

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rammelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rammelink	Page 1 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

1. Objet

Le Manuel de prélèvement des échantillons primaires du Centre d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Universitaire de Bruxelles (CAP-HUB) contient les instructions relatives à la manipulation (l'identification, la demande, le prélèvement, le transport) des échantillons primaires.

2. Domaine d'application

Ce manuel est un document externe mis à la disposition des médecins prescripteurs et des patients du CAP-HUB dans le but de leur fournir des informations précises concernant les processus pré-analytiques des prélèvements de manière à ce que ceux-ci puissent être acheminés au laboratoire dans des conditions optimales.

Toutes les procédures pré-analytiques du Laboratoire sont associées au fonctionnement du secteur de la Tumorothèque avec une documentation spécifique unique à ce secteur.

Le Laboratoire est inscrit dans une démarche qualité en suivant les normes ISO15189 (pour le CAP-HUB) et ISO 9001 (pour la Tumorothèque de l'Institut Jules Bordet).

Ce manuel reprend donc les différentes recommandations pré-analytiques afin d'assurer un maximum de conformité aux échantillons.

3. Abréviations – Définitions

CAP : Centre d'Anatomie Pathologique.

Prélèvement : matériel humain destiné à l'examen anatomo-pathologique (macroscopie, cytologie, histologie, immunohistochimie, immunofluorescence, biologie moléculaire).

Les autres abréviations sont définies dans le texte.

4. Contenu

Le CAP-HUB a été créé depuis le 24 avril 2023. Il est composé des secteurs de Macroscopie, d'Histologie, de Cytologie, de Cytogénétique, d'Immunohistochimie, de Pathologie Moléculaire, de la Tumorothèque (Institut Jules Bordet) et de la biobanque (Hôpital Erasme), du Séquençage et des Etudes cliniques ainsi que d'une équipe de médecins pathologistes et d'une cellule Qualité.

4.1. Informations administratives

Nom	Centre d'Anatomie Pathologique de l'Université Libre de Bruxelles
Adresse	Rue Meylemeersch, 90 1070 Anderlecht
Localisation	5 ^{ème} étage Le Centre d'Anatomie pathologique de l'Université Libre de Bruxelles (CAP-HUB) a trois entrées localisées : - Route 2530 : Réception prélèvements - Route 1510 - Route 1560 : Entrée visiteurs

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 2 sur 23
Manuel des échantillons primaires		



Heures d'ouverture de 8h00 à 17h00 du lundi au vendredi.

Service de garde 24h/24h : technologue et pathologiste joignables via la centrale téléphonique (+32 2 555 31 11).

Numéros de téléphone utiles

Secrétariat de direction : +32 2 555 31 15

Secrétariat médical : +32 2 555 33 35

+32 2 541 73 23

E-mail : SecMed.anapath@erasme.ulb.ac.be

Réception et encodage des prélèvements : +32 2 555 68 47 ou +32 2 541 73 10

Histologie : +32 2 555 35 65 ou +32 2 541 31 08

Cytologie : +32 2 555 85 12 ou +32 2 541 37 14

Immunohistochimie : +32 2 555 44 24 ou +32 2 541 33 95

Pathologie Moléculaire : +32 2 555 85 08

Cytogénétique : +32 2 541 31 44

Tumorotheque, Biobanque +32 2 555 85 73 ou +32 2 541 72 16

Recherche Clinique: +32 2 555 85 73 ou +32 2 541 72 16

4.1.1. Equipe médicale du CAP

Nom Prénom	Fonction	Bips	E-mail
Myriam Rummelink	Directeur de laboratoire	+32 2 555 58 58	Myriam.Rummelink@hubruxelles.be
Denis Larsimont	Chef de Service	+32 2 541 31 15	Denis.Larsimont@hubruxelles.be
Jean-Christophe Noël	Chef de Clinique	+32 2 555 54 04	Jean-Christophe.Noel@hubruxelles.be
Nicolas de Saint Aubain	Chef de Clinique	+32 2 541 31 19	N.deSaintAubain@hubruxelles.be
Laurine Verset	Professeur	+32 2 541 33 94	Laurine.Verset@hubruxelles.be
Nicky D'Haene	Professeur	+32 2 555 53 91	Nicky.D.haene@hubruxelles.be
Maria Gomez Galdon	Praticien Hospitalier Universitaire Senior	+32 2 541 33 13	Maria.GomezGaldon@hubruxelles.be
Calliope Maris	Praticien Hospitalier Universitaire Senior	+32 2 555 85 77	Calliope.Maris@hubruxelles.be
Anne-Laure Trepant	Praticien Hospitalier Universitaire Senior	+32 2 555 58 60	Anne-Laure.Trepant@hubruxelles.be
Laetitia Lebrun	Professeur associé	+32 2 555 59 47	Laetitia.Lebrun@hubruxelles.be
Chirine Kahled	Résidente	+32 2 555 52 13	Chirine.Kahled@hubruxelles.be
Marie Van Eycken	Candidat Résident	+32 2 555 50 75	Marie.VanEycken@hubruxelles.be
Dana Bernardi	Candidat Résident	+32 2 555 56 43	Dana.Bernardi@hubruxelles.be

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rimmelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 3 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Lam Ngoc My	Candidat Résident	+32 2 555 50 75	Ngoc.My.Lam@hubruxelles.be
Dilara Sanak	Candidat Résident	+32 2 555 21 98	Dilara.Sanak@hubruxelles.be
Odile Zobo	Candidat Résident	+32 2 555 58 56	Odile.Zobo@hubruxelles.be
Clara Legros	Candidat Résident	+32 2 555 50 74	Clara.Legros@hubruxelles.be
Valérie Segers	Consultant	+32 2 555 31 15	Valerie.Segers@chu-brugmann.be
Marie-Paule Van Craynest	Consultant	+32 2 555 31 15	Marie-Paule.Van.Craynest@hubruxelles.be
Xavier Catteau	Consultant	+32 2 555 31 15	Xavier.Catteau@hubruxelles.be
Sarah Bouri	Consultant	+32 2 555 31 15	Sarah.Bouri@hubruxelles.be
Roberto Sagado	Consultant	+32 2 555 31 15	Roberto.Salgado@hubruxelles.be
Anne Theunis	Consultant	+32 2 555 31 15	Anne.Theunis@hubruxelles.be
Roland De Wind	Consultant	+32 2 555 31 15	Alexandre.DeWind@hubruxelles.be

4.1.2. Rôle du CAP

Le CAP assure le traitement des prélèvements :

1. Histologiques :
 - biopsies
 - pièces opératoires – extemporanées
2. Cytologiques :
 - gynécologiques
 - pneumologiques
 - urinaires
 - oeso-gastriques
 - ponctions d'organes
 - liquides céphalo-rachidiens
 - ascite
3. Autopsiques
4. Sang (biopsies liquides)
5. Prélèvements hématologiques et biopsies pour examens cytogénétiques.

