOLOGIE GYNECOLOGIQUE

11.1 Modalités pratiques

La demande de frottis ordinaire se fait avec le formulaire 6, **MQ.A11.06** par tout médecin prescripteur. La seconde lecture de frottis positifs ne peut se faire que par un pathologiste sur demande d'un autre pathologiste prescripteur différent de la première lecture, sur le formulaire 7, **MQ.A11.07**.

- **Les liquides de prélèvements cervico-vaginaux** sont conservés et fixés en milieu liquide Preservcyt (Technique ThinPrep® , brevet de la firme « HOLOGIC »). Les pots de ThinPrep® contenant du Preservcyt sont fournis par notre laboratoire.

Le système ThinPrep® ® pour échantillons de Papanicolaou a été approuvé par la FDA pour remplacer la méthode conventionnelle de détection des atypies cellulaires, du cancer du col et de ses lésions précurseurs, ainsi que d'autres catégories cytologiques définies dans le système Bethesda. Le frottis ThinPrep® s'est avéré beaucoup plus efficace que le frottis cervico-vaginal conventionnel dans la détection des lésions malpighiennes intra-épithéliales de bas grade (LSIL) et de lésions plus graves dans différentes populations de patientes. Une étude "direct au flacon" des HSIL a notamment montré que son utilisation induit une augmentation de 59,7 % des lésions malpighiennes intra-épithéliales de haut grade (HSIL) et des lésions de grade supérieur détectées. La qualité des prélèvements est en outre considérablement améliorée par rapport aux préparations conventionnelles.

L'amélioration de la précision des frottis repose sur un prélèvement et une préparation optimales des échantillons. Les différences notées entre les procédures de préparation des frottis conventionnels et des échantillons ThinPrep® se retrouvent dans l'aspect microscopique de ces deux méthodes. L'interprétation correcte des lames ThinPrep® nécessite la compréhension de

la méthode de préparation ThinPrep® , en particulier en ce qui concerne la qualité des prélèvements, qui affecte la conservation et la présentation des échantillons.

Résumé de la méthode de préparation ThinPrep® :



Le traitement automatisé du processeur ThinPrep® inclut la dispersion de l'échantillon, une filtration de précision pour recueillir les cellules sur une membrane et le transfert sur une lame de verre

11.2 Délai de réponse

Les résultats de la lecture des frottis sont rendus dans les 8 jours ouvrables.

12 AUTOPSIES

Le Département d'Anatomie pathologique du CHU de Liège dispose de deux salles d'autopsies, l'une est située au CHU-SART TILMAN et est consacrée aux autopsies de l'adulte, l'autre est située au CHR de la Citadelle et est consacrée aux autopsies des fœtus et nouveaux-nés

12.1 AUTOPSIES ORDINAIRES

Si l'un de vos patients est décédé et que vous souhaitez demander une autopsie, veuillez téléphoner à la morgue pour prévenir qu'une autopsie doit être pratiquée. La demande d'autopsie est faite sur le formulaire 10 ([MQ.A11.10](#)) spécifique qui comprend la possibilité de l'opposition de la famille.

Le clinicien doit s'assurer qu'il n'y a pas d'opposition à la réalisation de l'autopsie par le patient ou de la part de sa famille. En effet, suivant le code de déontologie de l'Ordre des Médecins, « sauf réquisition ou disposition légales particulières, une

autopsie ne peut être pratiquée que s'il n'y a pas eu opposition explicite ou implicite du patient ou opposition de la part des proches.» (Art.133 - 01/01/1975 - <https://www.ordomedic.be/fr/code-2018/contenu/>). En cas d'opposition, le service d'Anatomie Pathologique ne pourra pas réaliser l'autopsie.

Le clinicien peut rassurer les proches en leur expliquant que le corps du défunt ou de la défunte sera remis à la famille après l'autopsie. En effet, suivant le code de déontologie de l'Ordre des Médecins, « le médecin qui pratique une autopsie agira avec tact et discrétion ; il prend les mesures nécessaires pour le corps soit présenté, après l'autopsie, d'une manière qui respecte les sentiments des proches.» (Art. 134 – 01/01/1975).

