

MANUEL DES PRELEVEMENTS ACP

Objet : Cette procédure a pour but de préciser le conditionnement et l'envoi des échantillons biologiques au service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques.

1. Domaine d'application

Ce manuel est destiné aux cliniciens et aux pathologistes qui adressent des prélèvements au département d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques (ACP) de l'Institut Curie.

2. Responsabilités

L'équipe des pathologistes, les cadres de laboratoires, l'équipe technique et les assistantes médicales des sites de Saint-Cloud et de Paris.

Présentation du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Dr. Anne VINCENT-SALOMON, chef du Pôle de Médecine Diagnostique & Théranostique de l'Ensemble Hospitalier, chef de service ACP.

Pr. Yves ALLORY, chef de service ACP, site Saint-Cloud.

Dr. Paul FRENEAUX, référent qualité opérationnel ACP site Paris.

Dr. Emmanuelle MENET, référent qualité opérationnel ACP site Saint-Cloud.

La liste complète des médecins du service ACP, ainsi que leurs coordonnées sont consultables en annexe chapitre 10.

Localisation site Paris

Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, 3^{ème} étage
26, rue d'Ulm, 75248 Paris cedex 05

Secrétariat : n° tél : 01 44 32 42 48 / 42 55 /42 60
n° fax : 01 53 10 40 10

e-mail : pathologie.paris@curie.fr

Cadre du service : 01 44 32 42 65

Localisation site Saint-Cloud

Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, étage 0 et 2^{ème} étage (*uniquement pour réception prélèvements frais/extemporané*)
35, rue Dailly, 92210 Saint-Cloud.

Secrétariat : n° tél : 01 47 11 15 11
n° fax : 01 47 11 15 16

e-mail : pathologie.stcloud@curie.fr

Cadre du service : 01 47 11 15 12

Heures d'ouverture

Réception des échantillons :

- Site Paris : Lundi à Vendredi
 - de 8h00 à 17h00 pour les pièces opératoires
 - de 8h00 à 17h15 pour les biopsies fixées et les prélèvements cytologiques
- Site Saint-Cloud : Lundi à Vendredi
 - de 8h00 à 17h00 pour les pièces opératoires
 - de 8h00 à 16h30 pour les biopsies fixées et les prélèvements cytologiques

TABLE DES MATIÈRES

1- INTRODUCTION.....	4
2- DEMANDE D'EXAMEN	5
2.1. FEUILLE DE PRESCRIPTION.....	5
2.2. INFORMATIONS A FOURNIR	5
3- TYPE DE PRELEVEMENTS POUVANT ETRE ADRESSES AU SERVICE ACP	8
3.1. BIOPSIES	8
3.2. PIECES OPERATOIRES	8
3.3. CYTOPONCTIONS	8
3.4. LIQUIDES BIOLOGIQUES	8
3.5. POOLS MEDULLAIRES (PEDIATRIE-PARIS)	8
3.6. FROTTIS CERVICO-VAGINAUX.....	8
3.7. BLOCS PARAFFINE / COUPES TISSULAIRES (LAMES).....	9
3.8. PRELEVEMENTS CONGELES POUR LE CENTRE DE RESSOURCES BIOLOGIQUES (CRB).....	9
4- CONDITIONNEMENT/ACHEMINEMENTS DES PRELEVEMENTS.....	9
4.1. GENERALITES	9
4.2. PRELEVEMENTS INTERNES- SITE PARIS	12
4.3. PRELEVEMENTS INTERNES - SITE SAINT-CLOUD.....	14
4.4. PRELEVEMENTS INTER-SITES PARIS – SAINT-CLOUD.....	15
4.5. PRELEVEMENTS PROVENANT DE LABORATOIRES/CENTRES EXTERNES.....	15
4.6. PRELEVEMENTS REALISES A L'INSTITUT CURIE ADRESSES A DES LABORATOIRES SOUS-TRAITANTS.....	15
4.7. HYGIENE ET SECURITE	16
5- CONSEILS ASSURES PAR LES PATHOLOGISTES.....	16
6- ELIMINATION DES DECHETS / STOCKAGE DES PRELEVEMENTS APRES ANALYSE.....	17
7- TECHNIQUES	17
7.1. HISTOCHIMIE	18
7.2. IMMUNOHISTOCHIMIE (IHC)	18
7.3. FISH.....	19
7.4. TYPAGE VIRAL (PARIS).....	19
7.5. BIOLOGIE MOLECULAIRE SOMATIQUE.....	19
8- TRANSMISSION DES RESULTATS.....	20
9- DELAI DE RENDU DES RESULTATS	20
10- ANNEXES.....	21
10.1. LISTE DES ANTICORPS POUR IHC (IC - 009884).....	21
10.2. LISTE DES SONDAS POUR FISH (IC - 009886)	21
10.3. LISTE DES COLORATIONS SPECIALES (IC – 009885 ET IC - 012703).....	21