Les médecins Pathologistes du CAP-HUB participent à la décision thérapeutique à travers les Concertations Oncologiques Multidisciplinaires.

Les tests accrédités effectués dans le Centre d'Anatomie Pathologique de l'Université Libre de Bruxelles sont disponibles sur le site de Belac via le lien suivant :

https://ng3.economie.fgov.be/NI/belac/medilabs/scope_pdf/727-MED.pdf

Le CAP-HUB, de part son accréditation ISO 15189, s'est engagé dans un processus d'amélioration continue afin de nous permettre de répondre aux besoins des patients et des médecins prescripteurs. Il est possible de nous communiquer vos demandes d'adaptation en complétant le formulaire mis à votre disposition sur le site Internet. Les demandes seront prises en compte en interne et toute demande fera l'objet d'un retour.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rimmelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 4 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

4.2. La demande d'examen

Chaque prélèvement est accompagné d'un formulaire de demande. Il existe plusieurs formulaires de demandes :

- un formulaire général : Formulaire de demande d'analyse
- plusieurs formulaires spécifiques :
 - Demande de Pathologie moléculaire
 - Demande de Biologie Moléculaire pour le test de profilage d'expression génétique MammaPrintBlueprint et Oncotype DX for Breast Recurrence Score,
 - Demande de Cytogénétique et/ou FISH sur tissus frais secteur onco-hématologique,
 - Demande d'analyse pathologie mammaire,
 - Demande d'analyse de biopsies hépatiques,
 - Demande d'analyse de biopsies prostatiques,
 - Demande d'examen thyroïdien (ponctions),
 - Demande d'examen anatomopathologique ou cytologique : oeso-gastro-duodenoscopie (OGD)
 - Demande d'examen anatomopathologique ou cytologique : colonoscopie
 - Demande d'examen anatomopathologique ou cytologique : cholangio-pancréatographie endoscopique (CPE)
 - Demande d'examen anatomopathologique ou cytologique : Mucosectomie (EMR)
 - Demande d'examen anatomopathologique ou cytologique : Echo-endoscopie (EUS)
 - Demande d'examen post-mortem.

Ces différents formulaires de demandes sont disponibles sur demande au Laboratoire ou sur le site internet :

<https://www.hubruelles.be/fr/documents-telecharger>

4.2.1. Informations à indiquer sur le formulaire de demande

- une identification **univoque** du patient et du médecin prescripteur ;
- une liste précise et numérotée des différents prélèvements ;
- les informations 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 être accompagné d'une demande qui doit comporter les informations suivantes :

1. **Identification du patient :**
 - Nom – prénom ;
 - Sexe ;
 - Date de naissance ;
 - Numéro d'identifiant.
2. **Identification du prélèvement :**
 - Nom – prénom ;
 - Numéro d'identifiant ;

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 5 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

- Date et heure de prélèvement ;
- Site de prélèvement.

3. Identification du médecin prescripteur :

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

IMPORTANT

Comme la traçabilité des échantillons doit être parfaite, le Laboratoire ne peut accepter et traiter des échantillons primaires qui ne sont pas correctement identifiés.

Des non-conformités relatives à la demande et au prélèvement sont introduites dans le logiciel Diamic. Les non-conformités relatives au prélèvement sont indiquées sur le protocole ([AN-HUB-QUAL-32](#)).

Lorsqu'il y a incertitude sur l'identité d'un échantillon (type de tissus, demande, identifiant du patient,...), dans le cas où l'échantillon primaire est instable (certaines biopsies ou des échantillons devant être mis en culture dans le cadre d'une analyse cytogénétique par exemple) ou irremplaçable (pièce anatomique, biopsie, etc.), le CAP peut quand même décider de réaliser l'analyse mais ne délivrera le résultat qu'après obtention d'une confirmation écrite ou téléphonique prouvant que la personne responsable du prélèvement en assume la pleine responsabilité.

L'encodeur du CAP a la responsabilité de vérifier la concordance des informations présentes sur la demande et le prélèvement. Toute discordance ou absence d'information conduit à une procédure de prélèvement non-conforme ([PR-HUB-QUAL-12](#)).

4.2.2. Données cliniques

Le médecin prescripteur ou préleveur doit préciser le but de l'analyse afin d'orienter le pathologiste dans sa recherche.

Il faut :

- indiquer les antécédents médicaux quand ils sont connus ;
- signaler si le même test a déjà été réalisé (dans un autre laboratoire, suivi médical effectué, etc.) et en donner le résultat ;
- signaler les traitements intercurrents s'ils peuvent interférer avec les résultats de l'analyse demandée ;
- les diagnostics connus, soupçonnés ou à écarter doivent être mentionnés. En particulier, ces informations sont indispensables pour une mise en culture adéquate des prélèvements destinés à la Cytogénétique. Par ailleurs, dans le cas particulier de suspicion d'un myélome multiple, le taux approximatif de plasmacytes dans un échantillon médullaire destiné à la Cytogénétique doit être renseigné au plus vite (le jour du prélèvement ou au plus tard le lendemain avant 12H), afin de décider de l'opportunité de programmer une

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rimmelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 6 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

sélection de plasmocytes pour des analyses FISH. Les veilles de WE ou de jour férié, la sélection des cellules en vue d'analyses FISH sera réalisée si un taux approximatif de plasmocytes nous arrive avant 12H ;

- le but de l'examen (spécialement dans le cas des examens extemporanés).

Les demandes de réalisation d'analyses complémentaires se font uniquement par écrit (par e-mail à l'adresse suivant : SecMed.anapath@hubruxelles.be). Les demandes formulées oralement (par téléphone, par exemple) ne seront pas prises en compte. Le secrétariat du LAP vous demandera expressément et systématiquement une demande écrite.

4.2.3. Technique de prélèvement

Tout incident survenant au cours du prélèvement et qui pourrait avoir un impact sur la qualité du tissu extrait doit être signalé sur la demande.

Pour chaque pièce opératoire orientée par des fils ou autre, il faut préciser clairement dans la demande l'identification de ces fils ou autre.

4.2.4. Acheminement des prélèvements

Les prélèvements internes à l'Institut Bordet parviennent au Laboratoire soit :

- par les brancardiers, des infirmiers, des assistants ou des médecins (grosses pièces, navettes d'autres hôpitaux)
- par les télétubes / monte charge :
 - o les prélèvements frais et fixés (en fonction de la taille) sont envoyés par les télétubes / monte charge.
 - o tous les prélèvements secs ET les prélèvements sanguinolents sont envoyés dans des récipients plastiques avec fermeture hermétique.
 - o Le CAP-HUB n'est pas responsable du nettoyage des cartouches, ni de l'entretien des télétubes.
 - o Aucun prélèvement ne sera envoyé par les télétubes après 17 H 00, ni pendant le week-end.

Pour les prélèvements de cytologie « liquide » : ne jamais les envoyer par télétube.