Après réception de la demande d'autopsie, le médecin pathologiste prendra contact avec le clinicien afin de connaître l'histoire clinique du patient et quels sont les points particuliers qui doivent être analysés. L'examen de l'encéphale est réalisé systématiquement sauf opposition explicite du clinicien prescripteur.

L'autopsie se déroule en deux temps :

1/ L'examen macroscopique est réalisé en salle d'autopsie. Il est possible au clinicien et aux étudiants en médecine d'y assister. Un compte-rendu provisoire de cet examen est envoyé rapidement par courrier.

2/ L'examen microscopique des prélèvements effectués en salle d'autopsie est réalisé après réalisation des coupes histologique et lecture des lames. Un second compte-rendu définitif est envoyé après cet examen.

12.2 AUTOPSIES FŒTALES ET NEONATALES

Un contact téléphonique est établi avec le « secrétariat de la Citadelle » au xx-32-(0)4-2256417 qui informe le médecin demandeur de la procédure à suivre et s'enquiert de la faisabilité de l'autopsie auprès du médecin en charge de l'autopsie avant l'envoi du fœtus pour accord.

Les examens et prélèvements doivent être réalisés dans les meilleurs délais après l'expulsion du corps ou la constatation du décès.

A cet effet, le fœtus est transmis dans les plus brefs délais par le laboratoire référent ou service clinique demandant l'analyse.

Les modalités de transport sont aux choix du laboratoire/ ou service clinique, demandant l'analyse, et sachant les obligations légales régissant le transport de défunt, en fonction de l'âge de gestation du fœtus.

Les modalités, frais et choix de transport sont à charge du laboratoire ou du service clinique requérant l'analyse, ou parentale en cas de transfert de corps par des pompes funèbres et sauf pré-établissement d'accord spécifique entre laboratoire ou institution.

Le fœtus et obligatoirement le placenta, sont transférés au laboratoire à l'état frais (non fixé au formol) et à sec (pas de liquide physiologique...).

Ils sont maintenus dans la mesure du possible au frais (glace...ou autre....) en vue de la conservation des tissus le temps du transport.

Le corps est envoyé dévêtu, emballé dans un linge non absorbant (par ex côté plastique d'une alaise...).

En cas d'expulsion nocturne ou en dehors des heures d'ouverture du laboratoire, une conservation du fœtus et de son placenta, à sec au frigo est préconisé.

Une procédure détaillée est disponible sur demande ([PAT.AUTOPSIEBB.GES](#))

13 DERMATOPATHOLOGIE.

Le formulaire spécifique d'une demande d'analyse en dermatopathologie est le formulaire 2, [MQ.A11.02](#)

Les prélèvements d'annexes cutanées (ongles, cheveux pour trichogramme) doivent être envoyés au service de Dermatopathologie **non fixés**, dans un pot, une enveloppe ou tout autre contenant pouvant être fermé. **Ils ne peuvent en aucun cas être simplement inclus dans la demande pliée.** Pour rappel, un trichogramme ne sera pas réalisé sur des cheveux lavés moins de 3 jours avant le prélèvement.

Les biopsies de surface cutanée doivent également être transmises au service de Dermatopathologie telles quelles, emballées à part de la demande. **En aucun cas, la demande ne peut servir « d'enveloppe » pour le prélèvement.**

Le laboratoire de dermatopathologie traite les prélèvements suivants :

- Les biopsies cutanées
- Les prélèvements d'ongles
- Les prélèvements de squames
- Les prélèvements de surface (biopsie de surface et D-squame)
- Les frottis cutanés
- Les prélèvements de cheveux

Le laboratoire réalise les techniques suivantes :

- histologie standard de prélèvements fixés
- Examen extemporané
- Immunohistochimie
- Immunofluorescence directe
- Examen en microscopie électronique. Les examens en microscopie électronique de prélèvements dermatologiques de première ou seconde intention sont traités par le laboratoire de microscopie électronique du Département (§14)
- Examens de biologie moléculaire toujours de seconde intention. Ces analyses sont réalisées au laboratoire de biologie moléculaire du Département (§9)
- Histologie standard de fragments d'ongles, des biopsies de surface et D-squames
- Les examens mycologiques (prélèvements non fixés)
- Cytologie des frottis cutanés

- Examen des cheveux (trichogramme, examen des hampes, recherche de teignes)

Les lames histologiques sont examinées par trois dermatopathologistes.

