



CABINET D'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES SAINT-LOUIS

MANUEL DE PRÉLÈVEMENTS



Site de Caen

14 rue Gaston-Lavalley

BP 65

14007 CAEN Cedex

Tél : 02 31 82 61 06

Fax : 02 31 83 23 85

Site : <https://www.cabinetsaintlouis.fr>

Horaires d'ouverture

Du lundi au vendredi

de 09h00 à 12h30

et de 13h45 à 17h30

Accueil téléphonique continu de 09h00 à 17h30

Site de Lisieux

175 rue Roger-Aini

14100 LISIEUX

Tél : 02 31 48 63 33

Horaires d'ouverture et accueil téléphonique

Du lundi au vendredi

de 09h30 à 13h00



MANUEL DE PRÉLÈVEMENTS (annexe)

CACP SAINT LOUIS

Révision 00

Réf. : R_TR_RE01_Annexe

Le Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Saint-Louis est entré en janvier 2017 dans un processus de démarche qualité dans un but d'accréditation par le COFRAC.

Ce document décrit les bonnes pratiques de prise en charge et de transmission des prélèvements cytologiques et histologiques au Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Saint-Louis conformément aux exigences de la norme qualité ISO 15189 (AFNOR) et des recommandations SH REF 02 (COFRAC).

Il est à l'usage de tous nos correspondants dans un but d'amélioration continue de la qualité des échantillons et des diagnostics en résultant.



SOMMAIRE

1. MODALITÉS ADMINISTRATIVES ET PRATIQUES

- 1.1. RÉDACTION DE LA DEMANDE D'EXAMEN**
- 1.2. IDENTIFICATION DES PRÉLÈVEMENTS**
- 1.3. CONDITIONNEMENT POUR LE TRANSPORT**
- 1.4. ACHEMINEMENT DES PRÉLÈVEMENTS**
- 1.5. NON CONFORMITÉS**
- 1.6. DÉLAIS D'OBTENTION DES RÉSULTATS**
- 1.7. LE COMPTE-RENDU**
- 1.8. TRANSMISSION DES RÉSULTATS**
- 1.9. PROTECTION DES DONNÉES PERSONNELLES**
- 1.10. FACTURATION DES EXAMENS**
- 1.11. PRESTATIONS DE CONSEIL**
- 1.12. RÉCLAMATIONS**
- 1.13. COMMANDE DE MATÉRIEL**

2. RÉPERTOIRE DES ANALYSES

2.1. LA CYTOLOGIE

2.1.1. CYTOLOGIE GYNÉCOLOGIQUE ET TEST/TYPAGE HPV

**2.1.1.1. TECHNIQUE DE PRÉLÈVEMENT POUR UN FROTTIS
MONOCOUCHE BD**

**2.1.1.2. TECHNIQUE DE PRÉLÈVEMENT POUR UN FROTTIS
CONVENTIONNEL**

2.1.1.3. TEST/TYPAGE HPV

2.1.2. CYTOLOGIE SPÉCIALE

2.1.2.1. CYTOLOGIE URINAIRE

2.1.2.2. CYTOLOGIE THYROÏDIENNE

2.1.2.3. CYTOLOGIE MAMMAIRE

2.1.2.4. CYTOLOGIE DES ÉPANCHEMENTS

2.1.2.5. CYTOLOGIE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN



2.1.2.6. CYTOLOGIE DU LIQUIDE ARTICULAIRE

2.1.2.7. CYTOLOGIE BRONCHIQUE

2.1.2.8. CYTOLOGIE D'ORGANES PROFONDS

2.2. L'HISTOLOGIE

2.2.1. EXAMENS EXTEMPORANÉS

2.2.2. EXAMENS FIXÉS

2.2.2.1. BIOPSIES

2.2.2.2. PIÈCES OPÉRATOIRES

2.3. TECHNIQUES SPÉCIALES

2.3.1. COLORATIONS SPÉCIALES

2.3.2. IMMUNOHISTOCHIMIE

2.3.3. IMMUNOFLUORESCENCE

2.4. TECHNIQUES SOUS TRAITÉES

2.5. TUMOROTHÈQUE



1. MODALITÉS ADMINISTRATIVES ET PRATIQUES

Ce chapitre détaille les aspects administratifs et logistiques du fonctionnement du Cabinet Saint-Louis afin de permettre une collaboration efficace avec nos confrères prescripteurs et une prise en charge optimale des patients.

1.1. RÉDACTION DE LA DEMANDE D'EXAMEN

Conformément aux exigences de la norme qualité ISO 15189 et du Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Saint-Louis, la demande d'examen doit être remplie **lisiblement** et contenir les informations suivantes :

1. DONNÉES CONCERNANT LE PATIENT :

- identification du patient : nom d'usage, nom de naissance, prénom, sexe, date de naissance, adresse, **numéro de sécurité sociale**,
- régime particulier de prise en charge (ALD, CMU...),
- adresse de facturation (hôpital, clinique ou patient).

