



# Guide pratique de prélèvements pour analyse anatomopathologique

---

Laboratoire d'anatomie pathologique des  
Cliniques du Sud Luxembourg

2016

## Table des matières

1. Introduction.....	3
2. Présentation .....	3
3. Type de fixateur.....	4
3.1. Formol tamponné 4%.....	4
3.2. Isopropanol.....	4
3.3. Fixateur ThinPrep .....	4
4. Fournitures .....	4
5. Demande d'analyse .....	5
6. Le prélèvement.....	5
6.1. Biopsie .....	5
6.2. Pièce opératoire .....	6
6.2.1. Organe à cavité naturelle .....	6
6.2.2. Pièce de mammectomie totale .....	6
6.2.3. Pièce de tumorectomie mammaire.....	6
6.2.4. Pièce de néphrectomie totale .....	6
6.2.5. Pièce de pneumectomie.....	7
6.2.6. Biopsie hépatique per-opératoire .....	7
6.2.7. Autres pièces opératoires.....	7
6.3. Examen extemporané .....	7
6.4. Autopsie.....	7
6.5. Prélèvement cytologique gynécologique (frottis cervico-vaginal).....	8
6.6. Prélèvement cytologique non-gynécologique .....	9
7. Transport des prélèvements .....	10
7.1. Prélèvements internes .....	10
7.2. Prélèvements externes.....	10
8. Liste des analyses .....	10
8.1. Analyses réalisées au laboratoire.....	10
8.1.1. Histologie et cytologie.....	10
8.1.2. Immunohistochimie.....	10
8.2. Analyses sous-traitées .....	11
8.2.1. Neuropathologie tumorale.....	11
8.2.2. Lymphomes .....	11
8.2.3. Recherche d'amiante.....	11

- 8.2.4. Biologie moléculaire ..... 12
- 8.3. Analyses non réalisées et non prises en charge par le laboratoire..... 12
  - 8.3.1. Examen en immunofluorescence ..... 12
  - 8.3.2. Biopsies rénales dans un contexte de néphropathie non-tumorale ..... 12
  - 8.3.3. Biopsies musculaires et nerveuses pour pathologie fonctionnelle..... 12
  - 8.3.4. Analyse en microscopie électronique ..... 12
  - 8.3.5. Typage lymphocytaire sur LBA ..... 12
- 9. Transmission des résultats ..... 13
  - 9.1. Mode de transmission..... 13
  - 9.2. Délais de résultat..... 13
- 10. Informations complémentaires..... 13

## 1. Introduction

Ce document a pour but de fournir toutes les informations utiles à tous les médecins prescripteurs qui désirent envoyer leurs échantillons pour analyse au service d'anatomie pathologique des CSL.

Depuis quelques années, le service s'est engagé dans une démarche qualité qui répond à l'Arrêté Royal relatif à l'agrément des laboratoires d'anatomie pathologique dont le principal objectif est d'assurer la fiabilité des résultats d'analyse.

Etant donné que la qualité de **préservation de l'échantillon est essentielle** à l'élaboration du diagnostic, ce guide reprend toutes les consignes à suivre par les prescripteurs qui sont légalement responsables de l'échantillon jusqu'à sa prise en charge par le laboratoire.

Si le prélèvement ou la demande ne sont pas adéquats, une **non-conformité** devra être enregistrée et apparaîtra dans le compte rendu.

Les non-conformités peuvent être non-bloquantes (l'analyse sera réalisée sous réserve) ou bloquantes (l'analyse sera irréalizable ou réalisable après correction des éléments bloquants).