13.1 LOCALISATION ANATOMIQUE DU PRELEVEMENT

La « peau » n'est plus considérée comme organe unique. Le Registre national du Cancer a édité une liste de sites anatomiques qu'il convient d'utiliser afin de préciser la localisation du prélèvement sur toute demande d'analyse.

D'une part ces précision permettent d'évaluer les statistiques des lésions cancéreuses avec plus de précision et permet d'autre part une facturation des biopsies provenant de localisations différentes considérées comme champs opératoires différents; on peut ainsi facturer un maximum de 3 biopsies par demande pour autant qu'elles proviennent de 3 localisations anatomique différentes, définies par un code SNOMED-T et appartenant a la liste ci-dessous :

<i>Localisation</i>	<i>Registre du cancer</i>	<i>Code SNOMED- T</i>
<i>Front, sourcil, nez, joue, menton</i>	<i>= Face</i>	<i>T-02120</i>
<i>Cuir chevelu</i>	<i>=Cuir Chevelu</i>	<i>T-02102</i>
<i>Cou, Nuque</i>	<i>=Cou, Nuque</i>	<i>T-02300</i>
<i>Paupière</i>	<i>= Paupière</i>	<i>T-02130</i>
<i>Oreille</i>	<i>= Oreille</i>	<i>T-02200</i>
<i>Lèvre</i>	<i>= Lèvre</i>	<i>T-02150</i>
<i>Dos, tronc, ventre, seins</i>	<i>= Tronc</i>	<i>T-02400</i>
<i>Main, avant-bras, bras, épaule, coude</i>	<i>= Bras</i>	<i>T-02605</i>
<i>Pied, Jambe, Genou, Cuisse, Fesse,Hanche</i>	<i>= Jambe</i>	<i>T-02805</i>
<i>Muqueuse</i>	<i>= Muqueuse</i>	<i>T-51300</i>
<i>Scrotum</i>	<i>=Scrotum</i>	<i>T-02545</i>
<i>Vulve</i>	<i>=Vulve</i>	<i>T-02511</i>
<i>Pénis</i>	<i>=Pénis</i>	<i>T-02530</i>
<i>ongle</i>	<i>Sans objet</i>	<i>T-01600</i>

13.2 PRINCIPES GENERAUX POUR LES BIOPSIES STANDARDS A VISEE DIAGNOSTIQUE.

Les conditions générales pour une bonne fixation du prélèvement sont les mêmes que celles décrites au point 7 de cette procédure.

Les conditions décrites au point 6.3 pour la réalisation d'examen extemporané sont applicables également ici.

- Biopsier des lésions susceptibles de donner un diagnostic histologique
- Si la distribution des lésions est inhabituelle effectuer des biopsies sur les lésions atypiques aussi bien que sur les lésions typiques. La réalisation de biopsies dans des lésions cliniquement différentes permet d'augmenter les chances de trouver des lésions histopathologiques typiques et d'évaluer le spectre complet des lésions
- Prélever en priorité les lésions élémentaires (macule, papule, vésicule, bulle nodule, tumeur...) pour les analyser en priorité
- Eviter les lésions secondaires (cicatricielles, remaniées, nécrosées) ou faisant l'objet d'un traitement topique
- Les lésions vésiculo-bulleuses, souvent transitoires doivent être prélevées le plus tôt possible

13.2.1 Sites de biopsie

- Pathologie tumorale : biopsie en zone lésionnelle
 - Pathologie inflammatoire non bulleuse : biopsie centrée sur une lésion récente non remaniée
 - Ulcère : biopsie des bords
 - Pathologie bulleuse : biopsie à cheval sur la peau saine et la peau lésée
- C'est là que les altérations sont les mieux visibles et comparables au tissu sain.