Au cas où l'échantillon est déposé manuellement au Centre d'Anatomie Pathologique, il est remis en main propre au personnel de ce Laboratoire.

Aucun échantillon ne peut être déposé au sein du Centre d'Anatomie Pathologique sans que le personnel n'ait été averti.

Spécificités externes au CAP-HUB

Le personnel des sites externes est responsable de la prise en charge des échantillons.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 7 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Ces échantillons sont ensuite pris en charge par une navette ou courrier et amenés directement au CAP-HUB.

4.3. Conditions générales pour la fixation des prélèvements

Tous les échantillons destinés au CAP-HUB excepté les extemporanées et les prélèvements de cytogénétique et de cytologie sont, s'ils ne sont pas rapidement transportés aux laboratoires, placés dans ***une solution de fixation fournie par le laboratoire.***

La majorité des prélèvements destinés au CAP doivent être fixés au formol 4% tamponné. Certains prélèvements sont particuliers et nécessitent un autre type de fixation (Voir [AN-HUB-QUAL-34](#) et [AN-HUB-CYTO-01](#)).

Il est fortement recommandé de fixer chaque pièce chirurgicale dans l'heure qui suit le prélèvement. La fixation des pièces doit être de minimum 6h et maximum 72h.

Il est impératif de noter l'heure de la fixation de l'échantillon sur la demande.
--

La quantité de formol tamponné utilisée doit être suffisante pour recouvrir largement l'échantillon dans son entièreté (par exemple : au moins 2 fois le volume).

Il n'est pas recommandé d'envoyer des prélèvements de suspicion de lymphome le vendredi ou le jour précédent un jour férié.

4.4. Demande Immunohistochimie (IHC)

- En interne, la demande d'examens immunohistochimiques est informatisée.
 - Si la demande provient d'un prescripteur externe, il utilise le formulaire de demande générale ([FO-HUB-QUAL-01](#)).
 - Pour les examens immunohistochimiques dont la liste est détaillée ci-dessous, la demande d'analyse de pathologie moléculaire ([FO-HUB-BM-11](#)) doit être complétée.

- HER2,
- Anaplastic lymphoma kinase (ALK),
- c-ROS proto-oncogene 1 (ROS1),
- Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) clone 22C3,
- Pan-TRK,
- mutL homolog 1 (MLH1), PMS1 homolog 2 (PMS2), mutS homolog 2 (MSH2), mutS homolog 6 (MSH6)

- L'identification et le nombre de blocs doivent être mentionnés sur la demande. Cette dernière peut être envoyée par courrier interne, postal ou par email à l'adresse SecMed.AnaPath@hubruxelles.be.

Aspects pratiques :

- Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 72 heures. La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rimmelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 8 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

- Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomopathologique complet doit être associé. Le médecin prescripteur vérifiant la fixation adéquate du prélèvement.
- Les tests sont réalisés au minimum 1 fois par semaine et le délai de réponse est de 10 jours.
- Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique ou fera l'objet d'un protocole additionnel. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

4.4.1. Analyse immunohistochimique ALK

Domaine d'application :

Des réarrangements du gène ALK (Anaplastic lymphoma kinase) ont été décrits dans environ 3 à 5% des cancers pulmonaires non à petites cellules (NSCLC) et semblent être plus fréquents chez les patients porteurs d'un adénocarcinome, non-fumeurs et ne présentant pas de mutation des gènes EGFR et KRAS.

Une prise en charge thérapeutique inhibant la kinase ALK nécessite la démonstration d'un réarrangement du gène ALK. Actuellement, l'immunohistochimie est considérée comme faisant partie des outils diagnostiques potentiels permettant d'évaluer la présence de la protéine de fusion ALK.

4.4.2. Analyse immunohistochimique Her2-Neu

Domaine d'application :

La détection par immunohistochimie de l'amplification du gène HER2/Neu dans le cancer du sein et dans le cancer gastrique est un marqueur pronostic. Cette amplification est également directement corrélée à la réponse au traitement par thérapie ciblée anti-HER2 (Trastuzumab). Une amplification mise en évidence par immunohistochimie doit être validée par FISH.

4.4.3. Analyse immunohistochimique ROS1

Domaine d'application :

Des réarrangements du gène ROS1 ont été décrits dans environ 1 à 3% des cancers pulmonaires non à petites cellules (NSCLC). La présence d'un tel réarrangement dans le NSCLC serait associée à une réponse thérapeutique au Crizotinib.

Actuellement, l'immunohistochimie est considérée comme faisant partie des outils diagnostiques potentiels permettant d'évaluer la présence de la protéine de fusion ROS1.

4.4.4. Analyse immunohistochimique PD-L1

Domaine d'application :

Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) est une protéine transmembranaire, exprimée à la surface de certains macrophages et induite par des cytokines pro-inflammatoires dans divers tissus. PD-L1 se lie au récepteur Programmed Death-1 (PD-1) qui est exprimé à la surface de diverses cellules immunitaires (lymphocytes T cytotoxiques, lymphocytes B, cellules présentatrices d'antigènes...). En condition normale, les cellules utilisent l'interaction PD-1/PD-L1 comme mécanisme de protection contre les réactions auto-immunes en inhibant l'action des lymphocytes T.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rimmelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 9 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

De nombreux types de tumeurs surexpriment PD-L1 (mélanome, carcinome rénal, carcinome du poumon non à petites cellules...), échappant ainsi à la réponse immunitaire en induisant un état de tolérance immunitaire par inhibition de l'activation lymphocytaire.

Le kit PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako, Agilent) est un test immunohistochimique qualitatif utilisant l'anticorps monoclonal de souris anti-PD-L1, Clone 22C3, conçu pour la détection de la protéine PD-L1 dans des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Cette immunohistochimie est indiquée dans le cadre de cancers du poumon non à petites cellules, de carcinomes urothéliaux, de carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou (HNSCC) et de cancers gastriques, de l'oesophage ou de la jonction gastro-oesophagienne.

La détection de l'expression de PD-L1 au sein des cellules tumorales est donc un biomarqueur pour la réponse à l'immunothérapie anti-PD-1 (Pembrolizumab, Nivolumab...).

4.4.5. Analyse immunohistochimique Pan-TRK

Domaine d'application :

Les récepteurs kinases de la tropomyosine (TRK) sont une famille de 3 proto-oncogènes comprenant NTRK1, NTRK2 et NTRK3 qui codent respectivement pour les protéines Trk A, Trk B et Trk C. Elles sont impliqués dans des processus biologiques tels que la survie, la différenciation et la plasticité neuronale.

Les fusions impliquant le domaine kinase des protéines TrkA, TrkB ou TrkC sont oncogéniques. Elles sont rares mais présentes dans une grande variété de types de tumeurs chez l'adulte et l'enfant. Le Larotrectinib et l'Entrectinib (inhibiteurs des TRK) sont utilisés pour le traitement de patients adultes et/ou pédiatriques atteints de tumeurs solides localement avancées ou métastatiques avec une fusion TRK.