2. DONNÉES CONCERNANT LE PRÉLEVEUR :

- identification du prescripteur réalisant le prélèvement (médecin sénior en cas de prélèvement réalisé par un Interne ou étudiant) : nom, adresse de l'établissement ou du cabinet,
- identification des autres correspondants : nom, adresse de l'établissement ou du cabinet,

3. DONNÉES CONCERNANT LE PRÉLÈVEMENT :

- date et heure de réalisation du prélèvement (afin de contrôler le délai d'acheminement des échantillons),
- heure de mise en fixateur (formol)(devant être connue avec précision afin d'évaluer le temps d'ischémie froide et le délai de fixation et de maîtriser la qualité biologique du prélèvement, notamment des acides nucléiques en cas de nécessité ultérieure d'examens de biologie moléculaire),
- le type de prélèvement : cytologie ou histologie, biopsie ou exérèse,
- le siège du prélèvement : organe prélevé, latéralité,
- le nombre de flacons adressés,
- les renseignements cliniques et biologiques,



MANUEL DE PRÉLÈVEMENTS (annexe)

- la présence de traitements en cours ou antérieurs susceptibles de modifier l'aspect cyto-histologique des cellules et des tissus (notamment radiothérapie, chimiothérapie, chirurgie ou médicaments particuliers),
- les hypothèses diagnostiques.

Afin d'optimiser le renseignement de ces données, il est recommandé d'utiliser les versions en cours de validité des modèles de demande d'examen (histologie et cytologie) fournis par le Cabinet Saint-Louis.



1.2. IDENTIFICATION DES PRÉLÈVEMENTS

Le médecin préleveur identifie chaque prélèvement : tout contenant (petit flacon, grand pot, seau) doit comporter l'étiquette du patient ou, à défaut, une identification manuscrite. **Cette identification doit se situer sur le pot et non sur le couvercle ou le bouchon.**

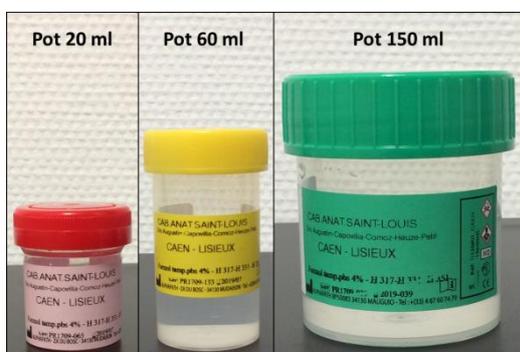
Dans le cas d'un examen cytologique par étalement, les lames doivent être identifiées avec les mêmes exigences. L'identification doit se situer sur les lames et non sur la boîte.

Lorsque l'examen est urgent, le préleveur note visiblement « URGENT » sur le sachet et sur la demande dans un but d'identification immédiate et de traitement dans la filière adéquate.

1.3. CONDITIONNEMENT POUR LE TRANSPORT

Les prélèvements doivent être considérés comme contagieux jusqu'à ce qu'ils soient fixés, nécessitant de respecter les recommandations universelles pour la manipulation des échantillons de patients. Les règles de sécurité quant à la manipulation du formol doivent être appliquées sous la responsabilité de la direction de l'établissement de santé vis-à-vis de ses personnels (port de gants et masque de protection sans nécessité de hotte dans les conditions d'utilisation au bloc opératoire, avec ouverture et fermeture immédiate du flacon).

La taille du pot de prélèvement doit être adaptée à la taille de l'échantillon (cf chapitre 2.2.2) ; des pots de 20 ml, 60 ml, 150 ml, 400 ml, 1 litre et des seaux de 2,5 litres pour grosses pièces opératoires sont mis à disposition par le cabinet.



Le préleveur veille à bien fermer les pots de prélèvement (sans forcer le pas de vis le cas échéant) et à contrôler leur étanchéité afin d'éviter toute fuite de liquide pendant le transport.

Ces pots sont disposés dans un sachet plastifié (vert pour les prélèvements cytologiques, jaune pour les prélèvements histologiques) avec la demande d'examen correspondante (pliée en prenant soin de masquer l'identité du patient dans un but de confidentialité).



