

## Table des matières

1. Objet : .....	3
2. Domaine d'application : .....	3
3. Définition : .....	3
4. Référence : .....	3
5. Contenu .....	3
5.1 Responsabilités .....	3
5.2 Information générales : .....	3
5.3 Informations administratives : .....	4
5.4 Equipe médicale .....	5
5.5 Accessibilité .....	5
6. Procédure .....	6
6.1 Formulaire de prescription d'analyse .....	6
6.1.1 Identification du patient .....	6
6.1.2 Identification du prélèvement : .....	6
6.1.3 Renseignements cliniques .....	6
6.1.4 Identification du médecin prescripteur .....	7
6.1.5 Technique de prélèvement. ....	7
6.1.6 Transport des prélèvements .....	7
6.1.7 Responsabilité du LAP .....	7
7. Technique .....	8
7.1 Fixation du prélèvement .....	8
7.2 Macroscopie .....	8
7.3 Cytologie conventionnelle .....	8
7.4 Cytologie en milieu liquide .....	9
7.4.1 Ce qu'il faut savoir avant d'effectuer un prélèvement .....	9
7.4.2 Comment réaliser un prélèvement de cytologie cervico-vaginale .....	9
7.4.3 La recherche du HPV dans les prélèvements génitaux .....	11

<u>Rédacteur</u>	<u>Vérificateur</u>	<u>Approbateur</u>	<u>Diffusion</u>
Dr Pie-Joseph Ngilimana	Jean-Louis Houet	Monique Renard	30/10/2019

**3-PR-PRE-001**

---

7.5 Histologie.....	12
7.5.1 Non-conformités spécifiques à l'histologie .....	13
7.6 Immunohistochimie .....	13
7.7 La biologie moléculaire.....	13
8. Transport .....	13

1. Objet :

Le manuel de prélèvement des échantillons primaires pour le Laboratoire d'anatomie-pathologique et de cytologie aux Laboratoires Réunis de Fléron contient toutes les instructions concernant le traitement des échantillons primaires (identification, demande d'analyse, prélèvement, transport et toute autre manipulation).

2. Domaine d'application :

Ce manuel donne les informations précises relatives aux conditions pré-analytiques à respecter afin d'obtenir les divers échantillons dans les conditions optimales dans le domaine de l'anatomie-pathologique et de la cytologie. Son objectif avéré est d'assurer la conformité des prélèvements par respect des mêmes règles durant tout le processus pré-analytique. Ce manuel est mis à la disposition de tout émetteur autorisé (médecins prescripteurs et autres préleveurs, infirmiers-infirmières) qui s'adressent au Laboratoire d' Anatomie-pathologique des Laboratoires Réunis, dénommé « LAP » dans ce document.

3. Définition :

LAP : Laboratoire d'anatomo-pathologie

MAPRE : manuel de prélèvement

4. Référence :

Arrêté royal du 5 décembre 2011 relatif à l'agrément des laboratoires d'anatomopathologie

5. Contenu

5.1 Responsabilités

Ce document s'adresse en priorité au préleveur demandeur qui souhaite faire acheminer le prélèvement réalisé chez son patient vers notre LAP. Le contenu et le suivi du MAPRE sont sous la responsabilité du Directeur du Laboratoire et du coordinateur qualité du LAP. Tout le personnel est partie prenante pour sa bonne exécution. Le préleveur demandeur bénéficie de tous les moyens pour formuler librement ses remarques en cas d'incompréhension ou de non satisfaction.

5.2 Information générales :

### 3-PR-PRE-001

---

Le Laboratoire d'anatomo-pathologie est un service établi sur le même site que le Laboratoire d'Analyses Médicales (Biologie Clinique) du même nom. Il centralise les examens macroscopiques, histologiques et cytologiques des prélèvements destinés à l'analyse anatomo-pathologique provenant de divers cabinets médicaux et polycliniques. Il s'agit principalement de :

- Prélèvements gynécologiques et non gynécologiques pour analyse cytopathologique,
- Les biopsies chirurgicales et endoscopiques.

