

Consignes de prélèvement et d'envoi des échantillons en Anatomie Pathologique

Anatomopathologie

Date d'application : 27/04/2021



Consignes de prélèvement et d'envoi des échantillons en Anatomie Pathologique

Prof. Christine Galant, Chef de Service Dr.Sc. Yves Guiot, Responsable Opérationnel



Table des matières

1. Introduction

2. Présentation du Service d'Anatomie Pathologique

3. Acheminement des prélèvements

- 3.1 Prélèvement interne
- 3.2 Prélèvement externe
- 3.3 Sécurité et hygiène

4. Demande d'analyse

- 4.1 Bon de demande d'analyse
- 4.2 Information à fournir

5. Type de prélèvement

- 5.1 Histologie
 - 5.1.a Biopsie et pièce opératoire
 - 5.1.b Examen extemporané
 - 5.1.c Autopsie
- 5.2 Cytologie
 - 5.2.a Prélèvement gynécologique
 - 5.2.b Prélèvement non-gynécologique
- 5.3 Sérum

6. Techniques générales

- 6.1 Histochimie
- 6.2 Immunohistochimie
- 6.3 Pathologie Moléculaire
- 6.4 Microscopie électronique

7. Transmission des résultats

8. Annexe

	Révision	Spécification de la révision	Auteur / Approbation	Date d'implémentation	
	1.0	Mise à jour mineures	Y. Guiot	05/03/2021	
		Changement du FORM-4221 en DSQ	Approbation : C. Galant		
	2.0	Révision du contenu : Communication des résultats	Y. Guiot	27/04/2021	
	2.0		Approbation : C. Galant	27/04/2021	
	3.0	Mise en page : Publication internet	Y. Guiot	27/04/2021	
	5.0		Approbation : C. Galant		

1. Introduction

Ce manuel de prélèvement est destiné aux cliniciens, tant internes qu'externes aux Cliniques Universitaires Saint-Luc, qui adressent leurs échantillons au service d'Anatomie Pathologique.

L'anatomie pathologique est basée sur l'étude morphologique conventionnelle des prélèvements menés principalement au microscope optique. Les données morphologiques peuvent être complétées par des méthodes telles que l'immunohistochimie, la biologie/pathologie moléculaire ou encore la microscopie électronique. Quelles que soient les techniques appliquées, la qualité du diagnostic dépend de celle du prélèvement effectué et de sa préservation.

Depuis plusieurs années, notre service s'est engagé dans une démarche qualité qui respecte les exigences de la norme ISO15189 dont l'objectif majeur est d'assurer la maîtrise et la fiabilité des résultats d'analyses. Cette démarche prend déjà corps à l'étape du pré-analytique puisque la majorité des échecs diagnostiques est liée à des manquements dans la préservation du prélèvement avant l'arrivée au laboratoire. Ce manuel reprend donc les recommandations pré-analytiques primordiales à l'obtention et à la préservation optimales des prélèvements à analyser en anatomie pathologique.

NB:

- CGL : Centre de gestion des échantillons de laboratoire
- Pré-analytique : Ensemble de facteurs qui peuvent influencer le résultat de l'analyse d'un échantillon avant qu'elle ne commence. Ces facteurs sont par exemple : la prescription, l'identification du patient, le type de prélèvement, son conditionnement et les conditions de transport des échantillons jusqu'à leur prise en charge au laboratoire.

2. Présentation du Service d'Anatomie Pathologique

- Localisation:

Service d'Anatomie Pathologique Cliniques Universitaires Saint-Luc, Tour R. Franklin, niveau -1, entrée F av. Mounier, B-1200 Bruxelles

Numéro de téléphone:

Secrétariat médical : 02/764.67.37 à 41

Fax: 02/764.69.34

- Responsables :

Prof. Ch. Galant, Chef de service, Directeur du laboratoire d'Anatomie Pathologique

Contact: 02/7646753; christine.galant@uclouvain.be

Dr. Sc. Y. Guiot, Responsable opérationnel Contact: 02/7646760; vves.guiot@uclouvain.be

- Heures d'ouverture

- Présence du personnel administratif du lundi au vendredi : 08h30 à 16h50
- La collecte d'échantillons au départ du CGL et leur prise en charge est assurée en continu de 08h15 à 16h30.
- Service de garde sur place : 08h00 jusqu'à 19h00, ext. 46804
- Service de garde en dehors des plages horaires reprises ci-dessus ou durant les week-ends et jours fériés est assuré par un assistant et un médecin superviseur, à contacter :
 - Soit via le GSM 0474 /771275
 - Soit via le DICO des Cliniques universitaires Saint-Luc au numéro 02/764.37.00 : demander l'assistant de garde d'anatomie pathologique.