Sachet pour cytologie



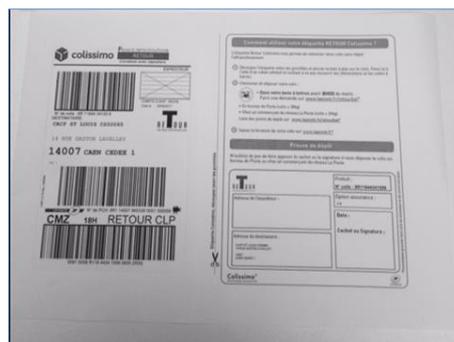
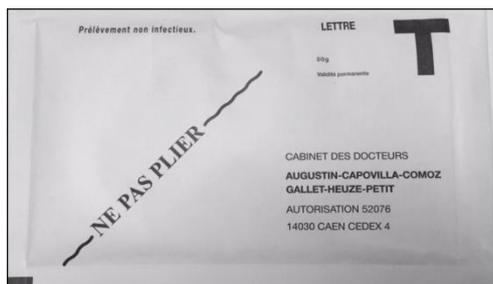
Sachet pour histologie



1.4. ACHEMINEMENT DES PRÉLÈVEMENTS

Les prélèvements peuvent être acheminés au cabinet par :

- nos coursiers, transporteur ou ambulance,
- voie postale (enveloppes T pour les frottis cervico-vaginaux ou collissimo pour les biopsies),
- par les patients eux-mêmes.



A réception des prélèvements, le cabinet contrôle la conformité de la demande et des échantillons avant d'enregistrer et de prendre en charge les examens.



1.5. NON CONFORMITÉS

Par l'intermédiaire du présent manuel de prélèvements, le Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Saint-Louis vous informe des examens pratiqués et des conditions nécessaires pour préserver les prélèvements de façon optimale.

S'il est constaté un dysfonctionnement sur l'un des critères décrit dans ce manuel, le prélèvement pourra faire l'objet d'une non-conformité. Ces non-conformités font l'objet d'actions correctrices immédiates (le plus souvent par appel téléphonique) afin de permettre la prise en charge du prélèvement et d'actions correctives différées après recensement et analyse dans un but d'amélioration continue par la qualité. Un bilan de ces non-conformités pourra être discuté avec nos correspondants le cas échéant.

En cas de prélèvement non conforme impossible à rendre conforme malgré l'application des actions correctrices adéquates, le Cabinet se réserve la possibilité de refuser ce prélèvement qui ne fera l'objet d'aucun enregistrement. Un courrier de refus de prestation sera alors adressé au médecin responsable et/ou au chef de bloc dans le cas de patients hospitalisés.



1.6. DÉLAIS D'OBTENTION DES RÉSULTATS

Les analyses de cyto et d'histopathologie nécessitent un délai de technique et d'analyse incompressible après réception du prélèvement.

Les délais d'obtention du diagnostic définitif sont variables selon la nature et le type de prélèvement, de la nécessité de techniques complémentaires (colorations spéciales, immunohistochimie) et d'éventuelles difficultés diagnostiques. Ils sont donnés à titre indicatif **à compter de la réception du prélèvement au cabinet et doivent tenir compte d'éventuels jours non ouvrés** :

- Frottis cervico-vaginaux : en moyenne 1 à 2 semaines (ce délai pouvant s'allonger de quelques jours en cas de demande de test HPV complémentaire),
- Cytologies spéciales (non gynécologiques) : 2 à 4 jours,
- Biopsies urgentes : 24 à 72h,
- Biopsies « standard » non urgentes : 48 à 72h,
- Biopsies cutanées avec examen en immunofluorescence : 10 jours,
- Pièces opératoires de petite taille (ex : appendice, vésicule, exérèse cutanée...) et de taille moyenne (ex : lobectomie thyroïdienne, annexectomie pour kyste simple) : 7 à 10 jours,
- Grosses pièces opératoires et pièces complexes (ex : colons tumoraux, reins tumoraux, pancréatectomies, utérus tumoraux, vessie et prostatites tumorales) : 7 à 15 jours.

1.7. LE COMPTE-RENDU

Le modèle de compte-rendu est construit selon les exigences de la norme qualité ISO 15189.

Les diagnostics et bilans carcinologiques sont établis selon les classifications OMS et TNM/UICC des tumeurs et comportent les items minimum recommandés par l'INCa et les sociétés savantes afin de permettre une prise en charge optimale des patients après discussion des dossiers en réunion de concertation pluridisciplinaire. Ces recommandations font l'objet de mises à jour continues à l'aide de veilles bibliographiques.

Les médecins du cabinet participent aux réseaux nationaux anatomopathologiques (sarcomes, mésothéliomes, tumeurs neuroendocrines, lymphomes) et cliniques (tumeurs gestationnelles trophoblastiques, tumeurs ovariennes rares...) labellisés par l'INCa. Les dossiers concernant ces pathologies pourront être transmis à ces réseaux pour expertise le cas échéant.