En dehors de pathologies bulleuses le prélèvement à cheval sur la lésion ne présente généralement pas d'intérêt. Une trop grande quantité de tissu sain risque d'être prélevé et les opérations de recoupe au laboratoire risquent de sélectionner uniquement du tissu sain.

13.2.2 Type de biopsies

Diverses techniques de prélèvement peuvent être pratiquées en fonction de la lésion à examiner.

13.2.2.1 Biopsies au punch

Les biopsies sont réalisées avec un punch de grandeur suffisante pour permettre d'examiner l'architecture de la lésion biopsiée, tant en latéral qu'en profondeur. Un punch de 4mm est en général suffisant.

Les biopsies au punch de 2 ou 3mm sont réservées aux endroits délicats à prélever.

Indiquer toujours le type de punch utilisé pour éviter les erreurs d'orientation lors des manipulations au laboratoire.

La biopsie au punch du cuir chevelu est recommandée pour le diagnostic d'alopecie cicatricielle. Dans ce cas, réaliser un prélèvement en bordure de la lésion, suffisamment profond pour inclure le tissu sous-cutané.

Les Artéfacts liés à la biopsie au punch

- Modifications histologiques liées à l'utilisation de la lidocaïne/prolocaïne et de l'Emla

Son utilisation est donc à signaler.

- Artéfact d'écrasement du à la pince provoquant une fausse impression de densification du derme ou une image de pseudo-kyste
- Trou lié à l'utilisation d'une aiguille pour extirper la carotte biopsie du punch
- Décollement de la jonction dermo-épidermique en bordure eu punch
- Artéfact de coagulation (électrocoagulation)

13.2.2.2 Biopsies incisionnelles en ellipse au bistouri

Elles sont préférées

- dans les suspicions d'atteinte de l'hypoderme telle que les panniculites
- dans les lésions fragiles (vésicule, bulle, pustule) où la biopsie au punch par rotation peut endommager la lésion.

Pour les biopsies incisionnelles en ellipse préciser, si nécessaire le sens de coupe souhaité (petit ou grand axe).

13.3 PRINCIPES GENERAUX POUR LES BIOPSIES EXCISIONNELLES

13.3.1 Biopsie excisionnelles au bistouri

Pour chaque pièce opératoire orientée par des fils il faut préciser clairement sur la demande le nombre, le type de fil (couleur, longueur) et leur localisation.

13.3.2 Biopsie excisionnelle au punch

Les biopsies excisionnelles au punch sont possibles pour autant que la totalité de la lésion entre dans le punch.

Elles sont à éviter pour les tumeurs mélanocytaires atypiques. En effet, le diagnostic de mélanome repose notamment sur des critères architecturaux (mode d'extension latérale et profond, symétrie-asymétrie, délimitation).

Si le prélèvement n'est que partiel (carottage ou biopsie par incision), ces éléments diagnostic essentiels font défauts. Si l'échantillon de biopsie provient accidentellement

d'un endroit « pseudo-bénin » la probabilité d'un diagnostic erroné est considérable. Pour les lésions de grande taille il faut parfois se contenter d'un ou plusieurs échantillons de la lésion prélevés dans les zones plus épaisses et les plus atypiques.

L'échantillon prélevé doit respecter ces règles simples surtout pour le diagnostic de mélanome où l'épaisseur de la lésion influence le pronostic de la tumeur et la prise en charge de la lésion (indice de Breslow).

En cas de suspicion de mélanome la shave-biopsie est contre indiquée.

13.3.3 Shave excision ou shave biopsy

C'est une technique simple, aux indications limitées, réservée aux lésions non pigmentées et aux lésions superficielles telles que : acrochordons, angiofibromes, kératose séborrhéiques.

L'excision effectuée dans le plan parallèle à la peau, de façon tangentielle à l'aide d'un bistouri ou d'une lame incurvée. Cette technique est contre indiquée en suspicion de lésion « infiltrante ».

13.3.4 Le grattage plus électrocoagulation

Elle consiste à utiliser une curette pour réséquer une lésion dans toute sa portion visible.