L'immunohistochimie anti-PanTrk est considérée comme faisant partie des outils diagnostiques potentiels permettant d'évaluer la présence d'une fusion TRK. Un résultat positif étant vérifié par analyse NGS Panel fusion.

4.5. Demande de Pathologie moléculaire

Aspects pratiques :

- Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre.
- La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 72 heures.
- la demande d'analyse de pathologie moléculaire (**FO-HUB-BM-11**) doit être complétée. Pour les biopsies liquide la demande (**FO-BM-96**) doit être complétée.
- La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.
- Si le fixateur ou le temps de fixation n'est pas précisé, l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme (**AN-HUB-QUAL-32**).
- **Pour les analyses de FISH/CISH les prélèvements fixés avec un fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 10 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Récapitulatif des critères de non-conformité (cf. [AN-HUB-QUAL-32](#))

Nature de la non-conformité	Analyses	
	FISH/CISH	Autres
Utilisation d'un mauvais fixateur (autre que le formol tamponné 4%)	Bloquant	Non Bloquant
Prélèvement décalcifié		
Délai <u>avant</u> fixation supérieur à 1 heure ou non mentionné	Non Bloquant	Non Bloquant
Temps de fixation <6h ou >72h ou non renseigné		
Prélèvement coloré à l'éosine		

- Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomo-clinique complet doit être associé.
- Le résultat fera l'objet d'un protocole qui sera inclus au dossier du patient. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

4.5.1. Analyses par FISH/ISH paraffinées

- Une demande d'analyse doit être remplie par le prescripteur. Cette demande peut être envoyée par courrier interne, postal ou par email à l'adresse Biomol.Anapath@hubruxelles.be. Si les demandes sont faites par un autre biais que les demandes d'analyse disponible via le lien <https://www.hubruxelles.be/fr/documents-telecharger>), l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme ([AN-HUB-QUAL-32](#)).
- **Remarque : Toutes les informations demandées sur l'échantillon sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.**
- Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre.
- Dans le cadre de la recherche de l'amplification de l'oncogène HER2, pour les tumeurs mammaires ou gastriques, il est demandé de transmettre avec le bloc les lames HE et IHC HER2 correspondantes.
- La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 72 heures.
- La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.
- Si le fixateur ou le temps de fixation n'est pas précisé, l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme ([AN-HUB-QUAL-32](#)).
- **Pour les analyses de FISH/CISH les prélèvements fixés avec un fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 11 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Analyses	Délai de réponse
HER2-Neu	10 j
MET	10 j
p16	15 j
IGH :BCL1	15 j
IGH :BCL2	15 j
BCL6	15 j
C-MYC BA	15 j
MALT1	15 j
C-MYC AMP	15 j
MAML2	15 j
N-MYC	15 j
DEL 13	15 j
MYB	15 j
EBV	10 j
EGFR	15 j
MDM2	15 j

Remarques:

- Une analyse peut être répondue non-contributive, si la quantité de cellules tumorales ou la qualité de l'hybridation sont insuffisants selon nos critères d'acceptation.
- Une analyse peut être refusée si les indications cliniques ne sont pas respectées.

4.5.2. Analyses par PCR

La demande (**FO-HUB-BM-11**) doit être complétée.
doit être envoyée au CAP-HUB accompagnée du bloc et de la lame HE correspondante.

Le prélèvement doit être fixé dans du formol tamponné 4 % entre 6 à 72h. L'analyse ne sera pas réalisée sur un prélèvement fixé avec un autre fixateur ou s'il a été décalcifié.

Analyses	Délai de réponse
BRAF (Idylla)	72 h
KRAS (Idylla)	72 h
NRAS (Idylla)	72 h
EGFR (Idylla)	72 h
Méthylation du promoteur du gène MGMT	18 j
MSI (Idylla)	10 j
Méthylation du promoteur du gène MLHI	21 j
PCR-B (Réarrangement IGH + IGK)	15 j

Remarques :

- Une analyse peut être répondue non-contributive si la quantité et/ou la qualité d'ADN du prélèvement sont insuffisants selon nos critères d'acceptation.
- Une analyse peut être refusée si les indications cliniques ne sont pas respectées.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 12 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

4.5.3. Analyse par Séquençage

La demande (FO-HUB-BM-11) doit être envoyée au CAP-HUB accompagnée du bloc et de la lame HE correspondante.

Le prélèvement doit être fixé dans du formol tamponné 4 % entre 6 à 72h. L'analyse ne sera pas réalisée sur un prélèvement fixé avec un autre fixateur ou s'il a été décalcifié.

Analyses NGS	Délai de réponse
CHP (Cancer Panel)	15 j
CLP (Colon & Lung Panel)	15 j
OST (Colon & Lung + Oncomine Solid Tumor Panel)	15 j
GP (Gynéco Panel)	15 j
NEUFUS (Neuro panel)	15 j
CGP (Glioma panel)	15 j
TFP (Thyroïde fusion panel)	15 j
TP (Thyroïde panel)	15 j
OFA (Oncomine Focus)	15 j
A-CTL et (Panel Fusion Archer)	15 j
A-SARCOMA (Panel Fusion Archer)	15j
BrightCore Large Cancer panel (STHT panel ; 168 gènes ; BELAC141-MED)	25 j

CHP - Cancer Panel - Panel 50 gènes : ABL1, AKT1, ALK, APC, ATM, BRAF, CDH1, CDKN2A, CSF1R, CTNNB1, EGFR, ERBB2, ERBB4, EZH2, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HNF1A, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, JAK3, KDR, KIT, KRAS, MET, MLH1, MPL, NOTCH1, NPM1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, PTPN11, RB1, RET, SMAD4, SMARCB1, SMO, SRC, STK11, TP53, VHL

BrightCore Large Cancer panel (STHT panel - 168 gènes - : ABL1, ACVR1, AKT1, ALK, APC, AR, ARAF, ARID1A, ASXL1, ATM, ATR, ATRX, AXIN1, BAP1, BARD1, BCL2, BCL6, BCOR, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, BTK, CALR, CARD11, CBL, CCND1, CD79B, CDH1, CDK12, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CHEK1, CHEK2, CIC, CRBN, CREBBP, CSF3R, CTNNB1, CUL4B, CXCR4, CYLD, DAXX, DDR2, DICER1, DIS3, DNMT3A, EGFR, EGR1, EIF1AX, EP300, EPCAM, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, ETV6, EZH2, FAM175A, FAM46C, FANCA, FANCL, FAU, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FOXL2, FOXO1, FUBP1, GNA11, GNAQ, GNAS, H3F3A, H3F3B, HIST1H1E, HIST1H3B, HIST1H3C, HRAS, IDH1, IDH2, IKZF1, IRF4, JAK2, JAK3, KIT, KMT2A, KMT2D, KRAS, LTB, MAP2K1, MAP2K2, MEF2B, MEN1, MET, MLH1, MPL, MRE11, MSH2, MSH6, MTOR, MUTYH, MYD88, MYO10, NBN, NF1, NF2, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NPM1, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUTM1, PALB2, PAX8, PDGFRA, PDGFRB, PIK3CA, PIK3R1, PMS2, POLD1, POLE, PPM1D, PRKAR1A, PTEN, PTPN11, RAD50, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L, RASAL1, RB1, RET, RHOA, RICTOR, ROS1, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMO, SRSF2, STAG2, STAT3, STK11, TERT, TET2, TNFAIP3, TNFRSF14, TP53, TRAF3, TSC1, TSC2, U2AF1, VAV1, VHL, WT1, XRCC2 et ZRSR2.