La liste des gardes est fournie au DICO et est accessible par intranet.

- Références

Numéro d'agrément : 26969

Norme ISO15189, Certificat Belac 369MED d'application suivant les analyses



- Equipe médicale

Pathologiste	Secteurs	Téléphone	E-mail
Prof. AYDIN Selda	Néphrologie, Pathologie Surrénale, Cardiologie	02/764 67 63	selda.aydin@uclouvain.be
Dr. BALDIN Pamela	Pathologie Foeto-Placentaire, Pathologie Colo-rectale	02/764 78 38	pamela.baldin@uclouvain.be
Prof. CAMBONI Alessandra	Hématologie Pathologie Thyroïdienne	02/764 67 58	alessandra.camboni@uclouvain.be
Dr. DACHELET Claire	Dermatologie	02/764 68 52	claire.dachelet@uclouvain.be
Dr. DANO Hélène	Pathologie Urologique Pathologie Oeso-gastrique	02/764 79 70	helene.dano@uclouvain.be
Dr De ROO An-Katrien	Tissu mou, Malformation Vasculaire, Dermatopathologie	02/764 68 57	an-katrien.deroo@uclouvain.be
Prof. GALANT Christine	Pathologie Osseuse, Mammaire et Ostéo-Articulaire Cytologie cervico-vaginale	02/764 67 53	christine.galant@uclouvain.be
Dr HENRY Paulina	Pathologie Hépato-Bilio- Pancréatique	02/764 67 24	paulina.henry@uclouvain.be
Dr. HOTON Delphine	Pneumologie, Cytologie	02/764 67 64	delphine.hoton@uclouvain.be
Dr. LELOTTE Julie	Neuropathologie, Dermatopathologie Autopsie	02/764 68 05	julie.lelotte@uclouvain.be
Prof. MARBAIX Etienne	Gynécologie	02 764 67 55	etienne.marbaix@uclouvain.be
Prof. MAROT Liliane	Dermatopathologie	02/764 67 59	liliane.marot@uclouvain.be
Dr. SCHMIT Gregory	Médecine Légale	02/764 67 49	gregory.schmit@uclouvain.be
Prof. VAN BOCKSTAL Mieke	Pathologie Mammaire	02/764 67 38	mieke.vanbockstal@uclouvain.be
Prof VAN DEN BERGH Peter	Pathologie Neuromusculaire	02/764 67 52	peter.vandenbergh@uclouvain.be
Dr. VAN EECKHOUT Pascal	Dermatopathologie, ORL Ophtalmo	02/764 67 50	pascal.vaneeckhout@uclouvain.be
Dr. VANHAEBOST Jessica	Médecine Légale	02/764 67 44	jessica.vanhaebost@uclouvain.be

NB: Les secteurs sont donnés à titre indicatifs. Ils peuvent être partagés entre plusieurs pathologistes

Pathologique

3. Acheminement des prélèvements

3.1 Prélèvement interne

Les prélèvements internes aux Cliniques Universitaires Saint-Luc parviennent au laboratoire soit:

- En provenance directement de la salle opératoire via le tube pneumatique
- Par le vertilift en provenance du Centre de Gestion des Laboratoires (CGL; permanence 24h/24h qui assure le transfert vers le service d'anatomie pathologique). Le CGL regroupe des demandes d'analyses issues des consultations, des salles d'endoscopie ou de la réception des colis postaux.
- Ou encore sont apportés en <u>main propre</u> au laboratoire par le médecin préleveur, son assistant, un stagiaire médecin ou une infirmière. Cette solution n'est pas favorisée sauf si un contact direct est requis pour expliquer le cas.

L'envoi de prélèvements <u>urgents</u> (examens extemporanés) ou <u>particuliers</u> (biopsies rénales et neuromusculaires à frais, culture cellulaire, banque de tumeurs, ...) doit être annoncé au laboratoire par contact téléphonique (ext. 46804), avec le technicien de garde, l'assistant de garde ou le pathologiste superviseur du secteur.