En cas de difficulté diagnostique, les dossiers peuvent faire l'objet d'une demande d'avis spécialisé auprès de confrères pathologistes reconnus experts nationaux dans leur domaine.



1.8. TRANSMISSION DES RÉSULTATS

Les résultats (compte-rendus) sont adressés par courrier, messagerie sécurisée Apicrypt ou fax.

En cas de nécessité, les diagnostics urgents ou provisoires peuvent être discutés oralement avec le prescripteur par communication téléphonique dans le cadre de la prestation de conseil par les médecins du Cabinet.

1.9. PROTECTION DES DONNÉES PERSONNELLES

Les données personnelles sont soumises aux règles déontologiques et ordinaires concernant le secret médical ; le système de gestion informatique du cabinet est déclaré à la CNIL.

Les informations cliniques pertinentes peuvent être communiquées aux correspondants médicaux effectuant une sous-traitance ou aux tutelles dans le cadre de dépistages organisés.

Il appartient au prescripteur d'assurer la confidentialité des documents transmis par le cabinet en dehors des messageries sécurisées et du courrier papier (par exemple fax).

1.10. FACTURATION DES EXAMENS

Les examens sont facturés conformément à la version actualisée de la CCAM. Les médecins du Cabinet étant conventionnés secteur 1 (avec adhésion à l'OPTAM) ou 2, **certaines examens nécessitant des techniques spéciales ou complémentaires et/ou une expertise particulière pourront faire l'objet de dépassements d'honoraires** de 5 à 20 Euros appliqués avec tact et mesure (hors contexte d'ALD ou de dispense d'avance de frais médicaux type CMU ou ACS sous réserve de la présentation d'une attestation en cours de validité).

Il appartient au médecin prescripteur d'informer et de recueillir le consentement des patients quant à la prescription des examens d'histopathologie ou de cytopathologie et de leur facturation ultérieure sous la forme d'une note d'honoraire. Quelques exemples de tarifs sont présentés ci-dessous à titre indicatif (version 2 de la CCAM ACP en cours depuis juin 2014).



Examen	Tarif CCAM \pm 5 à 20€ de dépassement d'honoraire
Frottis de dépistage	15,40€ (+ 5€ de dépassement d'honoraire)
Frottis de contrôle	19€
Cytologie de liquide	28€ (\pm 36,62€ si inclusion du culot)
Cytologie d'organe	33,60€ (\pm 36,62€ si inclusion du culot)
Biopsie simple (peau non inflammatoire, sein...)	28€
Biopsies étagées	36,40€
Biopsie cutanée inflammatoire	40€
Biopsies multiples/cartographies (prostate, colon)	84,69€
Exérèse simple	34,52€
Exérèse de tumeur cutanée (naevus, carcinome...)	47,55€
Exérèse cutanée > à 5 cm ²	64,57€
Exérèses multiples	85,50€
Technique d'immunohistochimie	48€ à 290€ selon le nombre et le type d'anticorps
Technique d'immunofluorescence	84€

1.11. PRESTATIONS DE CONSEIL

L'interprétation des données diagnostiques, pronostiques et théranostiques décrites dans les comptes-rendus peuvent faire l'objet d'une discussion anatomo-clinique avec prestation de conseil (par voie téléphonique ou au cours des RCP).

Les médecins du Cabinet participent à une partie des RCP régionales. En raison de leur multiplicité et diversité géographique, nous ne pouvons participer à toutes les RCP mais nous tenons à disposition pour toute discussion de dossier.

1.12. RÉCLAMATIONS

Toutes les réclamations parvenant au cabinet (par écrit uniquement) sont enregistrées et font l'objet d'une réponse circonstanciée.

1.13. COMMANDE DE MATÉRIEL

Toute commande de matériel hors réapprovisionnement automatique est à effectuer directement auprès du cabinet par fax.



2. RÉPERTOIRE DES ANALYSES

Ce chapitre répertorie les analyses pratiquées par le Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Saint-Louis. Il est à but d'information afin de garantir la qualité et la préservation des prélèvements afin de permettre un diagnostic optimal.

2.1. LA CYTOLOGIE

La cytologie étudie les prélèvements de cellules isolées par réalisation de frottis, grattages, ponctions ou aspirations. Elle est séparée en deux catégories : la cytologie gynécologique (frottis du col utérin) et la cytologie « spéciale » (toute cytologie non gynécologique).

2.1.1. CYTOLOGIE GYNÉCOLOGIQUE ET TEST/TYPAGE HPV

Les frottis cervicaux ont pour objectif le dépistage des lésions pré néoplasiques du col utérin. Ils sont réalisés soit en phase liquide (technique « monocouche »), soit de façon conventionnelle (étalements sur lames).