A-CTL (Panel Fusion Archer - 19 gènes: ALK, AXL, BRAF, CCND1, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PIK3CA, PPARG, RAF1, RET, ROS1 et THADA.

Cancers pulmonaires

OFA (Oncomine Focus)- **Panel Fusion ONCOMINE FOCUS RNA (OFA)** : détection de 271 transcrits de fusion impliquant 23 gènes : ABL1, AKT3, ALK, AXL, BRAF, EGFR, ERBB2, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PPARG, RAF1, RET, ROS1

Permet la détection de 271 transcrits de fusion impliquant 23 gènes dont NTRK1, NTRK2, NTRK3.

Permet la détection du MET exon 14 skipping et de l'EGFR vIII.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 13 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Cancers pulmonaires, mélanomes et GIST

OST (Colon & Lung + Oncomine Solid Tumor Panel) - **Panel 25 gènes** : AKT1, ALK, BRAF, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB4, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KRAS, MAP2K1, MET, NOTCH1, NRAS, PIK3CA, PTEN, SMAD4, STK11, TP53, HRAS, KIT, PDGFRA

Détection possible du MET exon 14 skipping

Cancers colorectaux

CLP (Colon & Lung Panel) - **Panel 22 gènes** : AKT1, ALK, BRAF, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB4, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KRAS, MAP2K1, MET, NOTCH1, NRAS, PIK3CA, PTEN, SMAD4, STK11, TP53

Cancers gynécologiques

GP (Gynéco Panel) - **Panel 17 gènes** : AKT1, BRAF, CDKN2A, CTNNB1, DICER1, ERBB2, ESR1, FBXW7, FGFR2, FOXL2, KRAS, PIK3CA, PIK3R1, POLE, PTEN, RB1, TP53

Tumeurs cérébrales

CGP (Glioma panel) - **Panel 39 gènes** : ACVR1, ATRX, BRAF, CDK4, CDK6, CDKN2A, CDKN2B, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, H3F3A (=H3.3), H3F3B, HIST1H3B (=H3C2), HIST1H3C (=H3C3), HRAS, IDH1, IDH2, KRAS, MDM2, MDM4, MYCN, NF1, NF2, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, POLD1, POLE, PPM1D, PRKCA, PTEN, PTPN11, RB1, TERT, TP53, TSC1, TSC2

Lésions thyroïdiennes

TP (Thyroïde panel) - **Panel 27 gènes** : AKT1, APC, AXIN1, BRAF, CDH1, CDKN2A, CHEK2, CTNNB1, EGFR, EIF1AX, FLT3, GNAS, HRAS, IDH1, KRAS, NRAS, PIK3CA, PPM1D, PRKAR1A, PTEN, RASAL1, RET, SMAD4, TERT, TP53, TSHR, VHL

TFP (Thyroïde fusion panel) - **Panel Thyroid Fusion** : détection de 66 transcrits de fusion impliquant 7 gènes : ALK, BRAF, THADA, NTRK1, NTRK3, PPARG, RET

Sarcomes

A-SARCOMA (Panel Fusion Archer) - **Panel Fusion sarcome** : détection de transcrits de fusion impliquant 61 gènes : ALK, BCOR, BRAF, CAMTA1, CCNB3, CIC, CSF1, EGFR, EPC1, ERG, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FOS, FOSB, FOXO1, FUS, GLI1, HMGA2, JAZF1, MBTD1, MDM2, MEAF6, MET, MGEA5, MKL2, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NR4A3, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUTM1, PAX3, PDGFB, PDGFRA, PHF1, PLAG1, PRKCA, PRKCB, PRKCD, RAF1, RET, ROS1, SS18, STAT6, TAF15, TCF12, TFE3, TFG, USP6, VGLL2, YAP1, YWHAE.

Remarques

- Une analyse peut être répondue non-contributive, si le pourcentage tumoral, la quantité et/ou la qualité d'ADN / ARN du prélèvement sont insuffisants selon nos critères d'acceptation.

4.5.4. Analyse de type GEP

La demande (**IJB-AQ-F087-V05**) doit être envoyée au CAP-HUB.

L'analyse MammaPrint Blueprint est réalisée par l'UZ Leuven (215-MED).

L'analyse Oncotype DX for Breast Recurrence Score est réalisée par la firme propriétaire de la technologie : Genomic Health (USA).

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 14 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

4.5.5. Analyse HPV

Domaine d'application :

Recherche de séquences virales HPV dit à haut risque (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) dans les cytologies cervicales « borderline » de type ASC-US (atypies épithéliales de signification indéterminée), ASC-H (atypies épithéliales devant faire exclure la présence de lésions de haut grade sous-jacentes), AGC (cellules glandulaires endocervicales atypiques) ou dans le suivi du traitement d'une néoplasie cervicale intra-épithéliale de haut grade (CIN2-3) avec prélèvements cervico-vaginaux négatifs. Ce test permet d'identifier simultanément les types d'HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66 et 68 et permet d'identifier simultanément de façon spécifique les types à haut risque : 16, 18, 31, 45, 51, 52 et d'autres génotypes à haut risque reportés par groupe de génotype (P1 :33/58, P2 :56/59/66, P3 :35/39/68).

Aspect pratique :

- Les tests sont réalisés à partir de la solution cytologique résiduelle PreservCyt® de Hologic ayant servi à la réalisation de la cytologie monocouche préalable.
- Les tests sont réalisés sur le système Viper LT de BD.
- Cette recherche HPV ne peut être prescrite que par le médecin spécialiste en anatomie pathologique prestataire de la prestation 588350-588361 ou 588873-588884 ou 588895-588906 selon les cas, accompagnée de la feuille de demande dûment complétée (**FO-HUB-HPV-01**).
- Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.
- Les tests sont réalisés tous les jours le délai de réponse est de maximum 13 jours ouvrables.

4.5.6. Demande de biologie moléculaire sur ADN tumoral circulant (biopsies liquides)

La méthode utilisée au laboratoire d'Anatomie pathologique est une méthode de « Digital droplet PCR (ddPCR) » permettant de détecter les mutations p.L858R, p.E746_A750del et p.T790M du gène EGFR à partir de ctDNA.