3.2 Prélèvement externe

Acheminement

Les prélèvements externes à l'hôpital sont pris en charge par :

- Navette. Les jours et heures de passage sont disponibles sur demande au CGL, tel : 02/764.67.02 (entre 7h30 et 16h00). Si des changements sont souhaités, il est impératif de contacter Y. Guiot (02/764.67.60) qui se chargera de donner suite à la demande.
- Coursier (au choix du médecin préleveur ou d'un laboratoire extérieur),
- Courrier postal.
- Et arrive au CGL qui redistribue ensuite les prélèvements au laboratoire, via la vertilift.

Précisions administratives

- En cas de blocs de **paraffine** ou de lames envoyés par un centre extérieur (avis, relecture,...) le protocole anatomo-pathologique est joint à la demande. Ce matériel sera restitué au laboratoire extérieur après analyse.
- En cas d'envoi de **tissu frais**, il est impératif de le mentionner sur l'enveloppe ou tout autre contenant afin d'assurer une prise en charge rapide et optimale. Un contact téléphonique préalable est souhaitable afin d'assurer le meilleur suivi possible.

3.3 Sécurité et hygiène

Les prélèvements peuvent nous être acheminés dans tout type de récipient ou sac plastique hermétiquement fermé. Il est souhaitable d'informer le laboratoire sur le statut infectieux avéré ou supposé (HIV, hépatite C, ...) du prélèvement.

Les conditions de sécurité à prendre par notre personnel dépendront du poste de travail et de l'opération à effectuer. Toutefois, d'une manière générale, tous les tissus ou fluides biologiques sont considérés comme potentiellement infectieux.

4. Demande d'analyse

4.1 Bon de demande d'analyse

Chaque prélèvement est accompagné soit:

- d'un bon de demande électronique spécifique à EPIC/Beaker (cas interne aux CUSL)
- d'un bon de demande **d'examen anatomo-pathologique spécifique** aux biopsies et cytologies ou respectivement appelé form-4904 et form-5159.
- d'un bon de demande **d'analyses spécifiques** (pathologie moléculaire, immunohistochimie) reprenant les conditions d'envoi (form-4201). Si l'absence du bon suscite une ambiguïté, une non-conformité sera établie si l'ambiguïté persiste.
- ou encore d'une lettre lorsqu'ils proviennent d'un autre laboratoire, reprenant au minimum les informations reprises ci-dessous.

NB : Les bons de demande d'analyse sont disponibles au secrétariat d'Anatomie Pathologique et peuvent être envoyés à la demande du préleveur.

4.2 Informations à fournir

Les informations administratives et cliniques doivent être libellées de manière précise, lisible et non équivoque sur le bon de demande d'analyse. Elles concernent :

- Le patient : nom, prénom, sexe, date de naissance (+ adresse si prélèvement extérieur, + n°NISS si prélèvement extérieur (et si existant))
- Le prélèvement : nature, localisation date et heure de prélèvement,
- Le prescripteur : nom, prénom, signature, numéro INAMI et
- Les coordonnées des médecins destinataires éventuels devant recevoir copie du compte-rendu

En outre, l'identification du patient et la nature du prélèvement doivent également figurer son contenant.

En l'absence d'un de ces éléments d'identification, des dispositions sont prises pour obtenir le plus rapidement possible l'(les) information(s) manquante(s). Le nom de l'interlocuteur sera inscrit sur le bon de demande.

<u>Si le prélèvement est attribuable à un patient</u>, il sera quand même traité et recevra un numéro d'analyse propre au service.

Une fiche de non-conformité sera établie et pourra faire l'objet d'une mention dans le protocole final en cas de nécessité ou de risque pour l'interprétation de l'analyse.

<u>Si le prélèvement n'est pas attribuable à un patient</u> et que le cette information ne peut être fournie après contact avec le prescripteur, le prélèvement lui sera renvoyé avec une lettre demandant de régulariser.

5. Type de prélèvements

Le service d'Anatomie Pathologique analyse différents types de prélèvements tels que les pièces opératoires et d'autopsies, les biopsies, les frottis cytologiques, gynécologiques et non gynécologiques, les ponctions d'organes profonds, ...