Elle convient aux verrues, aux molluscums contagiosums, aux condylomes, la kératose et à d'autres lésions bénignes.

Elle à des indications thérapeutiques mais pas diagnostic.

NB : Les recommandations ci-dessus reposent sur la littérature. Tout médecin pratiquant une biopsie cutanée demeure un clinicien indépendant faisant preuve de jugement clinique dans chaque situation.

13.4 PRELEVEMENTS NON FIXES

- Prélèvements d'ongles
- Prélèvements de surface (biopsie de surface et D-squames)
- Prélèvements de squames
- Frottis
- Prélèvements de cheveux

Remarque : Ce type de prélèvement a l'avantage de permettre une mise en culture mycologique. Si elle est souhaitée, ne pas oublier de cocher la case dédiée de la demande. Dans ce cas réaliser idéalement 2 prélèvements. Elle est également réalisée si le dermatopathologiste l'estime pertinent.

Ce type de prélèvement doit toujours nous parvenir non fixé et emballé séparément de la demande. Il est préférable d'utiliser les petites enveloppes spéciales qui sont mises à disposition, à la demande, par le laboratoire.

13.4.1 Les prélèvements d'ongles

A l'aide d'une pince stérile découper la tablette unguéale lésée, au plus près du front mycélien, en prélevant, tant que possible la kératine hyponychiale.

Placer le prélèvement dans l'enveloppe ad hoc.

Des coupes histologiques de l'ongle sont réalisées grâce à des techniques adaptées à ce type de prélèvement. Une coloration standard au P.A.S. est réalisée ainsi qu'une culture mycologique.

13.4.2 Les biopsies de surface

Les biopsies de surface sont des languettes de plastique (polyester) de 70x14mm, fournie à la demande par le laboratoire.

L'usage de tout autre support ou plastique est inapproprié et rend l'analyse impossible.

Utiliser une colle à base de cyanoacrylate, de type Super-Glue que l'on se procure aisément, en grande surface (Ne pas utiliser la colle en gel).

Appliquer la gouttelette de cyanoacrylate sur la lamelle de plastique en un point excentrique de sa surface afin de ménager une zone indemne de colle qui sera utilisée au laboratoire pour l'identification du prélèvement. Appliquer fermement sur la lésion durant 30 secondes et retirer doucement. Pour les zones pileuses raser préalablement et pour les prélèvements de paumes ou de plantes effectuer un mouvement tournant pour retirer la languette. Au niveau du visage démaquiller la peau si nécessaire.

Pour un meilleur résultat dégraisser la languette au préalable avec de l'alcool.

Cette technique permet de prélever la partie superficielle de la couche cornée (3 à 5 assises de corcénoyocytes). La méthode est non invasive et pratiquement indolore. Elle peut s'appliquer à tous les endroits du corps.

13.4.3 Les D-squames

Les D-Squames sont des pastilles autocollantes à appliquer directement sur l'épiderme.

Le principe est le même que celui de la biopsie de surface. Les prélèvements sont plus rapides et très aisés à réaliser. Ils sont cependant moins épais et moins riches en éléments interprétables. Ils sont fournis sur demandes par le laboratoire.

13.4.3.1 Indication d'utilisation du D-squame et de la biopsie de surface

Le D-squame est indiquée prioritairement dans le diagnostic de :

- ✓ Dermatomycose
- ✓ Pityriasis versicolor
- ✓ Dermatite séborrhéique
- ✓ Gale
- ✓ oxyure

La biopsie de surface est indiquée

-dans le diagnostic de :

- ✓ Kératose séborrhéique
- ✓ Herpès et VZV

-dans l'orientation du diagnostic de lésion mélanocytaire atypique

La biopsie de surface est également utilisable dans les indications décrites pour le D-squame.

13.4.4 Les squames

Prélever les squames en grattant à l'aide d'un scalpel et les placer dans un pot ou dans une enveloppe dédiée (éviter de les placer entre 2 lames).

Rem : Les fragments de taille plus importante seront traités comme des biopsies standards car leur examen direct au microscope est impossible.