Aspects pratiques :

- 2 tubes de sang (tube Streck) doivent être envoyés au laboratoire (cf. Instruction pour le prélèvement des biopsies liquides : **AN-BM-44**) :
 - o Remplir les tubes complètement (au moins 2 x 8ml)
 - o Mélanger immédiatement en inversant **doucement** le tube 10 fois.
 - o Stocker les tubes et les transporter à température ambiante.
- Les prélèvements de sang en vue d'une biopsie liquide doivent être prélevés dans les tubes appropriés (cell-free DNA BCT – Streck). Ces prélèvements sont à conserver à température ambiante pendant tout le transport et doivent arriver au laboratoire sous 48h (un délai d'acheminement le plus court possible est préférable).
- Les kits de prélèvement de biopsies liquides sont fournis par le CAP sur demande par téléphone (02/555 8508) ou par email Biomol.Anapath@hubruxelles.be



10X

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 15 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

- Si les tubes arrivent au TRI central, ceux-ci doivent être envoyés au laboratoire d'Anatomie Pathologique le plus rapidement possible (cf. Instructions destinées au tri pour l'envoi des tubes de biopsies liquides en anatomie pathologique : [AN-HUB-BM-35](#))
- Une demande d'analyse pour biopsie liquide disponible via le lien <https://www.hubruelles.be/fr/documents-telecharger> doit être remplie par le prescripteur. **Cette demande doit être envoyée avec les tubes de sang.**
- La date et l'heure de prélèvement doivent être indiquées sur la feuille de demande.
- Les renseignements cliniques doivent être indiqués sur la feuille de demande.
Les informations demandées sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.
- Les tests sont réalisés à partir d'ADN tumoral circulant (ctDNA) extrait à partir du plasma.
- Le résultat fera l'objet d'un protocole qui sera inclus au dossier du patient. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire. Le délai de réponse est de maximum 10 jours.

4.6. Cytogénétique

Il existe un formulaire spécifique à la Cytogénétique (voir 5.1 : formulaire de demande) : « Demande de Cytogénétique et/ou FISH sur tissu frais secteur Onco-Hématologique » disponible sur le site internet Bordet.

Certaines de nos analyses et/ou techniques sont accréditées selon la norme ISO15189 – Certificat Belac 372-MED.

4.6.1. Généralités

Idéalement, tout prélèvement précieux venant de l'extérieur de l'Institut devrait être annoncé afin que le laboratoire puisse s'inquiéter de sa non-réception éventuelle.

Les différentes voies pour prévenir de l'arrivée d'un échantillon sont :

- le téléphone (02/541.31.16 pour les biopsies; 02/541.72.68 pour les prélèvements sanguins/médullaires)
- la voie électronique aux trois adresses e-mail suivantes :
 - anne.deboeck@hubruelles.be
 - cytogenetique@hubruelles.be
 - pierre.sidon@hubruelles.be

Les échantillons destinés à la cytogénétique ne peuvent être soumis à des températures extrêmes (conserver à l'abri du gel -aucun prélèvement ne peut être congelé, ni exposé à des sources extérieures de chaleur -en particulier pas d'exposition directe au soleil).

4.6.2. Prélèvements biopsiques

Les prélèvements biopsiques nous sont transmis directement via le Tri du LHUB à Erasme.

Les prélèvements extérieurs à l'Institut doivent arriver, idéalement, dans un milieu de culture spécifique (RPMI) avant 16 H le lendemain du jour de la réalisation du prélèvement. Pour toute

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rimmelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rimmelink	Page 16 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

suspicion de LAL (ou lymphome lymphoblastique) ou de neuroblastome, les prélèvements doivent parvenir le jour-même de leur réalisation. Les prélèvements doivent avoir été manipulés de manière stérile pour éviter tout risque d'infection de la culture cellulaire.

Par souci d'uniformité, tous les laboratoires extérieurs reçoivent des tubes standardisés contenant ce milieu et les renvoient au Laboratoire de Cytogénétique avec l'échantillon.

Si le prélèvement ne peut pas être envoyé directement au Laboratoire de Cytogénétique, il peut être conservé au frigo (entre 4 et 8°C) jusqu'au moment du transport (mais il doit nous parvenir au plus tard le lendemain du jour du prélèvement avant 16 H 00).

4.6.3. Prélèvements sanguins et médullaires

Les prélèvements doivent être réalisés sur **tubes héparinés** (pour un prélèvement de moelle : si possible au moins 2 ml, pour un prélèvement sanguin : si possible au moins 5 ml) et nous parvenir avant 16 H 00 le lendemain du jour de la réalisation du prélèvement. Pour toute suspicion de LAL (ou lymphome lymphoblastique), les prélèvements doivent parvenir le jour-même de leur réalisation.

Si le prélèvement ne peut pas être envoyé directement au Laboratoire de Cytogénétique, il peut être conservé à température ambiante jusqu'au moment du transport (mais il doit nous parvenir au plus tard le lendemain du jour du prélèvement avant 16 H 00).

Analyses	Délai de réponse	Remarque
Caryotypique	peut atteindre 2 mois et demi dans certains cas	pour un nouveau diagnostic de leucémie aiguë, le résultat sera rendu endéans 2 semaines
FISH	4 à 6 semaines (après la demande, qui peut dépendre d'un diagnostic histologique obtenu parfois plusieurs semaines après la réalisation du prélèvement).	Pour un nouveau diagnostic de leucémie aiguë ou de LMC (leucémie myéloïde chronique), le résultat sera rendu endéans 2 semaines.
Analyse de FISH sur plasmocytes sélectionnés	d'environ 6 semaines	

Remarque générale :

Ce délai peut être raccourci soit selon l'estimation du responsable de secteur du degré d'urgence éventuel (en fonction des données cliniques et/ou paracliniques), soit à la demande du prescripteur ou du biologiste après contact téléphonique avec un des responsables de secteur (joignables au 02/541. 31.44 ou 02/541.73.17 ou par e-mail : pierre.sidon@hubruxelles.be ou pheimann@hubruxelles.be

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 17 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

4.7. Macroscopie

Tous les prélèvements sont réceptionnés au Tri-encodage, ils sont alors pré-encodés, les manquements par rapport au formulaire de demande ou du prélèvement sont introduits.

Les biopsies sont directement mises en cassette pour être fixées et paraffinées.

Les pièces opératoires sont examinées, découpées, mises en cassette pour être fixées et paraffinées.

Afin d'éviter les doubles prescriptions Macroscopie/Cytologie, une seule demande sera complétée pour plusieurs prélèvements anatomo-pathologiques à savoir, biopsie et frottis, ponction...

Pour les prélèvements extemporanés,

- de Bordet : la salle d'opération prévient le secteur de Macroscopie par téléphone
- de Saint-Pierre* et Ixelles : un pathologiste se rend sur place pour effectuer les extemporanés selon un planning
- de l'Hôpital Erasme : la salle d'opération prévient le technologue responsable par téléphone.