Version 3.0

5.1 Histologie

L'histologie correspond à l'examen de prélèvements tissulaires obtenus soit par:

- Biopsie
- Dissection d'une pièce opératoire
- Ou en provenance d'une autopsie

5.1.a. Biopsie et pièce opératoire

Une biopsie est un petit fragment de tissu prélevé par diverses méthodes (pinces, trocart, bistouri, etc.). En général, le tissu prélevé est pris en compte dans son intégralité et techniqué. Par contre, pour les pièces opératoires, un examen macroscopique est nécessaire afin d'orienter le choix et le nombre des zones qui seront prélevées pour l'étude histopathologique en fonction des guidelines reprises de la littérature. Une photographie macroscopique de la pièce opératoire est réalisée.

1. Acheminement: provenance de la salle d'opération

Toutes les pièces non fixées doivent être acheminées vers le service d'anatomopathologie endéans la ½ heure au risque de ne pouvoir rendre un diagnostic histopathologique correct pour le patient.

Toutes les pièces opératoires sont adressées au service d'Anatomie Pathologique via le télétube pneumatique. Ce tube relie directement le quartier opératoire à la salle de macroscopie où le personnel administratif, technique ou médical se charge du suivi immédiat du prélèvement.

En cas de panne du télétube, une procédure particulière d'acheminement interne est d'application et est disponible au quartier opératoire.

2. Acheminement: provenance autre que la salle d'opération

Les prélèvements en provenance d'autres sites que les salles d'opérations, notamment des locaux de consultation sont acheminés soit via le CGL soit directement en Anatomie Pathologique par le personnel qui a effectué le prélèvement.

3. Procédure de fixation

La fixation, étape essentielle dans la préparation tissulaire, permet de prévenir l'autolyse et de conserver la structure des tissus.

Le choix du type de fixateur incombe aux pathologistes. Seuls les prélèvements histologiques fixés au formol à 10% tamponné à pH neutre pourront être analysés par <u>les techniques de biologie moléculaire et de détection immunohistochimique accréditées</u>. Les pots de formol sont mis à la disposition des laboratoires et envoyés sur demande des préleveurs.

Aucun autre type fixateur ne sera accepté. Exceptionnellement, si le prélèvement est irremplaçable et/ou indivisible, le(s) pathologiste(s) responsable(s) du secteur pourra(ont) décider de maintenir la demande d'analyse. La non-conformité de l'échantillon sera obligatoirement mentionnée dans le rapport final, ce qui dégagera indiscutablement le service d'anatomie pathologique d'une réalisation et/ou d'une interprétation jugée inappropriée.

Paramètres techniques

- Pour une fixation optimale, l'immersion du prélèvement dans le fixateur sera réalisée immédiatement et tout au plus dans un délai d'une heure.
- Fixateur: formol 10% tamponné à pH 7.2 idéalement (acceptable de pH 7.0 à 7.4).

- La quantité de formol doit recouvrir en totalité l'échantillon et correspondre à au moins 5 fois son volume.
- Durée de fixation des biopsies : minimum de 2h à 6h (suivant le volume du prélèvement) et maximum de 72 heures avant d'entamer le processus d'enrobage.
- Durée de fixation des pièces opératoires : la durée dépendra du volume du prélèvement et sera définie par le pathologiste ou le technologue spécialisé en charge du prélèvement. En général: 24 à 72 heures.

NB : En ce qui concerne les prélèvements destinés à la banque de tumeur, il est recommandé de se référer aux instructions de la biothèque (Bip : 46859 ou au 02/764.6859).

4. <u>Procédures de préservation pour biopsies cutanée et immunofluorescence</u>

- Les biopsies cutanées destinées aux techniques d'immunofluorescence sont placées dans le milieu de préservation de Michel, disponible sur simple demande au laboratoire.
- Le choix du milieu de préservation est réalisé par le prescripteur car une biopsie fixée au formol ne peut pas être ensuite transférée dans le milieu de Michel ou congelée en vue de la réalisation de techniques d'immunofluorescence.

5.1.b. Examen extemporané

Examen demandé par un chirurgien lors d'un acte chirurgical alors que le patient est toujours en salle d'opération. Cet examen a pour but d'orienter ou de conditionner le geste thérapeutique chirurgical en fonction de la pathologie rencontrée lors de l'intervention.