Le LAP réalise les analyses demandées au moyen des techniques suivantes :

- Les examens macroscopiques,
- Les analyses microscopiques histopathologiques,
- Les analyses microscopiques cytopathologiques.

Le LAP collabore avec d'autres Laboratoires renommés et compétents dans le cadres d'autres analyses complémentaires plus poussées notamment pour :

- Les colorations immunohistochimiques,
- Les analyses de biologie moléculaire
- Les analyses de microscopie électronique.

#### 5.3 Informations administratives :

Nom : Laboratoires Réunis  
Anatomie Pathologique et Cytologie

Adresse : Rue Bureau, 37,  
B-4620 Fléron,  
Tél. +3242271515  
e-mail : [contact@laboreunis.be](mailto:contact@laboreunis.be)

Ouverture : De 07:00h à 18:00h du lundi au vendredi et de 7:00h à 16:00h le samedi.  
Fermé le dimanche et les jours fériés.

Informations sur la Direction :

- Exploitant : Dr Jean-Louis Houet, Téléphone +32 4 227 15 15
- Directeur du LAP : Dr Pie-Joseph NGILIMANA, Téléphone +32 4 227 15 15

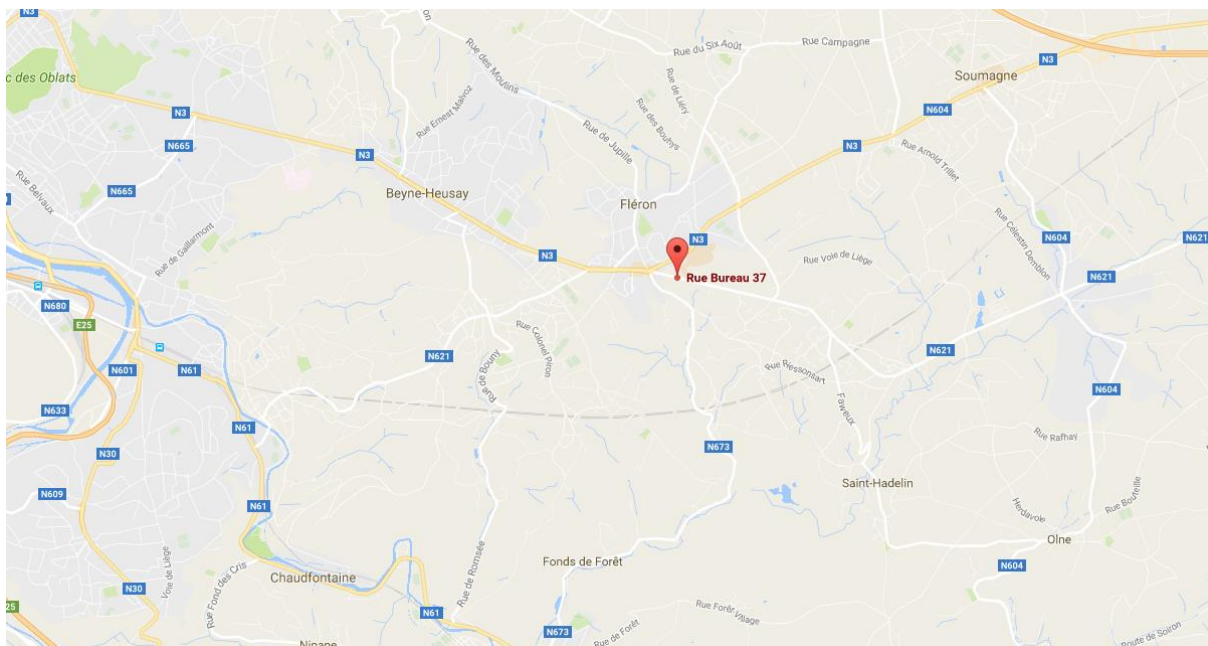
## 3-PR-PRE-001

- Secrétariat du LAP: +32 4 227 15 15

### 5.4 Equipe médicale

Nom Prénom	INAMI	Fonction	E-mail
Dr Pie-Joseph Ngilimana	1-87577-21-870	Anatomopathologiste, Directeur	cytexnp@proximus.be
Dr Albert Thiry	1-64540-69-870	Anatomopathologiste	albert.thiry@laboreunis.be

