



## Manuel de prélèvement des échantillons primaires

### 1. Portée et applications :

Le Manuel de prélèvement des échantillons primaires (MPEP) du Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, Cytologie, Cytogénétique de l'Institut Jules Bordet ; contient les instructions relatives à la manipulation (l'identification, la demande, le prélèvement, le transport) des échantillons primaires.

### 2. Principe

Ce manuel est d'abord un document externe au Laboratoire d'Anatomie Pathologique mis à la disposition des clients (médecins internes et externes, infirmiers/infirmières...) avec comme but que les différentes étapes du processus pré-analytique soient suivies dès que les échantillons sont prélevés. 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 depuis 2009 en suivant les normes ISO15189 (pour le Laboratoire d'Anatomo-Pathologie) et ISO 9001 (pour la Tumorothèque).

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

En effet, nous constatons que près la majorité des problèmes rencontrés sont dûs à la phase pré-analytique : heure et date de prélèvements manquants, renseignements cliniques illisibles/manquants, problème d'identité du patient ou du prescripteur etc.

### 3. Définitions et abréviations

<i>Termes / Abréviations</i>	<i>Définitions</i>
MPEP	Manuel de prélèvement des échantillons primaires
Echantillon	Partie du matériel humain dont la représentativité peut être prouvée concrètement, destinée à l'examen, la préparation, l'analyse et le stockage. Souvent cette notion est également désignée par les termes « spécimen », « prélèvement » ou « pièce »

### 4. Responsabilités, informations générales et informations administratives

#### 4.1. Responsabilités :

Le contenu et l'exécution du MPEP sont sous la responsabilité du Directeur du Laboratoire et du Responsable Qualité du Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique, en collaboration avec les responsables de secteurs.



## 4.2. Informations générales :

### AVANT PROPOS

Avant le déménagement de l'Institut Jules Bordet vers le nouvel Hôpital New Bordet situé à côté de l'Hôpital Erasme, il a été décidé que la cytogénétique Hémato-oncologique sera intégrée dans le centre de génétique de l'ULB, situé dans l'Hôpital Erasme et ne sera plus localisée au sein du laboratoire d'Anatomie Pathologique du New Bordet.

Le déménagement de la cytogénétique et l'organisation fonctionnelle y afférent, comprendra deux étapes :

\* Dans un premier temps, déménagement « physique » vers le 5ème étage de l'Hôpital Erasme (aile Est), dans des locaux situés à proximité de ceux occupés par le Centre de Génétique.

Durant une **période transitoire**, le secteur de Cytogénétique sera encore intégré dans l'organigramme du service d'Anatomie Pathologique. Il dépendra du système qualité (scope) du service d'Anatomie Pathologique en attendant le basculement du système informatique DIAMIC vers le système GLIMS9 utilisé par le Centre de Génétique.

\* Dans un second temps, le laboratoire de cytogénétique intégrera complètement le système qualité (scope etc) du Centre de Génétique de l'ULB.

Le Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique est un des services de l'Institut Jules Bordet.

Il est composé des secteurs de Macroscopie, d'Histologie, de Cytologie, de Cytogénétique, d'Immunohistochimie, de Biologie Moléculaire, de la Tumorotheque, de Recherche et Développement, du Séquençage et des Etudes cliniques ainsi que d'une équipe de médecins et d'une cellule Qualité.

Le Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique centralise plusieurs types de prélèvements provenant de différents centres, à savoir :

- (a) les biopsies et pièces opératoires,
- (b) les prélèvements gynécologiques et non gynécologiques destinés à la Cytologie,
- (c) les prélèvements hématologiques et les biopsies pour examens cytogénétiques.

Le Laboratoire dispose de diverses techniques d'examens anatomo-pathologiques:

- (a) les examens macroscopiques et microscopiques,
- (b) les colorations immunohistochimiques, l'histochimie,
- (c) la Biologie moléculaire,
- (d) la Cytogénétique conventionnelle et moléculaire,
- (e) la Cytologie,
- (f) la R&D,
- (g) le Séquençage,
- (h) la Tumorotheque,
- (i) les Etudes cliniques.