13.4.5 Les frottis

Les frottis dédiés à la recherche de mycose peuvent être réalisés sur des lames de verre standards. Ils doivent être emballés, sans être fixés, à part de la demande.

Les frottis réalisés dans le cadre herpès –varicelle-zona doivent être réalisés sur des lames Superfrost®. Trois lames minimum sont nécessaires pour réaliser les examens.

Des pochettes cartonnées contenant ces lames sont fournies sur demande, par le laboratoire.

Rem : La partie technique de mise en culture des prélèvements non fixés est réalisée au laboratoire mais la lecture est confiée au laboratoire de microbiologie. Elle peut si nécessaire réaliser des analyses complémentaires.

Ce type de prélèvement doit donc nous parvenir d'emblée et nous assurons le suivi vers le service de microbiologie. Les résultats obtenus en la microbiologie sont

transmis aux dermatopathologistes qui au regard de l'histologie standard protocotent les résultats finaux des l'analyses.

13.4.6 Les examens de cheveux

13.4.6.1 La recherche de teignes

Une coloration au P.A.S du matériel fourni est réalisée ainsi qu'une culture mycologique.

13.4.6.2 Le trichogramme

Le trichogramme est réalisé à partir d'un minimum une trentaine de cheveux arrachés du cuir chevelu qui n'ont pas été lavés préalablement depuis trois à quatre jours.

- Prendre les cheveux dans une pince Cocher droite avec griffes renforcées
- Prélever une trentaine de cheveux par zone à analyser
- Tirer dans le sens des cheveux
- Avant d'ouvrir la pince Enrouler un adhésif de type Micropore® autour de la mèche arrachée à 1cm des racines pour former une sorte de petit pinceau.
- Placer le prélèvement dans l'enveloppe dédiée ou emballer le prélèvement, à part de la demande.

13.4.6.3 L'examen des hampes

- Prendre un vingtaine de cheveux avec une pince à la base du cuir chevelu
- Couper les cheveux
- Placer les entre 2 lames de verre
- Coller les deux lames ensemble avec un adhésif de type Micropore® à chaque extrémité
- Orienter le prélèvement : proximal /distal
- Placer le prélèvement dans l'enveloppe dédiée ou emballer le prélèvement, a par de la demande

13.5 LES EXAMENS COMPLEMENTAIRES

13.5.1 Microscopie électronique

Elle peut être demandée en première intention, conjointement avec une histologie standard, notamment dans le dépistage des maladies du tissu conjonctif. Les conditions de prélèvement, modalités et les délais de réponse sont les mêmes que celles décrite au § 14

Les pots de fixateur spécifique (glutaraldéhyde) peuvent être fournis par le laboratoire de dermatopathologie. Idéalement une biopsie doit être réalisée pour l'histologie standard et une pour l'examen en microscopie électronique. Il est préférable de faire un punch de 4mm par analyse plutôt que de couper une ellipse en 2.

13.5.2 Immunohistologie

En interne, le dermatopathologiste prescrit électroniquement les immunohistologies en seconde intention.

Si la demande provient d'un client externe (PAT.ORIGINE.GES), il utilise le formulaire de demande dédiée au service de Dermatopathologie (MQ.A11.02).

Les tests sont réalisés quotidiennement en semaine et le délai moyen de réponse est de 10 jours.

Le résultat est intégré au protocole dermatopathologique ou fera l'objet d'un protocole additionnel.

Le médecin signataire est disponible pour tous renseignements complémentaires.

13.5.3 Biologie moléculaire

Elle est demandée si nécessaire en seconde intention par le dermatopathologiste.

Les modalités pratiques et délais de réponse décrits au point 6.2 sont également d'application ici.

13.6 DELAI DE REPONSE EN DERMATOPATHOLOGIE

13.6.1 Examens histologiques standards

Les examens histologiques standards sont réalisés tous les jours en semaine. Le délai de réponse moyen est de 5 jours.