## 2. Présentation

### **Service d'anatomie pathologique des CSL**

Clinique Edmond Jacques  
Rue de Harnoncourt, 48  
6762 SAINT-MARD

#### **Secrétariat :**

Tél : 063 58 81 15  
Fax : 063 58 81 14  
E-mail : [SecretariatPathologie.CSL@vivalia.be](mailto:SecretariatPathologie.CSL@vivalia.be)

#### **Heures d'ouverture :**

Lundi au vendredi : 8h00 à 17h00

#### **Equipe médicale :**

Dr Stéphanie Talpe : chef de service  
Tél : 063 58 84 80  
E-mail : [Stephanie.Talpe@vivalia.be](mailto:Stephanie.Talpe@vivalia.be)

Dr Bernadette Libotte  
Tél : 063 58 81 03  
E-mail : [Bernadette.Libotte@vivalia.be](mailto:Bernadette.Libotte@vivalia.be)

Dr Anne Moraux  
Tél : 063 58 81 62  
E-mail : [Anne.Moraux@vivalia.be](mailto:Anne.Moraux@vivalia.be)

### **3. Type de fixateur**

Il est essentiel de placer **sans aucun délai** l'échantillon dans le fixateur adéquat et de l'acheminer rapidement au laboratoire.

#### **3.1. Formol tamponné 4%**

Pour tous les prélèvements tissulaires.

Prévoir une quantité minimum égale au double du volume du prélèvement  
Ce fixateur permet la réalisation des examens immunohistochimiques et les analyses de biologie moléculaire.

#### **3.2. Isopropanol**

Fixateur alcoolique pour les prélèvements cytologiques « simples » (ponctions mammaires, kystes, épanchements, urines,...).

A quantité égale au volume du liquide prélevé (50% minimum d'alcool).

#### **3.3. Fixateur ThinPrep**

Pour les frottis cervico-vaginaux, et les ponctions hémorragiques (pancréas, thyroïde, ganglion,...).

- Brosses Cervex Brush et flacons prêts à l'emploi pour FCV
- Tubes Cytolyt de transport pour les autres.

Si un fixateur inadéquat est utilisé, une non-conformité devra être enregistrée et sera mentionnée dans le compte rendu d'analyse.

## **4. Fournitures**

Le matériel nécessaire aux prélèvements est soit livré par les chauffeurs des CSL soit directement pris au laboratoire d'anatomie pathologique à Saint-Mard ou au laboratoire de biologie à Arlon.

La liste du matériel disponible se trouve en annexe (FO-SOU-001).

Pour commander du matériel, vous pouvez :

- téléphoner pour passer commande au laboratoire d'anatomie pathologique au 063/58.84.35.
- transmettre le formulaire de commande de matériel (FO-SOU-001) soit par fax (063/58.81.14) soit via les chauffeurs.
- vous adresser au laboratoire de biologie des CSL à Arlon (063/23.16.30)

## 5. Demande d'analyse

Chaque prélèvement doit être accompagné d'un **bon de demande d'analyse** dûment complété:

- pour les prélèvements biopsiques et cytologiques : FO-SEC-001 (en annexe)
- pour les pièces opératoires : FO-SEC-002 (en annexe)
- pour les autopsies : FO-SEC-003 (en annexe)

Ces documents peuvent être téléchargés à partir de l'intranet.

Pour qu'un prélèvement soit conforme selon l'agrément ministériel, toutes les informations demandées doivent être transmises de manière lisible, précise, complète et univoque sur la demande d'analyse.

Ces informations comprennent :

- Le nom, le prénom, la date de naissance, le numéro de sécurité sociale et l'adresse du patient,
- Le nom, le prénom, l'adresse et le numéro INAMI du prescripteur,
- Le type et l'origine du prélèvement,
- La date de la prescription et la signature du prescripteur,
- La date et l'heure du prélèvement,
- Les renseignements cliniques et l'exposé du problème.

En l'absence d'un de ces éléments, une non-conformité devra être enregistrée et sera mentionnée dans le compte-rendu d'analyse.

## 6. Le prélèvement

Chaque conteneur doit porter l'identification complète du patient.

En cas de prélèvements multiples, chaque flacon doit être identifié et numéroté.

### 6.1. Biopsie

Une biopsie est le prélèvement d'un petit fragment de tissu biologique. En général, celui-ci est techniqué dans son intégralité.

Placer sans délai l'échantillon prélevé dans un flacon de formol tamponné 4%, portant l'identification complète du patient.

## 6.2. Pièce opératoire

Une pièce opératoire est le prélèvement d'un large fragment de tissu ou d'un organe lorsque le patient est sous anesthésie totale ou rachidienne.