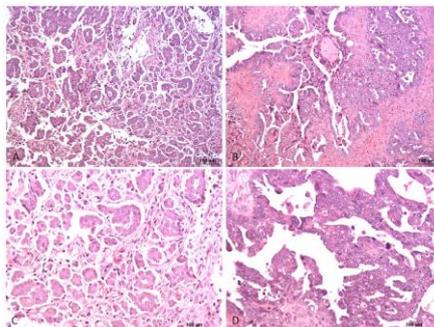
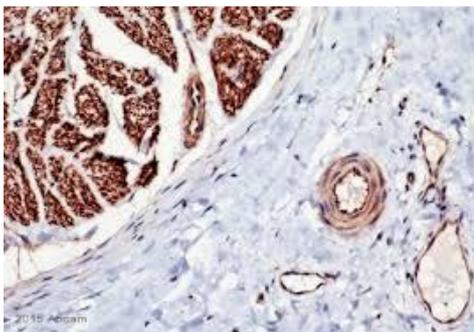
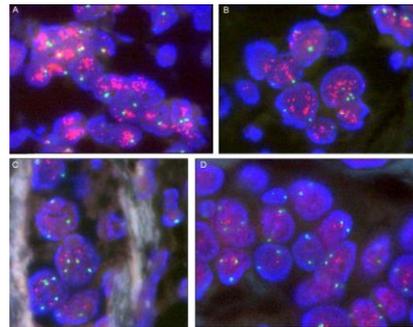
Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

1- Introduction

L'anatomie pathologique est basée sur l'étude macroscopique et morphologique des prélèvements au microscope optique. Les données morphologiques peuvent être complétées par des analyses morphologiques telles que l'immunohistochimie et la FISH (fluorescence in situ hybridization) ainsi que par des techniques moléculaires (PCR, NGS ...). Quelles que soient les techniques mises en œuvre, la qualité de l'analyse dépend de celle du prélèvement effectué et de sa préservation.

Notre service s'est engagé dans une démarche de qualité selon la norme ISO 15189 dont l'objectif majeur est la maîtrise et la fiabilité des résultats d'analyse. Cette démarche prend en compte la phase pré-analytique* puisque la majorité des difficultés diagnostiques est liée à une mauvaise préservation des échantillons avant l'arrivée au laboratoire. Ce manuel comporte donc les recommandations pré-analytiques indispensables pour la préservation optimale des prélèvements destinés à l'examen d'anatomie et cytologie pathologiques.

* Pré-analytique : Certains facteurs sont susceptibles d'influencer le résultat de l'analyse d'un échantillon avant qu'elle ne commence. Ces facteurs sont par exemple : la prescription, l'identification du patient, le type de prélèvement, son conditionnement, les conditions de transport depuis le lieu de prélèvement jusqu'au laboratoire ACP.



2- Demande d'examen

2.1. Feuille de prescription

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une Feuille de demande d'examen au service ACP (IC 009170) disponible sur BALACHAT (Formulaire Stock) ou sur le « Catalogue des examens » présent sur le site internet <https://curie.fr/> (rubrique Professionnels de santé), ou d'une lettre indiquant les informations listées ci-dessous.

2.2. Informations à fournir

Les informations doivent être libellées de façon précise (*en toutes lettres*), lisibles et non équivoques sur la feuille de prescription. Elles concernent :