### 5.5 Accessibilité



#### **Via Autoroute E40 :**

- Sortie 36, Blégny, N604
- Sortie 37, Herve, N3

### 3-PR-PRE-001

---

## 6. Procédure

### 6.1 Formulaire de prescription d'analyse

Le LAP met à la disposition des médecins prescripteurs une demande d'analyse spécifique **LAP-DD-DANAL01** et en recommande son utilisation exhaustive. Cette demande est accessible sur le site du Laboratoire par téléchargement. Toute autre demande d'analyse (feuille simple, ordonnance, demande d'analyse en provenance d'autres laboratoires d'anatomie-pathologique, demande d'analyse propre au cabinet) doit contenir les informations obligatoires et préciser la destination du prélèvement pour analyse anatomo-pathologique.

Tout formulaire de demande d'analyse accompagnant un prélèvement doit comporter obligatoirement au moins les informations suivantes:

#### 6.1.1 Identification du patient

Identification univoque du patient par son nom et son prénom en toute lettre. Une attention particulière doit être accordée au risque d'homonymie et en particulier dans la circonstance de frère ou sœur jumelle...!

Sexe.

Date de naissance.

Adresse.

Numéro d'identifiant.

#### 6.1.2 Identification du prélèvement :

- Nom- Prénom du patient.
- Date de prélèvement.
- Identification en cas de prélèvements multiples par numéro lettre ou localisation sur chaque prélèvement. Cette indication figurera idéalement sur le côté du récipient (histologie) plutôt que sur le bouchon de ce récipient. Cette information doit être répétée de la même manière sur la demande d'analyse.

#### 6.1.3 Renseignements cliniques

- Toutes informations cliniques utiles à l'analyse et l'interprétation des résultats : les antécédents médicaux connus, les traitements éventuels.
- Numérotation, localisation précise et latéralité si nécessaire de façon identique à celle notée sur le ou les prélèvement(s).

### 3-PR-PRE-001

---

- Proposition d'un diagnostic différentiel clinique (facultatif).
- Signaler en cas de cytologie de dépistage du col de l'utérus la date du dernier prélèvement et son résultat, ces informations influant autant sur l'analyse elle-même que sur son encodage et sa facturation.
- Préciser si nécessaire le caractère urgent de l'analyse avec éventuellement le délai de réponse souhaité. Mentionner sur la demande la méthode choisie pour le contact (e-mail, sms, fax et fournir les numéros utiles).
- Signature et cachet du médecin.

#### 6.1.4 Identification du médecin prescripteur

- Nom-Prénom.
- Numéro INAMI.
- Origine du prélèvement (domicile, polyclinique, hôpital,...)
- Date de prescription;
- Le ou les destinataires des résultats avec adresse exacte, mention explicite du médecin prescripteur obligatoire en cas de copie des résultats à adresser au patient.

#### 6.1.5 Technique de prélèvement.

Signaler la technique de prélèvement utilisée ainsi que tout incident pouvant influencer la qualité du tissu ou l'intégrité de la lésion. Préciser clairement l'orientation précise si la pièce est marquée.

#### 6.1.6 Transport des prélèvements

Les prélèvements parviennent au LAP par le service des coursiers. Ceux-ci respectent scrupuleusement une procédure spécifique permettant la traçabilité des échantillons du lieu de collecte au laboratoire. Dans le cas où un échantillon est déposé au LAP, il est remis en nom propre et son identification est strictement vérifiée avant son encodage.