Un premier examen macroscopique est nécessaire afin de sélectionner certaines parties de la pièce qui seront prélevées pour l'analyse microscopique.

Pour une préservation optimale du prélèvement, il est **indispensable que le chirurgien prépare les pièces** avant de les placer dans le fixateur (formol tamponné 4%).

Le récipient et la quantité de formol doivent être adaptés à la taille du prélèvement (prévoir une quantité de formol au minimum double au volume du prélèvement).

### 6.2.1. Organe à cavité naturelle

- Utérus : ouvrir longitudinalement toute la paroi antérieure.
- Vessie : ouvrir longitudinalement toute la face antérieure.  
**Repérer (avec fils) les 2 uretères.**
- Côlon/rectum hors Procure : ouvrir longitudinalement le segment intestinal depuis les extrémités proximale et distale en laissant si possible intacte la zone tumorale.
- **Rectums PROCARE : doivent rester fermés et enduits d'encre de Chine si possible à frais.** Indiquer « PROCARE » en toutes lettres sur le formulaire de demande.
- Estomac : ouvrir le long de la grande courbure.
- Duodéno-pancréatectomie céphalique ou totale : ouvrir longitudinalement l'estomac et le duodénum.

### 6.2.2. Pièce de mammectomie totale

Faire des tranches parallèles d'environ 2 cm d'épaisseur dans le parenchyme mammaire en partant du plan profond et en laissant la peau intacte comme "les pages d'un livre" gardant une reliure au niveau cutané.

! Le curage axillaire doit rester intact.

### 6.2.3. Pièce de tumorectomie mammaire

Repérer la pièce par différents fils et la placer telle quelle dans le formol.

### 6.2.4. Pièce de néphrectomie totale

Inciser longitudinalement le rein en partant du bord externe en passant de préférence par la tumeur et en laissant le hile intact (comme un livre relié).

#### 6.2.5. Pièce de pneumectomie

Ne pas ouvrir, mettre plusieurs larges papiers absorbants imbibés de formol au-dessus de la pièce pour une immersion complète de celle-ci. L'idéal est d'injecter du formol à la seringue dans la bronche principale.

#### 6.2.6. Biopsie hépatique per-opératoire

Préférer une biopsie intra-parenchymateuse à l'aiguille (pas de biopsie sous-capsulaire au bistouri électrique !).

#### 6.2.7. Autres pièces opératoires

Les pièces de petite taille peuvent être placées telles quelles dans le formol.

Les pièces de grande taille qui ne peuvent pas être ouvertes doivent être conservées dans le formol et au frigo entre 2 et 6°C jusqu'à leur transport.

### 6.3. Examen extemporané

Un examen extemporané est une analyse immédiate d'un prélèvement réalisé par un chirurgien pendant l'intervention opératoire. Il a pour but de déterminer le plus rapidement possible un diagnostic ayant un impact sur la suite de l'intervention.

Le chirurgien et le pathologiste conviennent au préalable de la date et de l'heure de l'examen.

#### Procédure:

- Placer le prélèvement SANS AUCUN FIXATEUR entre 2 et 6°C jusqu'à son analyse, éventuellement entouré d'une compresse imbibée de liquide physiologique.
- Dès réception de la pièce par le pathologiste, le prélèvement est congelé et coupé au cryostat ; les lames réalisées sont colorées puis analysées au microscope.
- Le résultat est directement transmis par téléphone au chirurgien.

Le prélèvement est ensuite décongelé, fixé dans le formol et sera analysé de manière plus complète au laboratoire.

### 6.4. Autopsie

L'autopsie est l'ensemble des analyses post-mortem qui sont pratiquées sur un corps humain afin de déterminer les causes de la mort. Elle n'est pratiquée que sur demande écrite d'un médecin.

Durant l'autopsie, les cavités thoracique et abdominale sont ouvertes. L'examen macroscopique des viscères est réalisé et des prélèvements systématiques et/ou ciblés sont effectués pour analyse microscopique.



Procédure :

Prévenir le plus rapidement possible les pathologistes en téléphonant au service d'anatomopathologie (8115).