La technique du frottis en phase liquide présente plusieurs avantages par rapport au frottis conventionnel : standardisation et reproductibilité technique, concentration des cellules et optimisation de la lecture et du diagnostic. Elle permet ainsi de diminuer le taux de frottis non satisfaisants et d'améliorer les performances de détection des lésions néoplasiques du col utérin. Elle permet en outre la réalisation d'une recherche avec typage d'HPV oncogènes sur le même échantillon, sans nécessité de prélever à nouveau les patientes.

Les frottis cervicaux sont analysés et répondus selon les critères du système Bethesda 2014 et les recommandations INCa 2016.

Quelle que soit la technique choisie, le frottis de dépistage :

- doit être effectué si possible en dehors des règles ou saignement et à distance (au moins 1 jour) d'un rapport sexuel,
- ne doit pas être effectué en cas d'infection cervico-vaginale, ni après mise en place d'un ovule ou de crème,
- doit s'accompagner de renseignements cliniques : date des dernières règles, grossesse en cours, moyen de contraception (pilule, DIU, implant...), aspect clinique du col, antécédent de néoplasie pelvienne et traitements entrepris (notamment radiothérapie).

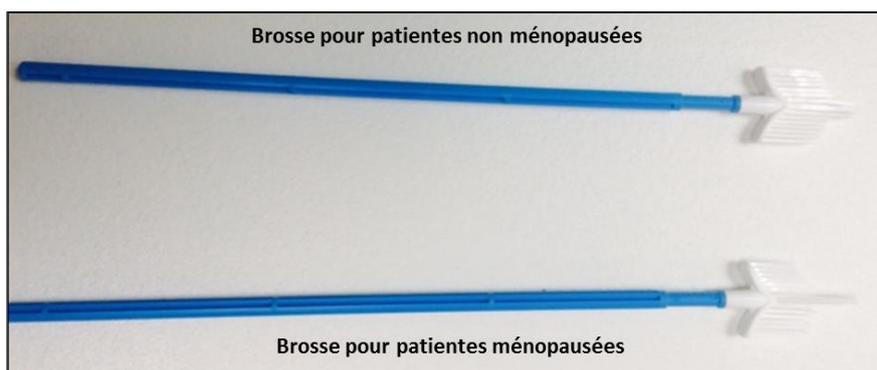


2.1.1.1. TECHNIQUE DE PRÉLÈVEMENT POUR UN FROTTIS MONOCOUCHE BD SurePath

- Vérifier la date de péremption du flacon BD SurePath avant le prélèvement,



- Choisir une brosse adaptée à la morphologie du col de la patiente (brosse spéciale pour patientes ménopausées),



- La jonction endocol-exocol est frottée **délicatement** (afin de ne pas générer de saignement) avec la brosse en la tournant 4 à 5 fois dans le sens des aiguilles d'une montre,
- Ouvrir le bouchon du flacon BD SurePath : apparaissent un grand et un petit orifice,
- Plonger la brosse **dans le grand orifice**,
- **Détacher la tige en laissant la brosse dans le liquide** et refermer le flacon,
- **Ecrire le nom de la patiente sur le flacon**,
- Prélever une des petites étiquettes QR-Code présentes sur le flacon, et la coller en haut à droite du bon de demande d'examen au niveau de l'espace dédié : le flacon et le bon doivent avoir le même QR-code (unique par patiente), permettant la bonne traçabilité du prélèvement.



Prélèvement d'échantillons simple et efficace

1. Collecter

Collectez l'échantillon cytologique en utilisant un dispositif en forme de balais à tête détachable. Suivez les instructions du fournisseur : pour la Cervex® Brush (Rovers), tournez 5 fois dans le sens horaire en balayant la zone de jonction.



2. Détacher

Utilisez le rebord intérieur du flacon BD SurePath™ pour détacher la tête du dispositif dans la plus large ouverture du flacon.



3. Envoyer

Refermez le flacon en vissant fermement le bouchon. Détachez le code à barres 2-D situé en haut du flacon et le coller sur le bon d'examen pour garantir la traçabilité de l'échantillon. Envoyez le flacon BD SurePath™ au cabinet d'anatomie et de cytologie pathologiques pour traitement.



Systemes BD Totalys™ & BD PrepStain™

BD, le logo et toutes autres marques sont la propriété de Becton Dickinson and Company. © 2014 BD.