#### 6.1.7 Responsabilité du LAP

Dès l'arrivée des prélèvements aux Laboratoires réunis, les échantillons sont triés selon une procédure générale. Les prélèvements destinés à l'analyse anatomopathologique sont séparés et transférés au LAP. Dès ce moment, le personnel technique du LAP a la responsabilité de vérifier la concordance entre les informations de la demande et du prélèvement. L'avis du médecin pathologiste est demandé en cas de doute ou de circonstance inhabituelle. Toute discordance conduit à une procédure de prélèvement non-conforme. Les non-conformités spécifiques au LAP sont signalées dans une procédure spécifique LAP-PG-NC-01.

## 7. Technique

### 7.1 Fixation du prélèvement

Tout échantillon destiné à l'analyse histopathologique doit être placé dans une solution de formol tamponné 4% immédiatement après exérèse, au plus tard dans l'heure qui suit le moment du prélèvement. Il est recommandé de noter l'heure de fixation sur la demande d'analyse. Aucun autre fixateur n'est admis en vue de ne pas compromettre la fiabilité des analyses ultérieures. Le bain de formol tamponné doit être suffisant et recouvrir complètement le prélèvement (au moins le double du volume du prélèvement). La taille du pot choisi doit être proportionnée par rapport à l'échantillon.

Le LAP met à la disposition des médecins prescripteurs des flacons pré remplis de fixateur. Des flacons de tailles différentes sont disponibles ainsi que la mise à disposition du formol en bouteille séparément selon le désir, les habitudes et la nécessité du prescripteur.

Les prélèvements de cytologie gynécologique sont déposés dans des flacons réservés à cet effet, fournis par le LAP pour la technique ThinPrep® PapTest et contenant un liquide de préservation PreservCyt® spécialement étudié à cet effet. Ces pots ne conviennent en aucun cas pour les biopsies chirurgicales.

### 7.2 Macroscopie

Les biopsies sont réceptionnées pour la macroscopie. Les non-conformités par rapport à la prescription d'analyse sont enregistrées. Les pièces sont décrites, débitées et mises en cassette par le personnel technique formé à cet effet, en respectant la procédure **LAP-IT-MACRO01**.

Les prélèvements cytologiques (cytologie conventionnelle, cytologie en milieu liquide, histologie) sont déballés et les non-conformités par rapport à la prescription d'analyse sont enregistrées selon la procédure **LAP-PG-NC-01** spécifique au LAP.

Certaines non-conformités aux indications reprises ci-dessus et de manière spécifique pour chaque type de prélèvement peuvent bloquer l'analyse ou permettre l'analyse sous réserve.

### 7.3 Cytologie conventionnelle

Les échantillons liquides (liquide de ponction, urine, expectorations, écoulement) et les frottis (lames sèches ou fixées) constituent les prélèvements cytologiques. Les échantillons liquides sont étalés sur lame au laboratoire. Toute indication sur l'absence ou la présence de fixateur est nécessaire. Les frottis sur lame sèche non fixés doivent suivre une procédure spécifique, coloration au May-Grumwald Giemsa, différente de celle indiquée pour les frottis fixés à la laque et qui nécessitent un délaquage avant technique de coloration selon Papanicolaou ou modifié (laque d'usage courant dans le domaine cosmétique).



### 3-PR-PRE-001

---

#### 7.4 Cytologie en milieu liquide

##### 7.4.1 Ce qu'il faut savoir avant d'effectuer un prélèvement

Les échantillons cytologiques reçus dans les flacons de la firme Hologic™ constituent les prélèvements de cytologie en milieu liquide. Le liquide est un préservateur cellulaire, strictement pour les cellules en suspension et n'est pas considéré comme un fixateur en raison d'un pouvoir de pénétration médiocre. Il est par conséquent fortement déconseillé d'utiliser le pot Thin-Prep® pour « les biopsies ».