Ce type d'examen est considéré comme urgent. Le résultat doit être communiqué endéans les 30 à 40 min (acte technique, lecture par un pathologiste et transmission de l'information en salle d'opération du patient).

Procédure

- Demande électronique réalisée dans EPIC.
- Matériel à envoyer à frais sans aucun fixateur ni solution de préservation.
- Prévenir le technicien/pathologiste de garde (ext. 46804 de 8h à 19h). En dehors de ces heures, l'assistant de garde est joignable via le DICO ou par le numéro de téléphone mobile de garde (cfr. point 2) ;
- Envoyer le prélèvement par le télétube. En cas de panne, le QOP s'organise pour délivrer le prélèvement le plus rapidement possible.
- Dès réception, il s'en suit des étapes techniques de congélation, coupe au cryostat et coloration spécifique à l'Hémalun et éosine.
- Le résultat est communiqué par le pathologiste ou le technicien de garde endéans les 30 min et retranscrit sur le bon de demande.

Ce type d'examen est obligatoirement suivi par un contrôle du résultat obtenu par l'inclusion en paraffine du fragment tissulaire examiné extemporanément. Le résultat de l'extempo et son contrôle seront précisés dans le compte rendu final.

Il faut toutefois noter que les techniques rapides utilisées pour ce type d'examen altèrent la morphologie tissulaire et peuvent rendre difficile leur analyse ultérieure même après fixation et inclusion en paraffine.

5.1.c. Autopsie

Une autopsie consiste en un examen systématique de toutes les parties du corps et de tous les organes en vue de poser un diagnostic post-mortem. Ce diagnostic est confronté aux données cliniques afin de cerner au mieux ou d'éclaircir les circonstances du décès et/ou la/les pathologie(s) dont souffrait le patient.

<u>Procédure</u>

Les autopsies sont réalisées entre 9h et 13h30.

Le clinicien prescripteur s'assure qu'il n'y a pas d'opposition à la réalisation de l'autopsie de la part du défunt ou de ses proches. Une demande électronique via EPIC est réalisée.

Toute demande qui nous parvient après 10h ne sera réalisée que le lendemain matin, sauf urgence dûment justifiée (enlèvement du corps, office religieux, ...).

Le cerveau ne sera prélevé qu'à la demande expresse du médecin demandeur ou en fonction de la pathologie suspectée.

5.2 Cytologie

La cytologie est l'étude microscopique des cellules en dehors de toute organisation tissulaire. Outre l'analyse des cellules en suspension dans des liquides biologiques, comme par exemple les urines, le liquide pleural, d'ascite, elle fait appel principalement à deux techniques de prélèvement, le brossage (organes superficiels ou facilement accessibles) et la ponction (utilisation d'aiguille fine, organe profond), toutes deux éventuellement combinées aux explorations endoscopiques. Ces examens peuvent être accompagnés d'un prélèvement histologique (biopsie).

5.2.a. Prélèvements gynécologiques

On entend par prélèvements gynécologiques les frottis cervico-vaginaux.

La technique utilisée au laboratoire est le ThinPrep PAP Test Hologic

Les flacons PreservCyt (ThinPrep de Hologic) et la méthodologie de prélèvement sont disponibles sur demande et acheminés, en cas de prélèvements extérieurs soit par chauffeur soit par colis postal.

L'échantillon dans la solution de préservation peut être conservé pendant trois mois à température ambiante. La technique est réalisée de manière quotidienne par l'automate ThinPrep5000 Hologic.

La solution ThinPrep de Hologic est préférentiellement utilisée pour préserver les prélèvements cytologiques destinés aux analyses en pathologie moléculaire (typage HPV).

5.2.b. Prélèvements non-gynécologiques

La cytologie non gynécologique comporte la cytologie exfoliative, la cytologie de ponction et de brossage. Les urines, le liquide céphalo-rachidien, les liquides d'épanchement pleural, péricardique, péritonéal ...sont à l'origine de la cytologie exfoliative. La cytologie de brossage est réalisée au moyen d'une brosse et intéresse les épithéliums bronchique, bilio-pancréatique, œsophagien... La cytoponction d'organes comme le sein, la thyroïde, le pancréas, le globe oculaire ou tout organe profond sont réalisés à l'aiguille fine.