BD Diagnostics
Becton Dickinson France S.A.S.
11, rue Aristide Bergès
38800 Le Pont-de-Claix, France
Tel. : 33 (0)4 76 68 36 36
www.bd.com/fr

Flacon de collecte BD SurePath™ Information pratique importante

Nouvel insert avec rebord facilitant le retrait de la tête détachable

- Insérez la tête du dispositif de prélèvement dans la plus large ouverture
- Tournez le manche du dispositif pour bloquer la tête, puis tirez le délicatement vers le haut pour détacher la brosse
- **NE PAS** insérer la brosse dans la petite ouverture



Code à barres 2-D fournissant une meilleure traçabilité de l'échantillon, du prélèvement jusqu'au résultat

- Après avoir collecté l'échantillon, détachez l'étiquette du haut et collez-la sur le bon d'examen
- Le deuxième code à barres reste collé sur le flacon pour lier celui-ci aux informations de la patiente
- Si vous êtes équipé d'un système d'enregistrement électronique, scannez le code à barres du flacon pour le relier aux données de la patiente

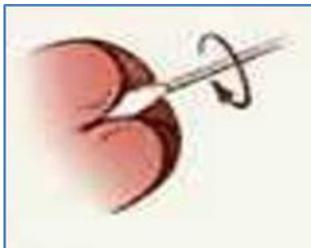


Pour que chacun vive en bonne santé



2.1.1.2. TECHNIQUE DE PRÉLÈVEMENT POUR UN FROTTIS CONVENTIONNEL

- Frotter **délicatement** la jonction endocol-exocol avec une cervex-brush en réalisant 4 à 5 tours,



- Prendre une lame, et sur une seule face, faire comme avec un pinceau, un aller-retour avec la brosse, en frottant un côté de la brosse puis l'autre (une seule lame suffit),



- **Ecrire le nom de la patiente sur la lame.**
- Fixer le frottis à la laque, laisser sécher 15-20 minutes,
- Placer la lame dans une boîte avant envoi au cabinet.

2.1.1.3. TEST/TYPAGE HPV

La recherche d'une infection par un (ou des) HPV oncogène(s) ne peut être effectuée qu'à partir d'un frottis en phase liquide :

- soit à la demande du gynécologue,
- soit à l'initiative du pathologiste en présence d'un frottis ASCUS ou AGC (recommandations de l'INCa 2016).

2.1.2. CYTOLOGIE SPÉCIALE

2.1.2.1. CYTOLOGIE URINAIRE

Recueil des urines :

- 100 à 200 ml suffisent,
- éviter le recueil des premières urines du matin,



- si possible faire un petit effort physique (monter un escalier peut suffire) : cela aide à la desquamation des cellules,
- réaliser une toilette locale préalable,
- uriner directement dans un pot sec,
- noter le nom et le prénom du patient sur le flacon.

En l'absence de fixation, le prélèvement doit être acheminé si possible dans l'heure au cabinet.

Pour les prélèvements effectués chez des patients hospitalisés, additionner autant de fixateur que de volume recueilli : pour 50 ml d'urine, ajouter 50 ml de fixateur (alcool à 50%).

2.1.2.2. CYTOLOGIE THYROÏDIENNE

Les produits de cytoponctions à l'aiguille de nodules sont disposés dans un flacon de cytologie monocouche BD SurePath en rinçant le contenu de la seringue avec le liquide fixateur. Ces prélèvements feront l'objet d'une technique de cytologie en phase liquide permettant d'enrichir les lames en cellules thyroïdiennes et d'améliorer le rendement diagnostique des cytoponctions.



2.1.2.3. CYTOLOGIE MAMMAIRE

Les produits de cytoponctions à l'aiguille de nodules ou le recueil des écoulements mamelonnaires sont étalés sur lames et séchés à l'air. Ces lames feront l'objet d'une coloration de Papanicolaou.

Les liquides de kyste sont adressés fixés dans un pot par addition « volume/volume » d'alcool à 50%.

2.1.2.4. CYTOLOGIE DES ÉPANCHEMENTS

Les liquides prélevés sont soit adressés frais non fixés si le délai d'acheminement est inférieur à une heure, soit fixés par addition « volume/volume » d'alcool à 50%. **En cas d'épanchement abondant, l'analyse d'un échantillon est suffisante ; il n'est donc pas nécessaire d'adresser la totalité du produit de ponction.**



2.1.2.5. CYTOLOGIE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN

Le liquide prélevé doit être fixé rapidement par addition « volume/volume » d'alcool à 50%.

2.1.2.6. CYTOLOGIE DU LIQUIDE ARTICULAIRE

Le liquide prélevé est soit adressé frais non fixé avec un délai d'acheminement inférieur à une heure, soit fixé par addition « volume/volume » d'alcool à 50%. **Seul l'examen du liquide articulaire à l'état frais permet d'apprécier la présence éventuelle de microcristaux.**

2.1.2.7. CYTOLOGIE BRONCHIQUE

Les produits d'aspiration bronchiques doivent être recueillis dans un flacon et fixés par addition « volume/volume » d'alcool à 50%.