13.3.2 Délai de réponse moyen pour les prélèvements non fixés

- Biopsie de surface : sans culture → 8 jours
: avec culture → 20 jours
- Prélèvements d'ongles : → 20 jours
- Examens des cheveux : recherche de teignes → 20 jours
: examen des hampes et trichogrammes → 15 jours

14 MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Les prélèvements doivent être de volume millimétriques et impérativement fixé dans la **Glutaraldéhyde**, un fixateur spécial fourni au préleveur en petits flacons sur demande.

Ce fixateur est très toxique par voie orale, simple contact ou inhalation, voir §3.

L'immersion des échantillons doit être effectuée rapidement, sans agitation du fixateur, avec une fermeture immédiate et parfaite du flacon.

La microscopie électronique est une technique de dernière intention, jamais urgente et qui demande des préparatifs minutieux et précis : le prélèvement doit être inclus dans une résine époxy très dure, il sera ensuite débité en sections ultrafines cent fois plus minces qu'en histologie conventionnelle. La « coloration » se fait par contact avec des métaux lourds opaques aux électrons (actétate d'uranyle, citrate de plomb, tétrioxide d'osmium) et qui céeront une image contrastée dans le microscope dont la résolution à des grossissements de routine de 10.000 à 60.000 x (contre x 1000 max en microscopie optique) permet de visualiser des organites et des structures sub-cellulaires jusqu'à l'échelle moléculaire.

Le délai de réponse de ce type d'analyse est parfois très long (plusieurs semaines, mois) en raison des particularités techniques citées.

15 TRANSMISSION DES RESULTATS

Les comptes rendus d'Anatomie pathologique sont validés médicalement par un médecin spécialiste en anatomie pathologique puis sont transmis par courrier papier ou électroniquement selon les prescripteurs.

L'envoi papier par courrier postal est assuré aux prescripteurs externes non abonnés a un courrier électronique.

Les autres envois sont réalisés électroniquement via OMNIPRO et MEXI toutes les deux heures, jours ouvrables.

Les technologues d'Anatomie pathologique ne sont pas autorisés à répondre aux demandes de résultats ; ils redirigeront toujours l'appelant vers le secrétariat ou un pathologiste.

Les technologues de Dermatopathologie sont habilités à transmettre à un médecin prescripteur un résultat présent dans Diamic et validé définitivement par un pathologiste.

Les secrétaires sont habilitées à transmettre oralement, et après identification de l'appelant qui doit être le médecin prescripteur, un résultat qui a été validé définitivement par un pathologiste. Si le résultat n'est pas définitif, l'appelant sera invité à contacter directement un pathologiste.

La trace des appels et des litiges éventuels sont enregistrés dans notre système qualité.

Aucun résultat n'est directement transmis ni oralement ni par écrit au patient qui sera redirigé vers son médecin traitant, seul habilité à interpréter correctement un protocole éventuellement complexe.

Une exception est faite pour des résultats gynécologiques de frottis de dépistage où une copie du protocole peut être livrée au patient à la condition que ce souhait ait été émis par le prescripteur par écrit sur le formulaire de demande d'analyses.

16 DELAIS DE REPONSES

Les délais de réponse de chaque analyse ou groupe d'analyses basées sur une méthodologie commune (par exemple « les » immunohistologies) constituent un **indicateur qualité** qui est **périodiquement suivi puis analysé en Revue de Direction**.

Le délai de réponse est défini par le **temps écoulé entre la date de réception de l'échantillon et la transmission du compte rendu médical au prescripteur**. S'il s'agit d'analyses demandées sur des prélèvements anciennement réalisés (les blocs de paraffine sont conservés 30 ans) , ce délai débute à la réception de la demande d'analyses au laboratoire et non plus à la date de prélèvement, sans objet.

Ces délais sont appelés « TAT », abréviation anglaise de « Turn Around Time » ; ils sont variables et fluctuent au cours du temps selon la charge de travail et les impondérables techniques et humains: il n'est pas possible de publier ici chacune de ces variations cependant exploitées dans un tableau de bord au laboratoire

Pour cette raison, les délais de réponse publiés ici ne sont qu'indicatifs du délai raisonnable d'attente d'un résultat : **ils sont fixés** et correspondent à **une moyenne mobile générale de TAT calculés sur les 4 dernières années** et arrondi au jour supérieur.