Les tests accrédités effectués dans le Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique se trouvent dans le document « Scope du service d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique ». Ce scope est disponible via le lien suivant : [https://ng3.economie.fgov.be/NI/belac/medilabs/scope\\_pdf/372-MED.pdf](https://ng3.economie.fgov.be/NI/belac/medilabs/scope_pdf/372-MED.pdf)

### **4.3. Informations administratives :**

Nom : Institut Jules Bordet  
Service d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique

**A PARTIR DE LA DATE DU 26/11/2021, la nouvelle adresse du Secteur de Cytogénétique est la suivante :**

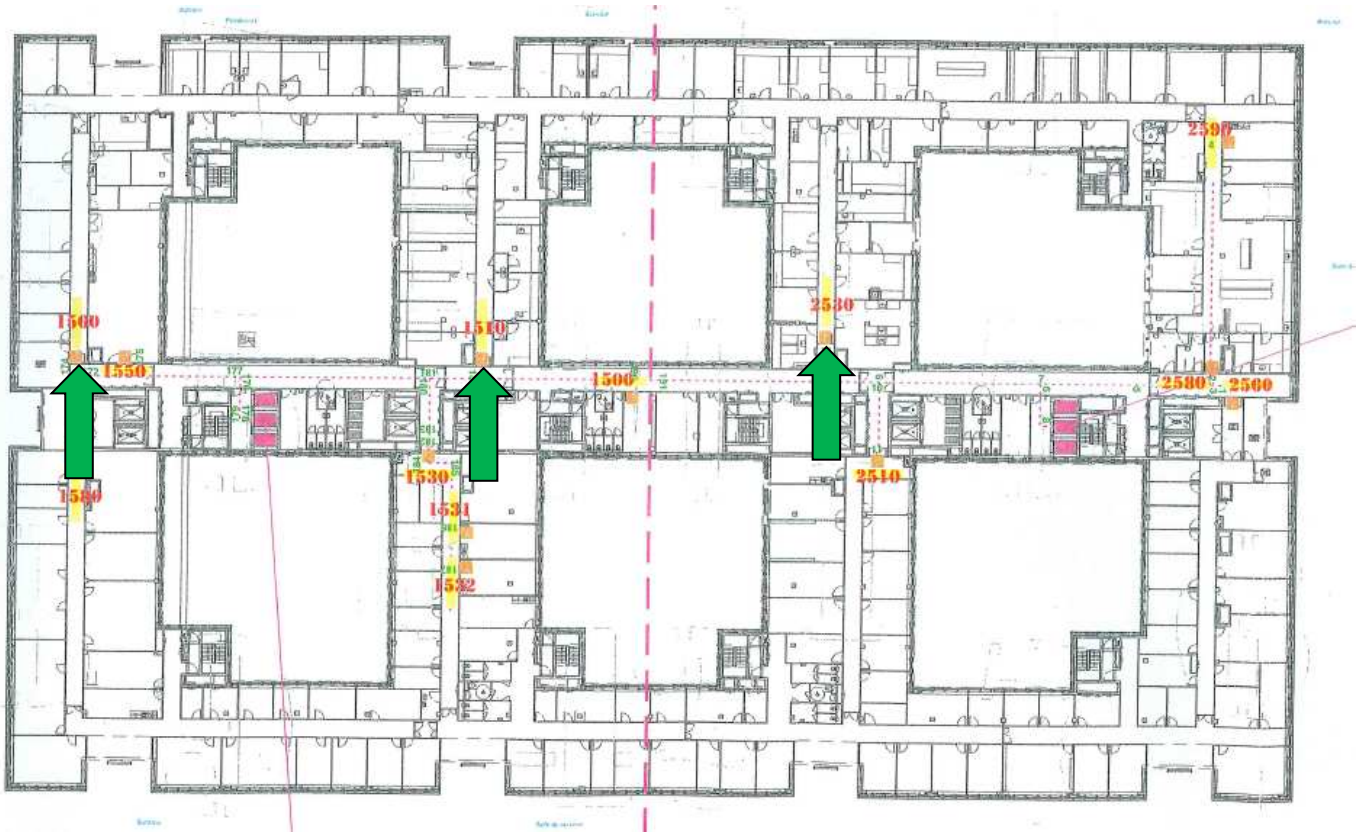
Laboratoire de Cytogénétique :  
Hôpital Universitaire Erasme  
Route de Lennik, 808  
5ème étage – Aile est – Route 502  
1070 Bruxelles