Les prélèvements cytologiques nous parviennent soit à frais, soit le plus souvent fixés (pancréas, foie), le matériel étant déposé dans un flacon de fixateur et/ou étalés sur des lames par le clinicien. Le milieu de préservation le plus largement utilisé est le CytoRich Red (Shandon), disponible sur demande au laboratoire.

Tous les prélèvements fixés dans la solution CytoRich Red de même que les frottis étalés séchés ou fixés (avec de la laque, un mélange d'alcool dénaturé 50% ou dans une solution CytoRich Red) peuvent être conservés à température ambiante.

Les prélèvements cytologiques frais (non encore fixés) doivent fermés hermétiquement et acheminés rapidement au laboratoire endéans les 30 minutes. Ce délai est important pour les LCR, si le délai est impossible, il faut alors les fixer dans la solution CytoRich Red.

Si pour des raisons de problèmes de navettes ces prélèvements ne peuvent être acheminés dans les meilleurs délais au labo, ceux-ci doivent être gardés au frigo et transmis le plus rapidement possible et au plus tard le jour même.

Pour rappel du point 2, si un prélèvement se fait en urgence et en dehors des heures d'ouverture du service, la garde est rappelable.

Le matériel cytologique est analysé après avoir été préparé et coloré suivant des procédures spécifiques variant en fonction du type d'échantillon reçu.

Tout prélèvement de cytologie fixé au CytoRich Red ou secondairement au formol par nos soins (cfr. paramètre technique) pourra être utilisé pour la détection d'ADN ou d'ARN.

5.3 Sérums

Seuls les sérums destinés au diagnostic et au suivi des maladies bulleuses auto-immunes (dermatologie) sont analysés dans le service.

Procédure d'envoi

- patient à jeun ou non
- sang prélevé dans un tube sec non agité sérum à séparer pour éviter sa contamination par des produits d'hémolyse.
- à garder au frigo
- à transférer dans les 72 heures au laboratoire d'anatomo-pathologie
- analyses réalisées : immunofluorescence indirecte et tests Elisa liés aux maladies bulleuses auto-immunes

Version 3.0

6. Techniques générales

6.1 Histochimie

Les techniques histochimiques sont basées sur des réactions chimiques qui permettent de voir in situ la morphologie de la cellule, la position du noyau, sa forme et la structure générale d'un tissu. La coloration standard réalisée sur les biopsies ou pièces opératoires est l'hémalun et éosine (HE*) sur l'automate HE600 Ventana de la firme Roche®.

La coloration HE* est accréditée



D'autres analyses appelées colorations spéciales peuvent aussi mettre en évidence différents constituants cellulaires et extracellulaires (lipides, glucides, protéines, acides nucléiques, métaux, pigments...). Le listing des colorations histochimiques disponibles dans notre service est repris en annexe (liste non-exhaustive):

6.2 Immunohistochimie

- L'immunohistochimie se définit comme l'identification in situ d'antigènes spécifiques, contenus dans des tissus principalement fixés au formol et enrobé en paraffine ou simplement cryopréservés, à l'aide d'anticorps couplés à un système de révélation approprié (chromogéniques ou fluorescent).

- Procédure

- Le service est apte à recevoir des demandes d'immunohistochimie de laboratoire externe. Toute demande doit être accompagnée d'un bon de demande dûment rempli (form-4201 ; cfr. 4.1).

Pour les envois extérieurs à Saint-Luc, deux possibilités peuvent se présenter :

- Soit la réception d'un bloc de paraffine (fixation au formol 10%tamponné)
- Soit la réception de coupes histologiques d'une épaisseur de 5 micromètres montées sur des lames de verre Super-frost plus ou équivalent. Le nombre de lames à envoyer doit être égal au nombre d'antigènes à détecter plus une lame de réserve. Cette possibilité n'est pas favorisée afin d'éviter tout problème technique (conservation de la lame réalisée à l'avance).

-Paramètres techniques

- Les détections immunohistochimiques à visée thérapeutique que nous réalisons sont accréditées.