* Pour les extemporanés de l'Hôpital Saint-Pierre : au Quartier Opératoire Saint-pierre

4.8. Examen extemporané

Il s'agit d'examens histologiques et/ou cytologiques réalisés en urgence par le chirurgien. Le but de ces examens est d'adapter la procédure chirurgicale aux caractéristiques de la pathologie mise en évidence durant l'intervention.

Les techniques cytologiques sont répertoriées et sont similaires aux procédures de routine en ce qui concerne les techniques histologiques ces examens 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 (5 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 du prélèvement congelé après fixation et coloration classique.

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 : 5 minutes maximum pour garantir la qualité de l'examen.
- Le BIP extemporanée (55507) est disponible de 8h à 17h tous les jours ouvrables. Un service de garde est assuré 24h/24 pour les extemporanées. Le pathologiste et le technicien de garde sont joignables via la centrale téléphonique +32 2 555 31 11.
- Le résultat est transmis dans les 45 minutes maximum.
- Le protocole extemporané est transmis par téléphone par le pathologiste. Il est intégré au protocole final associé à la validation définitive.

4.9. Histologie

Les pièces opératoires et les biopsies constituent les prélèvements histologiques.

Ces prélèvements sont fixés au formol (4%) pH neutre, minimum 6 heures – maximum 72 heures.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 18 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Le volume de fixateur doit être égal à au moins deux fois le volume du prélèvement.

Pour les pièces opératoires reçues à frais et les prélèvements extemporanés provenant des quartiers opératoires, il est essentiel de respecter un délai d'acheminement inférieur à 30 minutes.

Pour tout prélèvement urgent, autre que les prélèvements extemporanés, une procédure d'acheminement d'urgence est possible. Pour ce faire, vous devez appeler le bip 6553. Cette procédure est d'application de 8h à 17h tous les jours ouvrables.

Un service de garde est assuré 24h/24h pour les extemporanées. Le pathologiste et le technicien de garde sont joignables via la centrale téléphonique au +32 2 555 31 11.

Les résultats comportant l'examen microscopique et macroscopique font l'objet d'un protocole qui est délivré dans les 5 jours pour une pièce opératoire et les 3 jours pour une biopsie.

Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez contacter le secrétariat : +32 2 555 33 35.

4.10. Cytologie

4.10.1. Prélèvement gynécologiques

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.

Remarque : En cas de très petit volume, l'entièreté de l'échantillon est analysée.

- Les **liquides cervico-vaginaux** sont conservés dans les fixateurs suivants fournis par le CAP-HUB :

- Preservcyt (Technique ThinPrep, brevet de la firme « Cytic »). délai de fixation est de maximum 3 mois (minimum = immédiat).
- Le prélèvement peut être conservé dans le pot SUREPATH durant 6 mois à température 4-8°C ou 1 mois à température ambiante.

Après brossage du col, la brosse est remise ensuite dans le flacon.

Une méthode de prélèvement simple et standardisée

1. Prélevez



Prélevez à l'aide d'une cytobrosse ou d'un dispositif associant brosse et spatule en plastique avec des têtes détachables

2. Détachez



Placez la tête détachable dans le flacon BD SurePath™

3. Envoyez



Etiquetez et envoyez le flacon BD SurePath™ au laboratoire

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 19 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

- Les frottis conventionnels sont eux étalés sur des lames annotées au nom du patient et ensuite fixés au spray fixateur.

4.10.2. Prélèvements non gynécologiques

4.10.2.1. Hôpital Erasme

- Les **urines** sont prélevées et conservées dans des pots en plastic propres de 100 ou 200 mL contenant du Saccomano ; le volume de fixateur correspondant au minimum à 25% du volume total du prélèvement. Le délai de fixation est de maximum 72h (minimum = immédiat).

- Les **liquides céphalo-rachidiens** (LCR) et liquides de cusa, les liquides d'ascite, les liquides péritonéaux, les liquides pleuraux, les liquides péricardiques, les liquides articulaires, les liquides de kystes ovariens, les liquides d'œil et les liquides articulaires sont acheminés frais au laboratoire. Le transfert doit être rapide (< 30 minutes). La procédure d'acheminement d'urgence est possible en appelant le bip 56553. Si le prélèvement ne peut être techniqué endéans les 30 minutes, il doit être fixé au Saccomano ou au formol (4%, pH neutre) selon les procédures.

- Les **liquides de lavage broncho-alvéolaire** (LBA), les **aspirations bronchiques**, les **brossages** d'origine bronchique, biliaire, pancréatique, médiastinale et para-œsophagienne sont acheminés au CAP fixés Saccomano ou au formol (4%, pH neutre) selon les procédures. Le délai de fixation est de maximum 72h (minimum = immédiat).

- Les **frottis** sont acheminés secs ou fixés au laboratoire en fonction de la coloration à réaliser (frottis secs : coloration de Diff-Quick ; frottis fixés : coloration de Papanicolaou). Les frottis de masses mammaires et les ponctions sont colorés au Diff-Quick (frottis secs). Certains frottis d'adénopathies et d'organes profonds nécessitent une coloration Papanicolaou (fixation au spray). Les frottis gynécologiques (étalements) sont toujours colorés au Papanicolaou (fixation au spray).

- les **frottis de moelle** sont acheminés sous forme de 3 étalements en provenance du laboratoire d'hématologie (un sec pour la coloration de PAS, un fixé pour la coloration de Papanicolaou et une lame colorée au MGG).

Les résultats comportant l'examen cytologique font l'objet d'un protocole qui sera délivré dans les 4 jours.

Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez contacter le secrétariat : +32 2 555 33 35.

4.10.2.2. Institut Jules –Bordet

Différents prélèvements non gynécologiques sont analysés en Cytologie.

- Des prélèvements liquides comme le liquide céphalo-rachidien (LCR), les urines, le liquide pleural, le liquide d'ascite, les aspirations bronchiques,...
- Des prélèvements d'organes (foie - pancréas - sein – thyroïde, ganglions, EBUS,...) effectués à l'aiguille fine.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 20 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

- Des prélèvements anaux utilisant la technique SUREPATH (expliquée au point gynécologique, utilisation d'un FLOQSwabs)
- Des cytologies par brossage : pulmonaire, bilio-pancréatique.

Types de prélèvements	Envoi : Frais ou fixés
Prélèvements liquide (sauf urine)	Frais ou dans CytoRich
Urine	Carbowax
Prélèvements d'organes	CytoRich
Prélèvements anaux	SUREPATH
Cytologies par brossage	CytoRich

N.B. : des frottis fixés à l'alcool ou séchés à l'air peuvent être aussi préparés avec une fraction du matériel. *Mais le CytoRich red est à privilégier.*

Etalement sur lames des frottis à fixer à l'alcool ou à sécher à l'air

Chaque frottis est étalé sur une lame puis immédiatement placé dans un flacon contenant de l'alcool isopropylique 80 % pour fixation. Il faut préparer un frottis à la fois et le fixer immédiatement dans l'alcool. Le flacon a été préalablement débouché pour ne pas perdre de temps.