2.1.2.8. CYTOLOGIE D'ORGANES PROFONDS

Les modalités sont identiques aux cytologies thyroïdiennes (utiliser un flacon pour cytologie en phase liquide BD SurePath).

2.2. L'HISTOLOGIE

L'histologie est l'étude microscopique des tissus obtenus après biopsie ou exérèse d'organes.

La technique histologique standard consiste en la confection de coupes tissulaires sur lames colorées par HES et examinées au microscope par le médecin pathologiste afin de poser un diagnostic lésionnel **en tenant compte du contexte clinique global communiqué par le prescripteur sur le bon de demande d'examen**. Cette analyse de base peut être complétée si nécessaire par des techniques particulières (colorations spéciales, immunohistochimie, immunofluorescence) permettant d'affiner les diagnostics lésionnels et/ou de déterminer des facteurs prédictifs, pronostics ou théranostics.

La foetopathologie, les autopsies, l'analyse des biopsie neuro-musculaires et les analyses de biologie médicale (type bactériologie ou cytologies sanguine et médullaire) ne sont pas pratiquées au Cabinet.



2.2.1. EXAMENS EXTEMPORANÉS

Les médecins du Cabinet réalisent des examens extemporanés pour les différents établissements de la région. Ces examens sont programmés par le chirurgien avant une intervention ou plus ponctuellement en cours d'intervention devant la découverte incidentelle d'une lésion. **En raison des contraintes organisationnelles de chaque intervenant (chirurgien et pathologiste) et par esprit de confraternité, il est demandé de prévenir le Cabinet à l'avance et de faire confirmer la validité de l'indication de l'examen par un pathologiste.**

Les examens extemporanés sont effectués :

- au Cabinet (prélèvement acheminé par coursier) lorsque l'intervention a lieu dans les établissements des villes de Caen et Lisieux,
- sur place lorsque l'intervention a lieu dans un établissement périphérique : le médecin pathologiste se rend alors sur place sur rendez-vous et après validation de l'indication avec le chirurgien. Compte tenu des contraintes organisationnelles engendrées par ces déplacements, ceux-ci ne seront assurés que sous réserve du respect des horaires et des plannings des interventions. L'établissement dans lequel exerce le chirurgien demandeur doit mettre à disposition un local d'examen extemporané permettant un exercice répondant aux normes en vigueur (surface de travail adaptée avec accès à l'eau, matériel à disposition et prévention des risques septiques).

L'examen extemporané a pour objectif de guider le geste chirurgical ; ce n'est pas un examen à but diagnostic de certitude. Le patient doit être informé de l'éventuelle réalisation de cet examen, de son objectif et de ses incertitudes nécessitant une confirmation par l'analyse histologique standard ultérieure. Son consentement éclairé doit être recueilli par l'opérateur.

Quelques informations concernant l'examen extemporané :

- . le prélèvement pour examen extemporané est le seul qui doit être adressé FRAIS, NON FIXÉ,
- . la technique extemporanée (coupes congelées au cryostat) est moins fiable que la technique histopathologique standard,
- . un examen extemporané n'est indiqué que si son résultat a une incidence sur le déroulement du geste opératoire,
- . l'examen extemporané ne peut être demandé dans un but diagnostic avant la poursuite d'une intervention délicate ou mutilante : il est recommandé la réalisation de biopsies diagnostiques pré opératoires (dont la significativité peut quant à elle être évaluée par examen extemporané),



- . les marges d'exérèse ne peuvent souvent pas être évaluées de façon satisfaisante sur coupes congelées, voire peuvent être rendues plus difficiles à déterminer lors de l'examen définitif du fait des altérations tissulaires secondaires à la congélation,
- . il n'y a pas, sauf exception, d'indication en pathologie cutanée,
- . un examen extemporané ne peut être réalisé que sur un prélèvement de taille suffisante (\geq à 1 centimètre) du fait du risque d'épuisement du prélèvement lors de la coupe au cryostat rendant impossible la confirmation diagnostique ultérieure,
- . les diagnostics de lymphome et de sarcome ne peuvent être posés lors d'un examen extemporané.