**A PARTIR DE LA DATE DU 06/12/2021, la nouvelle adresse du Service d'Anatomie Pathologique, Cytologie est la suivante :**

Service d'Anatomie Pathologique et Cytologie :  
Rue Meylemeersch, 90  
5ème étage – Route 2530  
1070 Bruxelles

Entrées : Le Service d'Anatomie Pathologique et Cytologie a trois entrées localisées :

- Route 2530 : Réception prélèvements
- Route 1510
- Route 1560 : Entrée visiteurs



**Heures d'ouverture : de 08 H 00 à 17H00, du lundi au vendredi.**

**Fermé les week-ends et les jours fériés.**



**Informations sur le Directeur du Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique :**

Nom : Pr Denis Larsimont  
Tél. : + 32 2 541 31 15  
Fax : + 32 2 541 32 81  
E-mail : denis.larsimont@bordet.be

**Numéros de téléphone utiles:**

Secteur	Nom du (des) responsable(s)	Téléphone
Biologie Moléculaire	Dr M.Chintinne	+ 32 2 541 30 04/ 31 14
Cytologie	Dr R.de Wind	+ 32 2 541 37 18/ 37 14/30 34
Cytogénétique	Dr P.Heimann	+ 32 2 541 31 44 / 73 17 3117/ 3116/ 7268
ImmunoHisto chimie	Dr N.de Saint Aubain	+ 32 2 541 33 95
Histologie	Dr N.Sirtaine	+ 32 2 541 31 02
Macroscopie	Dr M.Gomez Galdon	+ 32 2 541 33 13
R&D	Dr P.Demetter / Dr D. Larsimont	+ 32 2 541 36 98 + 32 2 541 31 15
Séquençage	Dr M.Chintinne	+ 32 2 541 30 04/ 31 14
Tumorothèque	Mme L.Craciun	+ 32 2 541 72 16

Secteur	Nom du (des) responsable(s)	Téléphone
Cellule Qualité	Mme I. Laïos	+32 2 541 73 10
Secrétariat de direction	Mme J. Vanderheyde	+32 2 541 31 05
Secrétariat	Mme M.Vion	Tél : + 32 2 541 73 23 Fax : + 32 2 541 32 81



## 5. Procédure :

### 5.1. Formulaire de demande

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

- un formulaire général : Formulaire de demande d'analyse de l'Institut Jules Bordet,
- plusieurs formulaires spécifiques :
  - Demande de Biologie Moléculaire, de Séquençage et d'ImmunoHistochimie,
  - 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,
  - Demande d'examen anatomopathologique ou cytologique : oeso-gastro-duodénoscopie (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 de tests dans le cadre de projet secteur R&D,
  - Demande d'examen post-mortem.

Ces différents formulaires de demandes sont disponibles sur demande au Laboratoire ou sur le site internet : <https://www.bordet.be/fr/anatomie-pathologique>

#### 5.1.1. Informations à retrouver sur le formulaire de demande :

Le formulaire de demande doit contenir au minimum :

- les informations permettant une identification univoque du patient et du médecin prescripteur,
- les informations cliniques utiles à l'analyse et à l'interprétation des résultats,
- La nature du prélèvement.

Toute demande, pour être acceptée par le personnel du Laboratoire, doit être soigneusement identifiée avec au minimum les informations suivantes :

**Pour le patient :** le nom et le prénom, le sexe, la date de naissance, les données « mutuelle ».

**Pour le prélèvement :** la nature, la localisation anatomique, les date et heure de prélèvement et les renseignements cliniques. Le(s) prélèvement(s) doit(vent) être identifiés et numérotés.

Les informations indiquées sur le(s) prélèvement(s) et la demande doivent être en concordance parfaite pour que la demande puisse être définie comme conforme.



**Pour le prescripteur :** le nom et le prénom, le numéro d'INAMI, la date de la prescription, la signature du prescripteur, le site d'origine du prélèvement (hôpital,...), le(s) 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.**

**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 Laboratoire 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.**

**Cette décharge sera associée à la demande et rappelée lors de la réponse, si nécessaire.**

#### 5.1.2. 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 plasmocytes 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 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).