- Le LAP utilise la technique « ThinPrep® PapTest » pour cette analyse. Le matériel consommable, cytobrosse et flacon de liquide de préservation que le laboratoire met à votre disposition, sont élaborés et fournis par la firme « Hologic™ » qui en garanti la validité. Les prélèvements reçus avec un autre type de conditionnement seront enregistrés comme non conformes quoique l'analyse reste possible sous réserve et en particulier en cas d'analyse complémentaire par biologie moléculaire.
- Veiller à identifier le récipient sur son côté et pas sur le bouchon afin d'éviter une inversion avec d'autres prélèvements.
- Les échantillons reçus dans un autre milieu liquide sont non-conformes. L'analyse cytologique est effectuée sous réserve, après transfert du prélèvement dans un flacon ThinPrep.
- Le délai de préservation de l'échantillon une fois prélevé est de maximum 3 mois.

➔ Les détails du prélèvement peuvent être consultés en se référant à l'image ci-dessous

##### 7.4.2 Comment réaliser un prélèvement de cytologie cervico-vaginale

Qu'il s'agisse de la cytologie conventionnelle réalisée par étalement sur lame à la spatule ou du ThinPrep® PapTest réalisé en couche mince, à veiller respecter au mieux les conditions suivantes :

- Effectuer le prélèvement en dehors des règles,
- En dehors d'un traitement local (ovules, gels),
- A distance des rapports sexuels,
- Avant toute autre exploration vaginale.

### 3-PR-PRE-001

---

#### 7.4.2.1 Cytologie conventionnelle

Le prélèvement cytologique est réalisé sur lame sèche à l'aide d'une spatule en plastique pour prélever les cellules de l'exocol et d'une brosse endocervicale pour prélever les cellules de l'endocol. Le LAP préconise le prélèvement de deux lames : une lame portant les cellules exocervicales et une lame de cellules endocervicales. La fixation est réalisée en utilisant la laque en spray fixateur. La séquence est la suivante :

- Identifier la lame en utilisant l'espace du bord supérieur réservé à cet effet.
- Prélever et étaler le matériel recueilli en couche aussi mince que possible.
- Fixer à la laque et laisser sécher.
- Conditionner dans un portoir en plastic conçu pour deux lames.
- Placer le portoir accompagné de la demande dans un sachet individuel.

#### 7.4.2.2 Cytologie en couche mince

Le LAP recommande de prélever une cytologie cervicovaginale en utilisant la technique en monocouche. Celle-ci présente l'avantage d'une fixation optimale, une meilleure interprétation technique et la possibilité d'une recherche du virus HPV sur le même prélèvement, sans devoir convoquer à nouveau la patiente. Le préleveur dispose :

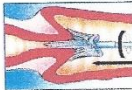
- D'un dispositif de prélèvement cervical : une spatule en plastique, une Cytobrush® ou une brosse Cervex®. Le LAP recommande l'utilisation de la brosse Cervex®, qui permet de réaliser en un seul acte un échantillon représentant l'exocol et la zone de jonction.
- Un flacon rempli de 20 ml de solution de PreservCyt® comme milieu de conservation et de transport des cellules.

Pour réaliser le prélèvement, suivre les directives de la firme Hologic™, fournisseurs des pots ThinPrep® utilisés dans notre laboratoire. Ces directives sont bien résumées dans l'iconographie ci-après :

## ThinPrep® Pap Test

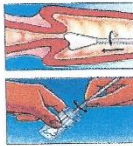
Guide pratique de prélèvement

**Brosse Cervex® (recommandé)**



**Obtenir**  
un spécimen adéquat du col de l'utérus : introduire les poils de la petite centrale assez profondément dans le canal endocervical pour permettre aux poils latéraux, plus courts, d'entrer en contact étroit avec la région exocervicale. Pousser doucement et tourner la brosse 5 fois dans le sens des aiguilles d'une montre (2,5 tours complets). En cas de col étroit, envisager un deuxième prélèvement avec la brosse endocervicale (Cytobrush®).