Des produits spécifiques en bonbonne peuvent être utilisés mais la fixation à l'alcool est préférable. Les frottis peuvent être, également, séchés rapidement à l'air en agitant la main.

Remarque : les laques pour cheveux sont interdites.

4.11. Autopsies

Si l'un de vos patients est décédé et que vous souhaitez un examen autopsique, veuillez :

- Prévenir le secrétariat d'anatomie pathologie au +32 2 555 33 35 ou +32 2 541 73 23
- Compléter et faire parvenir une « Demande d'examen post-mortem » disponible sur internet.

Il faut vous 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 - <http://www.ordomedic.be/fr/code/search/>). En cas d'opposition, le service d'Anatomie Pathologique ne pourra pas réaliser l'autopsie.

Vous pouvez rassurer les proches en leur expliquant que le corps du défunt ou de la défunte sera remis à la famille après l'autopsie. L'autopsie est réalisée au plus tard le jour ouvrable qui suit le décès. 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 - <http://www.ordomedic.be/fr/code/search/>).

Après réception de la demande d'autopsie, le médecin pathologiste prendra contact avec vous afin de connaître l'histoire clinique du patient et quels sont les points particuliers que vous souhaitez voir analysés. L'examen de l'encéphale n'est réalisé que si l'histoire clinique le nécessite, il ne s'agit pas d'un examen de routine. Il faut donc le signaler au médecin qui pratiquera l'autopsie.

Centre d'Anatomie Pathologique   	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 21 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

Sécurité : Il est OBLIGATOIRE de prévenir le laboratoire du statut infectieux présumé ou avéré du patient (HIV, Hépatite C,...) afin d'assurer la sécurité du personnel du laboratoire.

L'autopsie se déroule en deux temps :

1/ l'examen macroscopique est réalisé en salle d'autopsie (Hôpital Général – niveau -2). Il vous est possible d'y assister. Un compte-rendu provisoire de cet examen vous parviendra endéans les 48 heures ;

2/ l'examen microscopique des prélèvements effectués en salle d'autopsie est réalisé après réalisation des coupes histologiques et lecture des lames. Un second compte-rendu définitif vous parviendra endéans le mois (excepté l'examen de l'encéphale).

Pour toute information complémentaire, vous pouvez joindre le responsable du secteur des autopsies (Laetitia.Lebrun@hubruxelles.be).

Ces informations vous sont données à titre indicatifs et sont susceptibles d'être modifiées.

4.12. Tumorothèque/biobanque

Les pièces opératoires et biopsies doivent être acheminées dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement, **à frais et dans un récipient stérile**. Néanmoins une durée de maximum 2 heures est acceptée pour autant que les délais soient renseignés ensuite dans la base de données de traçabilité. Les échantillons normaux et tumoraux seront enrobés en OCT et congelés directement à -80° C.

4.13. Transport

4.13.1. Hygiène et sécurité

Tous les tissus biologiques sont considérés comme potentiellement infectieux ; il faut donc leur appliquer les mesures préventives de base tels qu'indiquées dans le code de bonne pratique du personnel des laboratoires qui est disponible dans une farde du même nom dans le local **BOR-05.08.061-1.1**.

Les pots doivent être hermétiquement fermés et propres pour pouvoir être certifiés stériles lors de l'enlèvement pour le transport.

4.13.2. Transport

Pour l'Anatomie Pathologique (pièces opératoires et autres)

- Les prélèvements *fixés* dans le formol tamponné 4% sont conservés et transportés à température ambiante (15 à 25° C). Ne pas les mettre au frigo.
- Les prélèvements *non fixés* :
 - Le délai d'acheminement ne doit pas dépasser 1h00.

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 22 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

- Les prélèvements sont transportés à température ambiante (15-25°C).

Pour la Cytologie

- Les prélèvements de cytologie *non fixés* comme les liquides céphalo-rachidiens (LCR), ils sont conservés et transportés à frais (4 et 8° C).
- Les prélèvements de cytologie *fixés* comme les flacons THINPREP ou SUREPATH sont conservés et transportés à température ambiante (15 à 25° C). Ne pas les mettre au frigo

Pour la Cytogénétique

- Les prélèvements biopsiques sont conservés et transportés à frais (4 et 8° C).

Dans le cas où la température extérieure est supérieure à 25°C, il faut placer les prélèvements dans des sachets en plastique puis les entourer de blocs réfrigérés ou de sachets de glace pilée et les envoyer dans un frigo box.

Les prélèvements ne doivent pas geler.

- Les prélèvements sanguins et médullaires sont conservés et transportés à température ambiante (15 à 25° C).

Ces prélèvements ne doivent en aucun cas être placés dans un frigo box quelle que soit la température externe.

4.11.3. Dépôt des prélèvements

Le CAP réceptionne les échantillons de 8h00 à 17h00, les jours ouvrables.

Les prélèvements urgents et extemporanés sont acheminés 24h/24 via le rôle de garde (technologue et pathologistes de garde joignables via la centrale téléphonique : +32 2 555 31 11).

Après 17h00

Il est important de **fixer** les prélèvements pour éviter tout problème ultérieur lors des analyses

- POUR LES SERVICES INTERNES :

- Le prélèvement **fixé** est conservé au sein même du service à température ambiante (15 à 25° C) jusqu'à l'envoi au CAP-HUB.

- POUR LES HOPITAUX EXTERNES :

* PRELEVEMENTS FIXES DU CHU ST PIERRE :

Ceux-ci seront dirigés vers le Tri du CHU ST Pierre (Route 556 - 6ème étage bâtiment 550) et seront conservés à la température ad hoc en fonction du type de prélèvement (cf. protocole de collaboration) jusqu'à l'envoi au CAP-HUB via des transporteurs (EMD).

Centre d'Anatomie Pathologique  	N° du fichier : AN-HUB-QUAL-21	ANNEXE
	Rédaction : Isabelle Roland	Version : 1
	Approbation : Nicky D'Haene, Myriam Rummelink	Date de mise en application : 3 juillet 2024
	Validation : Myriam Rummelink	Page 23 sur 23
Manuel des échantillons primaires		

* PRELEVEMENTS FIXES AUTRES HOPITAUX :

- Le prélèvement **Fixé** est conservé au sein même du service de l'hôpital à température ambiante (15 à 25° C) jusqu'à l'envoi, par transporteur, au CAP-HUB.

4. Références – Validations

Néant.

5. Annexes

Néant.

6. Historique des modifications

Néant.

Anciennes références : AN-QUAL-24, V26 ; IJB-AQ-MQ002, V23.

Validé le : 1^{er} juillet 2024

Par : Pr. Myriam REMMELINK