### 5.1.3. 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.

### 5.1.4. 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 Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique 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 » : jamais les envoyer par télétube.

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

**Aucun échantillon ne peut être déposé au sein du Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique sans que le personnel n'ait été averti.**

### Spécificités externes à l'Institut Jules Bordet

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

Ces échantillons sont ensuite pris en charge par une navette ou courrier et amenés directement au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique de l'Institut Jules Bordet.

## **5.2. Conditions générales pour la fixation des prélèvements :**

Le Laboratoire analyse différents types de prélèvements : extemporanées, biopsies, pièces opératoires, frottis,...

Tous les échantillons destinés au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique 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 à base de formol tamponné 4%**. Aucun autre type de fixateur ne sera accepté et cela afin d'assurer la qualité des analyses spécifiques.





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 48h (et jusqu'à 72h pour HER2 Neu sein).

**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 congé officiel.



## 6. Techniques :

---

### 6.1. Macroscopie :

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

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

Les grosses pièces 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 parlophone,
- de Saint-Pierre\* et Ixelles : un pathologiste se rend sur place pour effectuer les extemporanés selon un planning

\* Pour les extemporanés de l'Hôpital Saint-Pierre : en attendant la mise en service du local extempo au Quartier Opérateur Saint-pierre, les extemporanés sont traités et analysés dans le local « Macroscopie » situé dans les anciens locaux du Service d'Anatomie Pathologique (Old Bordet).

#### 6.1.1. Pièce extemporanée :

- Chaque examen extemporané, de la salle d'opération de Bordet, doit être signalé (ex : par téléphone) avant au Laboratoire et être transporté à l'état frais (pas de sérum physiologique, ni de fixateur) au laboratoire le plus rapidement possible.
- Le prélèvement est alors examiné, découpé, congelé dans l'OCT puis coupé au cryostat, coloré à l'Hématoxyline-éosine ou le bleu de Toluidine, lu par un pathologiste.
- Les résultats sont ensuite communiqués rapidement par le parlophone ou par téléphone à la salle d'opération.
- Un autre prélèvement est ensuite mis en fixation et suit les autres étapes histologiques.

#### 6.1.2. Autopsie :

Il existe un formulaire spécifique d'autopsie : « Demande d'examen post-mortem » disponible sur l'Internet Bordet.

Les autopsies sont effectuées dans la matinée sauf si extrême urgence.

Lorsque la morgue va rechercher le corps dans le service, le médecin donne en même temps la demande d'examen post-mortem, sinon celle-ci est faxée au Laboratoire.

L'autopsie n'est pas pratiquée s'il y a eu refus du patient ou de sa famille.

- 1- Examen macroscopique est effectué en salle d'autopsie,
- 2- Un examen microscopique est effectué.

*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.*



## 6.2. Histologie :

Après fixation, les prélèvements mis en cassette sont paraffinés et découpés au microtome et les lames sont colorées en fonction des techniques/analyses demandées par le prescripteur.

## 6.3. Immunohistochimie :

Il existe un formulaire spécifique à l'Immunohistochimie (voir 5.1 : formulaire de demande) : « Demande de Biologie Moléculaire, de Séquençage et d'Immunohistochimie » disponible sur l'Internet Bordet.

Les analyses d'immunohistochimie s'effectuent sur :

- Blocs paraffine (le prélèvement dans du formol tamponné 4 %)
- Lames avec coupe histologique :
  - o IHC/ISH : 4 µm +/- 1µm
  - o IF : 5 µm

Le Laboratoire dispose de plus ou moins 170 anticorps différents, chaque année, de nouveaux anticorps sont validés pour répondre aux demandes des médecins.

Certains de nos anticorps sont accrédités selon la norme ISO15189 – Certificat Belac 372-MED :

anti-récepteur oestrogène  
anti-récepteur progestérone  
anti HER2/Neu  
anti c-kit  
EBV-ISH

## 6.4. Biologie Moléculaire :

Il existe un formulaire spécifique à la Biologie Moléculaire (voir 5.1 : formulaire de demande) : « Demande de Biologie Moléculaire, de Séquençage et d'Immunohistochimie » disponible sur le site internet Bordet.