**Spatule en plastique**




**Obtenir**  
un spécimen adéquat de l'exocol par un mouvement rotatif de la spatule (2 tours).

**Rincer**  
la spatule dans le flacon contenant la solution de conservation (PreservCyt® Solution) en l'agitant vigoureusement 10 fois. **Jeter la spatule.**


**Rincer**  
la brosse dans le flacon de solution PreservCyt® en la pressant dix fois contre le fond du flacon, en forçant les poils à se séparer. Enfin, agiter vigoureusement la brosse pour libérer le matériel résiduel. Jeter la brosse de prélèvement. **Ne pas laisser la tête de la brosse dans le flacon.**



**Endo brosse Cytobrush®**




**Obtenir**  
un spécimen adéquat de l'endocol. Introduire la brosse dans l'endocol jusqu'à ce que seuls les poils de la base soient encore visibles. Faire tourner lentement 1/4 à 1/2 tour dans un seul sens. **Ne pas trop tourner.**




**Rincer**  
la brosse dans le même flacon de solution PreservCyt® en la faisant tourner 10 fois, en la pressant contre le paroi du flacon. Agiter vigoureusement la brosse pour libérer le matériel résiduel. Jeter la brosse. **Ne pas laisser la tête de la brosse dans le flacon.**

**Quelle que soit la méthode utilisée :**


**Visser**  
le bouchon hermétiquement, jusqu'à ce que la marque noire sur le bouchon dépasse celle présente sur le flacon.



**Inscrire**  
sur le flacon, le nom et le prénom de la patiente et son numéro d'identification sur le formulaire de demande d'analyse cytologique, les informations liées à la patiente et à ses antécédents médicaux.



**Placer**  
le flacon et le formulaire de demande d'analyse cytologique dans un emballage destiné à leur transport au laboratoire.



### 7.4.3 La recherche du HPVR dans les prélèvements génitaux

- Recherche des séquences virales HPV à haut risque (HPV 16, 18, 31, 33, 39, 45,51, 56, 58, 59, 68) uniquement sur prescription du médecin pathologiste en respect de la classification de Bethesda et des conditions de remboursement de l'INAMI.
- Cette analyse ne peut être prescrite qu'après première lecture par le médecin spécialiste en anatomie-pathologique prestataire de la prestation 588350-588361 (frottis de dépistage du col de l'utérus) dans la mesure où le résultat est atypique et confirmé après deuxième lecture par un second pathologiste. Ainsi, le médecin spécialiste en anatomie-pathologique de la deuxième lecture est le prescripteur de la recherche HPV dans la mesure où le diagnostic d'atypie est confirmé (prestation 588873-588884).

### 3-PR-PRE-001

---

- ASC-US ou atypie suspecte de lésion de bas grade (L-SIL).
- AGC ou atypies glandulaires non spécifiques.
- ASC-H ou atypies suspectes de lésion de haut grade (H-SIL).

La recherche HPV est prescrite sans deuxième lecture en cas de suivi diagnostique ou thérapeutique (prestations 588895-588906).

Le détail des modalités de remboursement figure en annexe (A.R 4.5.2009 en vigueur depuis le 1.7.2009 paru au moniteur belge du 29.5.2009).

Le test est réalisé avec le reste du milieu liquide de préservation ayant servi à l'analyse cytologique. Cette recherche est possible et validée uniquement avec les prélèvements conditionnés dans les flacons ThinPrep que le laboratoire utilise.

Une demande spécifique est adressée au département de biologie moléculaire du laboratoire CMA qui réalise le test. Le résultat obtenu est intégré (positif ou négatif) au protocole anatomo-pathologique.

Le médecin spécialiste en anatomie-pathologique, selon les recommandations de Bethesda et dans le respect des règles de l'INAMI, rédige un commentaire et/ou une recommandation finale intégrant le résultat de l'analyse cytologique et du test HPV.