<u>Antigène</u>	<u>Technique</u>	<u>TAT</u>
Facteurs pronostiques et immunothérapeutiques	Automate Benchmark ULTRA	8 jours

La liste des analyses accréditées* est fournie sur simple demande





NB : Des procédures d'urgence permettent de diminuer ce délai d'attente à 3 jours.

- Autres tests d'immunohistochimie:

Nous disposons d'une sérothèque composée de plus de 250 anticorps différents validés par nos soins. L'ensemble des tests d'immunohistochimie réalisables dans notre laboratoire est fourni sur demande au secrétariat du laboratoire.

6.3 Pathologie Moléculaire

La biologie moléculaire permet d'analyser les gènes (ADN) et de l'expression des gènes (ARN). Il est possible à l'aide de techniques basées sur des coupes histologiques ou sur des extraits cellulaires de visualiser une séquence ou une répétition de séquence particulière parmi l'ensemble du génome. La biologie moléculaire peut révéler la présence d'acides nucléiques d'origine virale ou bactérienne.

Version 3.0

- Procédure

Chaque demande de biologie moléculaire doit être accompagnée :

- D'un formulaire dûment complété (cfr biopsie)
- Et du prélèvement, soit de cytologie en milieu liquide (cfr cytologie), soit du bloc de paraffine en cas de prélèvement d'histologie si possible accompagné d'une section histologique colorée à l'hémalunéosine.

Dans le cas précis de la recherche d'une amplification du gène HER-2/neu, les lames d'immunohistochimie réalisées par le laboratoire demandeur pour déterminer le score de la protéine HER2-2/neu doivent aussi nous être envoyées.

- Paramètres techniques

- Récapitulatif des analyses en pathologie moléculaire disponibles en routine clinique :

<u>Technique</u>	<u>TAT</u>
Hybridation in situ : CISH et chromogénique	10 jours
Hybridization in situ : FISH (Fluorescence)	10 jours
Extraction, PCR, Genescan ou analyse Idylla	10 à 20 jours suivant l'analyse demandée
NGS Recherche mutationnelle	10 jours

La liste des analyses accréditées* est fournie sur simple demande

* Analyses accréditées ISO 15189 - 2012 Certificat n°369-MED



- Des procédures d'urgence peuvent être mise en œuvre, elles permettent de diminuer les délais de 50%, en moyenne, suivant les techniques utilisées.

6.4 Microscopie électronique

- Les prélèvements destinés à une observation en microscopie électronique doivent être de très petit volume (1 à 2 mm³) et impérativement fixés dans de la glutaraldéhyde à 2.5%. Des petits flacons de remplis de ce fixateur dédicacé sont disponibles sur simple demande aux pathologistes superviseurs ou au secrétariat du service. Il est à noter que ce fixateur est très toxique (voie orale et contact).
- La microscopie électronique est une technique qui permet de visualiser des structures infiniment petites grâce à un appareillage dont la source de rayonnement émet des électrons. Le recours aux électrons permet d'améliorer la résolution et d'augmenter le grossissement d'échantillon (jusqu'à 120.000x, environ) par rapport aux photons utilisés dans un microscope conventionnel (grossissement 1.000x, environ). Ainsi, les structures fondamentales normales et pathologiques de la cellule mais aussi les interactions entre cellules et/ou types cellulaires peuvent être investiguées.

Des photographies numériques peuvent être enregistrées au besoin.

- Le délai de réponse de ce type d'analyse est long (environ 2 mois) car lié à des étapes de fixation et d'imprégnation en résine lentes et manuelles.

Version 3.0

7. Transmission des résultats

Les comptes rendus d'Anatomie Pathologique validés sont transmis :

- Sur EPIC (prélèvements internes)
- Par courrier aux prescripteurs externes
- Par Fax aux prescripteurs (sur demande)
- Par envois électroniques à la demande (e-healthbox par exemple)

Les membres du personnel du laboratoire sont soumis au respect du secret professionnel. Le secrétariat n'est autorisé à communiquer oralement les résultats validés par un pathologiste qu'à des médecins:

- aux prescripteurs clairement renseignés lors de la demande d'analyse
- à tous médecins pouvant justifier le suivi du patient (ex : médecin généraliste).

8. Informations complémentaires

-De plus amples informations médicales peuvent être obtenues auprès de chaque pathologiste responsable de secteur.

-Toutes les procédures sont consultables sur simple demande.