Remplir toutes les cases du formulaire de demande d'autopsie (FO-SEC-003), à faxer au moment de la demande au 8114.

En cas d'autopsie chez un patient ayant subi une radio-embolisation, il est **obligatoire de prévenir immédiatement le nucléariste responsable** avant tout examen (procédure particulière).

**Législation :**

Seules les autopsies médicales peuvent être réalisées par les pathologistes. En cas de mort violente ou de suspicion d'implication médico-légale, il y a lieu d'avertir immédiatement la direction des CSL et la police locale.

En cas de suspicion d'agent infectieux particulier, l'autopsie ne peut être réalisée aux CSL ; elle doit être pratiquée dans un centre de référence (Anvers).

Le médecin prescripteur doit informer la famille et s'assurer qu'il n'y a aucune opposition des proches à la réalisation de l'autopsie. En cas d'opposition, l'autopsie ne sera pas réalisée en vertu du code de déontologie de l'Ordre des Médecins (Art. 133 du 1 janvier 1975), stipulant que « sauf réquisition ou disposition légales particulières, une autopsie ne peut être pratiquée que s'il n'y a pas eu d'opposition explicite ou implicite du patient ou opposition de la part des proches ».

Les fœtus non-déclarés doivent être fixés tels quels au formol et placés dans le bac de transport (bloc opératoire ou laboratoire de biologie). Il y a lieu d'indiquer si le corps doit être rendu à la maternité après examen (allée des Anges).

Les fœtus déclarés doivent être placés à la morgue (sans fixateur).

### **6.5. Prélèvement cytologique gynécologique (frottis cervico-vaginal)**

La technique utilisée au laboratoire est le ThinPrep PAP Test de Hologic qui permet de confectionner des lames cytologiques monocouches et de réaliser la recherche d'HPV en biologie moléculaire.

Procédure :

Fixer sans délai le matériel recueilli par la brosse *cervex-brush* en « écrasant » plusieurs fois celle-ci dans un flacon ***Thinprep PreservCyt Solution PAP TEST***.

Il est important de préciser le cadre INAMI : dépistage trisannuel / suivi / hors convention (la signature de la patiente est alors demandée). Pour rappel, un seul frottis « négatif » fait sortir la patiente d'un cadre de suivi.

NB : une recherche d'HPV ne peut être réalisée qu'en présence d'un ASCUS en dépistage ou lors d'un suivi de cellules atypiques démontrées préalablement ou dans le suivi d'un traitement d'une lésion de **haut grade** avec un frottis **négatif**.

Les frottis « inadéquats » selon les critères de Bethesda nécessitant un nouveau prélèvement ne sont pas tarifés.

## 6.6. Prélèvement cytologique non-gynécologique

Ces prélèvements comprennent tous les types de ponction et de brossage, les urines, les liquides céphalo-rachidiens, les liquides d'épanchement pleural, péricardique, péritonéal, articulaire,...

Des lames d'étalement peuvent être réalisées : les fixer sans délai en les vaporisant avec de la **laque**.

### Procédure :

- Pour les prélèvements abondants (épanchements):
  - Si l'échantillon peut être déposé avant 13h au laboratoire (Saint-Mard ou Arlon), il est préférable de ne pas y ajouter de fixateur et de le conserver entre 2 et 6°C jusqu'à son transport.
  - Après 13h, il est préférable de fixer le liquide à l'*isopropanol* en volume égal à l'échantillon.
- Pour les prélèvements peu abondants (ponctions mammaires, kystes, liquides bronchiques) :

Placer sans délai l'échantillon dans un tube ou un flacon d'isopropanol.

- Pour les ponctions sous écho-endoscopie et ponctions thyroïdiennes :

Placer sans délai dans un tube ***ThinPrep CytoLyt Solution (maximum 20 ml par tube)***.

- Pour les urines :

Remplir les flacons d'éthanol prêt à l'emploi.

Eviter de prélever les premières urines du matin, préférer les suivantes et si possible après un petit effort physique.