Le délai de fixation varie de 6 à 72h, pour l'analyse ISH HER-2 Neu sein.

Le délai de fixation varie de 6 à 48h, pour l'analyse ISH HER-2 gastrique.

Cette information doit être indiquée sur le formulaire de demande dans la case prévue à cet effet.

Plusieurs de nos analyses FISH/ISH paraffinées (voir ci-dessous) ainsi que les PCR B, T et PCR digitale pour la recherche de mutations EGFR sont accréditées selon la norme ISO15189 – Certificat Belac 372-MED.

### 6.4.1. FISH/ISH Paraffinée :

Celle-ci doit être envoyé au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique accompagnée du bloc à analyser ou éventuellement de 3 lames blanches pour les tumeurs mammaires et de 5 lames blanches pour les tumeurs gastriques contenant une ou plusieurs coupes de  $3\pm 1\mu\text{m}$ , pour autant que la date de coupe soit indiquée.

Dans le cadre de la recherche de l'amplification de l'oncogène HER-2/neu, pour les tumeurs mammaires il faut obligatoirement envoyer la lame IHC-neu correspondante.



Pour les tumeurs gastriques une lame IHC-neu et une lame hématoxyline et éosine seront réalisées d'office par nos soins.

Les analyses ne seront pas effectuées si les coupes envoyées sont faites depuis plus de 6 semaines pour les analyses FISH et depuis plus de 2 semaines pour les analyses ISH.

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

Analyses	Délai de réponse	Analyses	Délai de réponse
FISH ALK	10 jours ouvrables	FISH MALT1	10 jours ouvrables
FISH BCL 6	10 jours ouvrables	FISH MDM2	10 jours ouvrables
FISH CHOP	10 jours ouvrables	FISH MAML2	10 jours ouvrables
FISH C-MET	10 jours ouvrables	FISH MELANOME	10 jours ouvrables
FISH CMYC	10 jours ouvrables	FISH NMYC	10 jours ouvrables
FISH COL1A1	10 jours ouvrables	FISH P16	10 jours ouvrables
FISH DEL 13	10 jours ouvrables	FISH ROS1	10 jours ouvrables
FISH EWSR1	10 jours ouvrables	FISH SYT	10 jours ouvrables
FISH FGFR1	10 jours ouvrables	FISH IGH BCL-1	10 jours ouvrables
FISH FKHR	10 jours ouvrables	FISH IGH BCL-2	10 jours ouvrables
FISH FUS	10 jours ouvrables		
DUAL ISH HER2 NEU HER2 IHC : □1+ □2+ □3+	10 jours ouvrables		

#### 6.4.2. PCR :

La demande doit être envoyée au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique accompagnée de préférence du bloc ou de lames blanches (après avoir soigneusement nettoyé le couteau du microtome afin d'éviter toute contamination lors de la coupe).

A noter, la recherche de mutations EGFR par PCR digitale sera réalisée dans le cas où la quantité d'ADN disponible est insuffisante pour une analyse NGS - Cancer Panel 50 gènes.

Analyses	Matériel nécessaire
PCR de réarrangements IGH, IGK ou TCR $\gamma$	Bloc <u>ou</u> tube eppendorf comprenant : - 3 à 5 coupes de 10 $\mu$ m selon la taille du prélèvement  - 10 coupes de 10 $\mu$ m pour les biopsies et prélèvements cutanés
PCR digitale pour la recherche de mutations EGFR	Bloc ou 5 lames blanches 7 $\mu$ m (minimum 3 lames) + 1 lame HE 4 $\mu$ m

Analyses	Délai de réponse
Réarrangement IGH	10 jours ouvrables
Réarrangement IGK	10 jours ouvrables
Réarrangement TCR $\gamma$	10 jours ouvrables
PCR digitale mutations EGFR	10 jours ouvrables

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



## 6.5. Séquençage :

La demande doit être envoyée au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique accompagnée de préférence du bloc ou de lames blanches (après avoir soigneusement nettoyé le couteau du microtome afin d'éviter toute contamination lors de la coupe).