#### 7.5 Histologie

Les analyses histologiques concernent les biopsies. Les prélèvements sont obtenus par biopsie endoscopique (gastro-entérologie), résection au bistouri, shave biopsy ou rasage, punch biopsy (dermatologie), par curetage ou brossage endométrial en gynécologie ou par tout autre dispositif ou technique amenant à la mise à disposition pour analyse d'un fragment de tissus cellulaire à analyser au LAP.

Pour obtenir une fixation optimale, veiller à respecter les paramètres suivants :

- fixer immédiatement le prélèvement, au plus tard dans l'heure qui suit l'exérèse,
- utiliser une solution de fixation au formol tamponné 4%. Il est conseillé de noter l'heure de la fixation de l'échantillon sur la demande d'analyse.
- choisir un pot de contenance suffisante par rapport à la taille de la pièce à fixer. Celle-ci doit être largement immergée dans le formol.
- bien fermer le pot et le placer dans un sachet en plastique (fourni), muni d'une pochette réservée à la demande d'analyse

### 3-PR-PRE-001

---

#### 7.5.1 Non-conformités spécifiques à l'histologie

- Les non conformités spécifiques concernent principalement la fixation : absence de fixateur, récipient s'étant vidé du fixateur, fixateur autre (Bouin, alcool-éther,...).
- Vu le caractère unique du prélèvement, une analyse est systématiquement tentée quelque-soit la non-conformité de ce type. Ces non-conformités peuvent cependant limiter l'interprétation. En particulier, une fixation inadéquate peut empêcher tout examen complémentaire par hybridation ou immunohistochimie.
- Biopsie de col : la fixation au Bouin doit être évitée impérativement car elle empêche une recherche virale par hybridation ou tout examen en biologie moléculaire. Ceci est valable pour toutes les biopsies, cutanées également.
- Biopsie de sein ; la durée de fixation est un paramètre important. (minimum 6 heures et maximum 48 heures). La date et l'heure du prélèvement doit être indiqué ainsi que le délai avant fixation.
- Les flacons de la firme Hologic™ contiennent un liquide de préservation qui n'est en aucun cas un fixateur pour biopsie. Cette non-conformité compromet fortement l'analyse histologique.

#### 7.6 Immunohistochimie

Toutes les analyses complémentaires par immunohistochimie sont envoyées en sous-traitance soit au CHU de Liège, au service de Dermatopathologie pour les biopsies cutanées, et au Laboratoire CMA pour les prélèvements d'autres sites. Une convention spécifique existe avec chacune de ces institutions.

#### 7.7 La biologie moléculaire

Toutes les analyses de biologie moléculaires sont envoyées en sous-traitance au Laboratoire CMA, accrédité ISO 15189 pour ces analyses. Les résultats obtenus sont intégrés aux protocoles correspondants. Pour la FISH paraffinée, une demande spécifique est envoyée accompagnée du bloc correspondant. Pour la recherche d'une amplification de l'oncogène HER2/neu pour les tumeurs mammaires et pour les tumeurs gastriques, le prélèvement doit avoir été fixé dans du formol tamponné 4%. D'autres fixateurs ou la décalcification constituent une non-conformité empêchant l'analyse.

#### 8. Transport

**3-PR-PRE-001**

---

Les prélèvements à destination du LAP arrivent par navette en provenance des différents centres de prélèvements ou cabinets médicaux selon une procédure spécifique pour la collecte, l'acheminement et le transport des échantillons. Les prélèvements sont déballés et triés au dispatching général des Laboratoire Réunis entre les prélèvements destinés à la Biologie Clinique et ceux destinés à l'anatomie et la cytologie pathologiques. Le LAP prend la responsabilité de ses prélèvements dès que ceux-ci sont triés.

<u>Date</u>	<u>Version</u>	<u>Raison de la modification</u>