- Pour les LCR :

L'échantillon est en général envoyé non fixé au laboratoire de biologie, qui réalise des lames de cytopin pour analyse anatomopathologique.

## **7. Transport des prélèvements**

### **7.1. Prélèvements internes**

Les prélèvements internes aux CSL sont ceux :

- apportés dans le local du courrier à Saint-Mard (bac « Anapath »)
- donnés en main propre à un membre du laboratoire à Saint-Mard
- du bloc opératoire de la clinique d'Arlon, transportés par la navette interne
- déposés au laboratoire de biologie clinique à Arlon et transportés par les chauffeurs du laboratoire de biologie.

### **7.2. Prélèvements externes**

Les prélèvements externes aux CSL (cabinets privés) sont pris en charge lors des tournées pré-établies des chauffeurs du laboratoire de biologie clinique d'Arlon, qui les amènent au laboratoire d'anatomie pathologique.

## **8. Liste des analyses**

### **8.1. Analyses réalisées au laboratoire**

#### **8.1.1. Histologie et cytologie**

Les techniques d'analyse histologique et cytologique sont basées sur des colorations qui mettent en évidence les caractéristiques et composés cellulaires et extracellulaires.

La coloration standard pour l'histologie est l'hématoxyline-éosine. Pour la cytologie, la coloration de de Papanicolaou est utilisée en routine.

D'autres colorations permettent de mettre en évidence différents constituants cellulaires et extracellulaires.

Colorations spéciales réalisées au laboratoire :

- |                        |                        |
|------------------------|------------------------|
| - PAS                  | - Trichrome de Masson, |
| - Perls,               | - Rouge Congo,         |
| - Giemsa,              | - Réticuline.          |
| - May Grunwald Giemsa, | - Orcéine              |

#### **8.1.2. Immunohistochimie**

L'immunohistochimie est une technique qui permet de mettre en évidence des antigènes spécifiques contenus dans des prélèvements fixés au formol et enrobés en paraffine, à l'aide d'anticorps couplés à un système de révélation chromogénique.

Le laboratoire effectue des analyses immunohistochimiques avec l'Autostainer Link 48 de DAKO.

Liste des anticorps utilisés :

Actine (SMA)	CD 8	Gastrin	P63
Alpha-1-Fetoprotein	CD X2	Hépatocyte	PLAP
BCL2	CEA	Herpès Type 1	PMS2
CA 125	c-erbB-2 oncoprot.	HP	Pneumocystis jiroveci
Calrétinine	(NEU)	HPV	Progestérone (PR)
CD 10	Chromogranin A	KI67	PSA
CD 117 (c-kit)	CK 19	Melan A	S-100
CD 138	CK 20	Melanosome HMB 45	Synaptophysine
CD 20	CK 5/6	MLH1	TTF1
CD 23	CK 7	MSH2	Vimentin
CD 3	CK AE1/AE3	MSH6	PAN Mélanome
CD 30	CK HPM	MUC2	
CD 31	Cytomégalovirus	NSE	
CD 34	D2 40	Œstrogènes (ER)	
CD 4	Desmin	P504S	
CD 45	E-Cadhérine	P16 (JC8)	
CD 56	EGFR	P40	
CD 68	EMA	P53	

**8.2. Analyses sous-traitées**

Certaines analyses qui ne sont pas réalisées au laboratoire d'anatomie pathologique peuvent être **confiées au laboratoire qui se charge de les transmettre aux sous-traitants** :

**8.2.1. Neuropathologie tumorale**

Le laboratoire peut confectionner les blocs d'inclusion en paraffine et les transmettre au CHU de Liège.

**8.2.2. Lymphomes**

Le laboratoire peut confectionner les blocs d'inclusion en paraffine et les transmettre au CHU de Mont-Godinne.

**8.2.3. Recherche d'amiante**

Soit le laboratoire envoie directement un LBA non-fixé (avec le formulaire de demande ad hoc complété par le pneumologue) à Mr Dumortier du laboratoire de minéralogie de l'hôpital Erasme, route de Lennik, 808, 1070 Bruxelles.