Les analyses de séquençage par NGS décrites ci-après sont accréditées selon la norme ISO15189. L'analyse Oncotype DX for Breast Recurrence Score est réalisée par la firme propriétaire de la technologie : Genomic Health (USA).

Analyses	Matériel nécessaire	Certificat Belac
NGS AmpliSeq Hotspot Cancer Panel v2	Bloc ou 5 lames blanches <b>7µm</b> (minimum 3 lames) + 1 lame HE 4 µm	372-MED
NGS MammaPrintBluePrint	Bloc ou 10 lames blanches <b>5 µm</b> + 1 lame HE 4 µm	215-MED*
NGS Panel Fusion	Bloc ou 5 lames blanches <b>7µm</b> (minimum 3 lames) + 1 lame HE 4 µm	372-MED
NGS SeqCap Panel	Bloc ou 5 lames blanches <b>7µm</b> (minimum 3 lames) + 1 lame HE 4 µm	141-MED**

\* L'analyse NGS MammaPrintBluePrint est réalisée en collaboration avec l'UZ Leuven (215-MED) ou Agendia.

\*\* L'analyse NGS SeqCap Panel est réalisée en collaboration avec le BRIGHTcore (UZ Brussel – 141-MED) dans le cadre de la convention de partenariat du Réseau d'expertise NGS ULB-VUB.

Analyses	Matériel nécessaire	firme
Oncotype DX for Breast Recurrence Score#	Bloc ou 15 lames blanches <b>5 µm</b> + 1 lame HE 4 µm	Genomic Health (USA) #

# Les analyses Oncotype DX qui concernent d'autres applications et/ou d'autres organes peuvent être demandées mais ne font pas l'objet d'un remboursement par l'INAMI.

### Précautions à prendre lors des coupes de lames afin d'éviter les contaminations :

- Porter des gants
- Nettoyer le microtome et le matériel nécessaire, entre chaque bloc, avec une solution RNase DNase free ou avec du xylène puis de l'alcool
- Changer de couteau entre chaque bloc



Pour la recherche de mutations par séquençage, un pathologiste identifiera la zone d'intérêt à analyser et le pourcentage de cellules tumorales.

Analyses	Délai de réponse
Cancer 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 et VHL.	15 jours ouvrables
NGS SeqCap Panel	15 jours ouvrables
NGS MammaPrintBlueprint	15 jours ouvrables
Oncotype DX for Breast Recurrence Score	15 jours ouvrables
NGS Panel Fusion	15 jours ouvrables

**Remarque:** Le pourcentage de cellules tumorales doit être :

- $\geq 30\%$  pour réaliser l'analyse MammaPrintBlueprint et Oncotype DX Breast Recurrence Score.
- $\geq 10\%$  pour réaliser les analyses AmpliSeq Hotspot Cancer Panel v2 (50 gènes), NGS Panel Fusion et NGS SecCap Panel.

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

## 6.6. 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.

### 6.6.1. 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)
- le fax (02/555.42.12, en mentionnant "pour la CYTOGENETIQUE ONCO")
- la voie électronique aux trois adresses e-mail suivantes :
  - anne.deboeck@bordet.be
  - cytogenetique@bordet.be
  - pierre.sidon@bordet.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)

### 6.6.2. 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 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).

### 6.6.3. 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@bordet.be](mailto:pierre.sidon@bordet.be) ou [pheimann@erasme.ulb.ac.be](mailto:pheimann@erasme.ulb.ac.be)

## 6.7. Cytologie :

### Pour rappel :

- les prélèvements de cytologie « liquide » ne sont jamais envoyés par télétube.
- les prélèvements de cytologie ne sont jamais placés dans une solution de fixation à base de formol tamponné 4%

Les prélèvements de cytologie non fixés doivent être envoyés au Laboratoire dans les plus brefs délais. En attendant l'envoi, les prélèvements peuvent être conservés au frais (entre 4 et 8° C).

Pour le liquide céphalo-rachidien (LCR), si le prélèvement ne peut être déposé au laboratoire endéans les 30 minutes, le mettre à température frigo (entre 4 et 8° C).

*Veillez vérifier chaque fois que les pots contenant les prélèvements sont bien fermés.*

Les flacons SUREPATH sont fournis par le Laboratoire aux médecins demandeurs des Hopitaux Bordet et Saint-Pierre. Le Laboratoire fournit également le service des achats des hopitaux HIS, ce service distribue ensuite vers les médecins demandeurs.