2.2.2. EXAMENS FIXÉS

La fixation a pour finalité la préservation tissulaire permettant les techniques histologiques et le diagnostic lésionnel. **Tout prélèvement à visée histologique (à l'exception du prélèvement pour examen extemporané), doit être adressé immergé (fixé) dans du formol neutre tamponné à 10%. Le prélèvement doit être immergé dans le fixateur le plus rapidement possible (idéalement immédiatement) après la réalisation du geste par le préleveur afin de limiter au maximum le temps d'ischémie froide (temps écoulé entre la biopsie ou l'exérèse de la lésion et sa mise en contact avec le fixateur) et ainsi l'altération irréversible des tissus. Afin de contrôler au mieux la qualité des échantillons, il est nécessaire de noter systématiquement les heures de prélèvement et de mise en fixateur.**

Les prélèvements doivent être totalement immergés dans un container de taille adaptée contenant idéalement l'équivalent de 5 fois leur volume en fixateur. **Il est important d'adapter la taille du pot au prélèvement** : un petit prélèvement risque de ne pas être retrouvé dans un pot trop grand et un gros prélèvement sera déformé et mal fixé dans un pot trop petit.

Les échantillons tissulaires doivent être considérés comme contagieux jusqu'à ce qu'ils soient fixés : les recommandations universelles pour la manipulation des échantillons de patients doivent être respectées. Les **règles de sécurité quant à la manipulation de formol** doivent être appliquées sous la responsabilité de la direction de l'établissement de santé vis-à-vis de ses personnels (port de gants et masque de protection dans les conditions d'utilisation au bloc opératoire, avec ouverture et fermeture immédiate du flacon).



2.2.2.1. BIOPSIES

L'ischémie froide ne doit pas excéder quelques minutes pour les biopsies (recommandation ASCO/CAP). La mise en fixateur immédiate après le prélèvement permet de plus d'éviter les phénomènes de dessiccation tissulaire délétères au diagnostic ultérieur.

Afin de limiter les artéfacts d'écrasement tissulaire, **les prélèvements doivent être manipulés avec précaution sans les écraser ou les dissocier avec les pinces à prélèvements.**

2.2.2.2. PIÈCES OPÉRATOIRES

L'ischémie froide ne doit pas excéder 1 heure pour les pièces opératoires (recommandation ASCO/CAP). La pénétration du formol dans les tissus étant de 3 à 4 mm par heure, la fixation de la partie centrale d'une pièce opératoire volumineuse sera retardée par rapport à sa périphérie et donc à prendre en compte dans le temps d'ischémie froide. L'ouverture de certaines pièces opératoires au bloc opératoire (en particulier les segments de tube digestif et les utérus) permet d'améliorer grandement la qualité de la fixation. Nous sommes à votre disposition pour vous conseiller sur les modalités pratiques d'ouverture des pièces opératoires volumineuses ne gênant pas le diagnostic ultérieur.

2.3. TECHNIQUES SPÉCIALES

2.3.1. COLORATIONS SPÉCIALES

Les colorations spéciales usuelles des mucines (PAS, bleu alcian, fer colloïdal), du fer (Perls), de l'amylose (Rouge Congo), de la fibrose (trichrome, réticuline), des fibres élastiques (orcéine) et d'hématologie (Giemsa) sont réalisées en routine au cabinet.

2.3.2. IMMUNOHISTOCHIMIE

La technique d'immunohistochimie est réalisée au sein du cabinet selon les recommandations techniques en vigueur. Les contrôles qualité internes et externes (AFAQAP) sont effectués par les médecins du cabinet.

2.3.3. IMMUNOFLUORESCENCE

La technique d'immunofluorescence est réalisée au cabinet à partir de prélèvements conservés en **liquide de Michel** pour la recherche de dépôts d'immunoglobulines (Ig) G, A, M et de fraction C3 du complément dans le cadre notamment de dermatoses bulleuses auto-immunes ou de connectivites.



2.4. TECHNIQUES SOUS TRAITÉES

Les demandes de techniques d'hybridation in situ HER2 sont adressées et réalisées au CLCC François-Baclesse.

Les examens de pathologie moléculaire sont adressés et réalisés à la plateforme INCa Gécécac (CHU et CLCC).

Le Cabinet met à disposition les échantillons tumoraux (inclus en blocs de paraffine) dans le cadre de demandes de techniques innovantes (du type OncotypeDX dans les cancers du sein) à la demande des cliniciens.

2.5. TUMOROTHÈQUE

L'accès à la tumorothèque de Caen-Normandie est possible après concertation avec le préleveur validant l'indication et les modalités pratiques. La procédure disponible utilise des tubes pré remplis de milieu de conservation RNA-later dans lesquels sont disposés les échantillons à préserver qui seront ensuite transmis à la tumorothèque pour congélation et stockage. En fonction des dispositions, le prélèvement pour tumorothèque pourra être réalisé au cabinet dans des conditions identiques à un examen extemporané soit réalisé directement par le préleveur auquel auront été fournis les tubes de milieu de conservation.

Le consentement du patient est à recueillir avant l'intervention et un formulaire dédié est à compléter et signer.