Soit le laboratoire se charge d'envoyer un fragment de tissu si possible non-fixé : prévenir le laboratoire et le chirurgien avant le prélèvement, et transmettre le formulaire de demande ad hoc complété.

#### 8.2.4. Biologie moléculaire

##### Recommandations :

- la durée de la fixation au formol doit être comprise entre 6 et 48H.
- l'éosine ne peut être ajoutée au formol.

##### Type d'analyse :

- recherche et typage d'HPV/ recherche de Chlamydia/ recherche d'Herpès simplex dans les frottis cervico-vaginaux (prélèvement en milieu liquide) : flacon transmis au laboratoire de biologie des CSL.
- recherche de mutation KRAS/NRAS, EGFR, BRAF : matériel préparé et transmis au laboratoire de biologie des CSL.
- recherche d'autres mutations : matériel transmis à l'hôpital Erasme, Professeur Salmon. L'examen nécessite un minimum de 50 cellules tumorales.
- FISH/SISH pour statut HER-2/Neu (CerbB2): matériel transmis au Dr Martinez, laboratoire CMP Bruxelles.
- Recherche d'instabilité des microsatellites dans les adénocarcinomes colo-rectaux : envoi du matériel au Dr K. Dahan du service de génétique de l'IPG.

### **8.3. Analyses non réalisées et non prises en charge par le laboratoire**

#### 8.3.1. Examen en immunofluorescence

Les prélèvements doivent être de petite taille (punch) et placés directement dans le milieu de Michel (à 4°C), puis réfrigérés à 4°C pendant 4 heures. Le prélèvement peut ensuite être conservé à température ambiante, 2 jours maximum. La biopsie doit être pratiquée en région péri-bulleuse.

Les prélèvements sont à envoyer directement au Docteur Marot des Cliniques Universitaires Saint-Luc avec formulaire ad hoc (02/764.67.37 ou 38).

Cet envoi peut se faire via le laboratoire de biologie d'Arlon.

#### 8.3.2. Biopsies rénales dans un contexte de néphropathie non-tumorale

S'adresser aux centres universitaires.

#### 8.3.3. Biopsies musculaires et nerveuses pour pathologie fonctionnelle

S'adresser au service de neurochirurgie d'Arlon.

#### 8.3.4. Analyse en microscopie électronique

S'adresser aux centres universitaires.

#### 8.3.5. Typage lymphocytaire sur LBA

Réalisé au laboratoire de biologie des CSL par cytométrie de flux, sur prélèvement non fixé.

## 9. Transmission des résultats

Les membres du personnel du laboratoire sont tenus au secret professionnel et ne communiqueront les résultats que lorsqu'ils sont validés par les pathologistes et uniquement aux destinataires précisés par les prescripteurs.

En cas de demande de résultat par un médecin externe consulté par le patient, une demande écrite est exigée.

### 9.1. Mode de transmission

Les comptes rendus d'anatomie pathologique validés sont transmis :

- Dans Omnipro
- Par courrier papier via la poste ou via la navette des CSL
- Par voie électronique (mexi ou autre) : s'adresser au service informatique des CSL
- Par téléphone : le résultat ne peut être transmis qu'aux destinataires mentionnés sur le bon de demande ; la secrétaire vérifiera le cas échéant l'identité du demandeur
- Par fax (sur demande écrite si le médecin n'est pas dans les destinataires)
- Au patient uniquement sur présentation de sa carte d'identité

### 9.2. Délais de résultat

(Moyennes en jours ouvrables à partir du jour de réception a laboratoire avant 17 heures).

- Cas urgent : premier résultat transmis endéans les 24 heures, compte rendu définitif endéans les 2 jours.
- Biopsies/cytologies non gynécologiques : 4 jours.
- Pièces chirurgicales : 8 jours.
- Cytologies cervico-vaginales: 12 jours.
- Autopsies : 15 jours.

## 10. Informations complémentaires

Pour de plus amples informations, s'adresser au Dr Stéphanie Talpe ; tél : 063 58 84 80 ;  
E-mail : [Stephanie.Talpe@vivalia.be](mailto:Stephanie.Talpe@vivalia.be)