L'histologie/cytologie générale est la technique de première intention. Les autres analyses, en règle générale mais pas toujours, suivent en seconde ou troisième intention avec leur propre délai qui s'ajoute au premier. On comprend que le délai global d'une séquence d'analyses peut être très important en fonction de la complexité rencontrée. La réduction de ces délais reste notre priorité majeure

Les analyses marquées d'un astérisque (*) sont réalisées en collaboration avec le service de génétique : la demande initiale parvient au service d'anatomie pathologique qui extrait l'ADN de prélèvement inclus en bloc de paraffine; cet ADN est ensuite transmis au service de génétique qui procède à l'analyse génétique prescrite et qui rédige puis transmet le protocole médical. final: Le délai de réponse est la durée totale de traitement dans les deux services.

	Technique	Délai moyen	Intention
Histologie générale :			
Examen extemporané	Coloration Hématoxyline-eosine (HE)	45 minutes (urgence)	1
Biopsie standard	HE et/ou colo.spéciale	6	1
Biopsie chirurgicale	HE et/ou colo.spéciale	8	1
Cytologie non gynécologique	HE et/ou colo.spéciale	5	1
Cytologie gynécologique	Papanicolaou	6	1
Immunohistologie :			
Immunohistologie -panel de > 200 anticorps	DAB/automate Roche Benchmark Ultra	8	2
Immunohistologie oncologique -HER2/Neu -Récepteurs ER	DAB/automate Roche Benchmark Ultra	6	2

-Récepteurs PR -EGFR -CD117 (c-kit) -ALK			
Biologie moléculaire			
HPV	real-time PCR qualitative ; automates Abbott (m2000sp et m2000rt)	7	2
Réarrangements Lymphomes B	Amplification qualitative par PCR (kit IdentitClone IGH gene clonality assays d'IVS) et analyse de fragment par électrophorèse capillaire ; Séquenceur/analyseur de fragment	14	2
Réarrangements Lymphomes T (Récepteurs β et γ)	Amplification qualitative par PCR (kit IdentitClone IGH gene clonality assays d'IVS) et analyse de fragment par électrophorèse capillaire ; Séquenceur/analyseur de fragment	14	2
Extraction d'ADN	Abbott, à partir Tissus FFPE (Formalin Fixed and Paraffin Embedded)	4	2
SISH HER2NEU sein et gastrique	SISH-Benchmark Ultra Hybridation in situ argentique à partir de tissus <i>in bloc</i> de paraffine FFPE	4	3
autres FISH (*) : réarrangement des gènes : -BCL2 -BCL6 -CCND1 -MALT -C-MYC -ALK lymphomes	Hybridation in situ en fluorescence, sonde break apart ; microscopie à fluorescence, à partir de tissus <i>in bloc</i> de paraffine FFPE	10	2

-ALK poumon -EWSR1 -SYT -DDIT3 -FOX01			
EGFR (*) Détection de mutations acquises du gène EGFR (exons 18, 19, 20 et 21)	ADN extrait de Tissus FFPE (Formalin Fixed and Paraffin Embedded) Séquençage type Sanger (automatisé ou non)	10	2
MGMT (*)	ADN extrait de Tissus FFPE (Formalin Fixed and Paraffin Embedded) MS-PCR	10	2
KRAS, NRAS, (*)	ADN extrait de Tissus FFPE (Formalin Fixed and Paraffin Embedded) Pyroséquençage	10	2
BRAF (*)	ADN extrait de Tissus FFPE (Formalin Fixed and Paraffin Embedded) Pyroséquençage	13	2
GIST (*)	ADN extrait de Tissus FFPE (Formalin Fixed and Paraffin Embedded) PCR ;Analyse de fragments ; Séquençage type Sanger (automatisé ou non)	20	2
Autres secteurs :			
Microscopie électronique	Contraste uranyl/plomb	30	3
Autopsie protocole provisoire puis définitif	HE	Variable > 2 mois	Sans objet

17 ANNEXES

PAT.PRELEV.GES.A11 : prélèvement mammaire, copie page 13 de cette procédure.