Les pots de CytoRich et Carbowax sont fournis par le Laboratoire à tout demandeur.

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

### 6.7.1. Prélèvements gynécologiques :

- Les prélèvements par Cyto-brosse :

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.



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





### 6.7.2. Prélèvements non-gynécologiques :

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.
- 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.*

### 6.7.3. 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.

## **6.8. Tumorothèque :**

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.



## 6.9. Transport des échantillons :

### 1. 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.
- Pour les prélèvements *non fixés* :
  - Le délai d'acheminement ne doit pas dépasser 1H.
  - Les prélèvements sont transportés à température ambiante (15 à 25° 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.

### 2. Pour la Cytologie :

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

### 3. 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.



## 6.10. Dépôt des échantillons :

### IMPORTANT :

Le Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique **ne réceptionne aucun échantillon après 16H30**, à l'exception des examens extemporanés urgents (dans ce cas, prévenir, par téléphone, le laboratoire de l'arrivée d'un échantillon au n° suivant : 02 541 31 22

### Après 16H30:

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

#### - **POUR LES SERVICES INTERNES A L'INSTITUT JULES BORDET :**

- Prélèvement **Fixé** est conservé au sein même du service à température ambiante (15 à 25° C) jusqu'à l'envoi au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique.

#### - **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 (cfr protocole de collaboration) jusqu'à l'envoi au Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique via des transporteurs (EMD).

##### \* ***PRELEVEMENTS FIXES AUTRES HOPITAUX :***

- 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 Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Cytologie et Cytogénétique.



## 7. Traçabilité des informations orales/ téléphoniques/électroniques :

Les informations cliniques et/ou paracliniques ayant permis d'orienter les conditions de mise en culture et/ou l'analyse à réaliser sont enregistrées et reprises sur le compte rendu, ainsi que les contacts avec le prescripteur sollicitant éventuellement un délai de réponse plus court.

Les informations transmises concernant la prise en charge d'un échantillon non-conforme (avec impact majeur sur la qualité du résultat) sont enregistrées dans le logiciel patient du Laboratoire, certaines non-conformités (liées au prélèvement) peuvent apparaître sur protocole.

Tous les appels téléphoniques entrant au secrétariat, concernant les informations médicales relatives aux patients, seront enregistrés par les secrétaires.

## 8. Transmission des résultats :

Les résultats **validés** peuvent être transmis par les pathologistes, les médecins, les Post Gradués (sous supervision d'un pathologiste), les responsables techniques, les technologues et les secrétaires vers le(s) médecin(s) en charge du patient.

Aucun résultat n'est transmis à un membre de la famille, même si cette personne fait partie du corps médical.

Dans le cas d'un résultat urgent non validé **en Cytogénétique**, le résultat peut être transmis par le responsable technique. Cette transmission se fait sous la responsabilité tacite du responsable médical.

Différents modes de transmission sont possibles : téléphone, fax, courrier, mail sécurisé.

### 1. Par téléphone:

Les demandes téléphoniques arrivent au secrétariat, une secrétaire est dédiée à cette tâche. La personne donnant le résultat validé s'assure de l'identité de la personne au téléphone.

### 2. Par fax :

Les demandes de fax arrivent au secrétariat, une secrétaire est dédiée à cette tâche.

### 3. Par courrier :

Les protocoles sont envoyés par papier sous enveloppe fermée pour les médecins extérieurs ne travaillant pas à Bordet.

Les demandes de courrier arrivent au secrétariat, une secrétaire est dédiée à cette tâche.

### 4. Par Dossier médical informatisé :

Concernant les demandes faites par des médecins travaillant à Bordet, la transmission des résultats est faite par Oribase.

Pour Saint-Pierre, Hôpital Iris Sud et Brugmann, elle est faite à leur propre dossier informatisé via un répertoire partagé.

### 5. Par Médibridge :

Pour les patients Bordet ou associé (patients extérieurs non St Pierre, Hôpital Iris Sud, Brugmann), le dossier peut être envoyé par Médimail pour les médecins inscrits à ce programme.