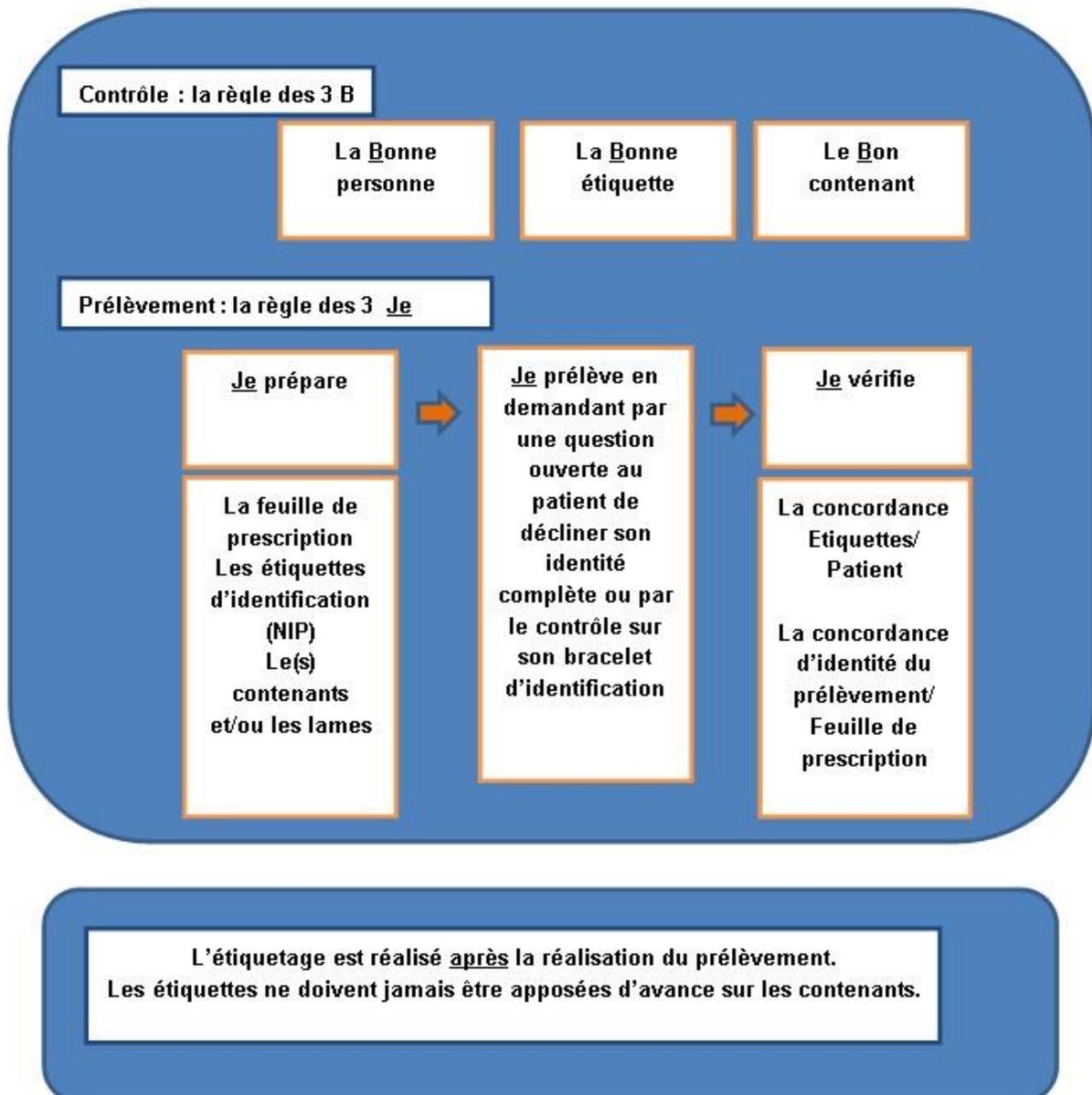
- **Le patient** : NIP, nom de naissance et nom usuel, prénom, sexe, date de naissance (étiquette). L'origine du patient : Hospitalisation/Ambulatoire, Consultation, Extérieur à l'Institut Curie.
- **Le prescripteur** : nom, prénom, coordonnées, n° de téléphone ou Fax, signature.
- **Le préleveur** : nom, coordonnées.
- **D'autres destinataires éventuels pour l'envoi du compte rendu, si différent du prescripteur**: nom, coordonnées, n° de téléphone ou Fax
- **Le(s) prélèvement(s)** :
 - o Date et l'heure de prélèvement. *L'heure et la date du prélèvement sont importantes car elles permettent de contrôler la conformité des délais de transmission des prélèvements et ainsi de garantir la qualité de l'échantillon prélevé au moment de sa prise en charge.*
 - o Type de prélèvement, localisation, latéralité
 - o Renseignements cliniques et schéma si nécessaire
 - o Liste précise et numérotée des différents prélèvements
 - o Toute demande spécifique : examen extemporané, évaluation des marges, radio de pièce, ainsi que le n° de salle d'opération pour les prélèvements provenant du bloc opératoire
 - o Conditionnement des prélèvements : frais, formol, milieu de conservation (RMPI ...), TissueSafe® ou congelé.
 - o Nombre de flacons, tubes congelés, lames, blocs de paraffine transmis
 - o Etude clinique, si pertinent

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

IDENTITOVIGILANCE :

L'absence ou l'erreur d'identification du prélèvement constitue un critère de non-conformité majeure et, est enregistrée comme telle dans le dispositif de gestion des risques de l'Institut Curie (logiciel ENNOV). Elle peut entraîner la non-réalisation des actes (non-conformité bloquante).

Les bonnes pratiques pour le préleveur sont :



Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

Les prélèvements sanguins, ainsi que les prélèvements destinés à un examen bactériologique ne sont pas acceptés.

Seuls les prélèvements tissulaires et cellulaires adressés pour un examen histologique ou cytologique sont acceptés.

Toute demande d'examen, présentant l'un des critères de non-conformités bloquantes énoncées ci-dessous, ne pourra être enregistrée sans que la non-conformité ne soit levée par l'engagement signé du prescripteur ou du préleveur. Ceci peut être responsable d'un retard de prise en charge et d'une éventuelle altération du prélèvement.

- Feuille de prescription absente
- Absence d'identité du patient, identité incomplète ou identité illisible
- Discordance d'identité entre feuille de prescription et étiquetage du(es) prélèvement(s)
- Discordance de topographie/latéralité entre feuille de prescription et étiquetage du(es) prélèvement(s)
- Discordance entre nombre de pots indiqués sur la feuille de prescription et le nombre de pots transmis
- Pot vide

L'attestation par le préleveur de l'identification du matériel « précieux » à postériori de l'acte est disponible sur la base ENNOV (IC - 009091).

Toute non-conformité constatée lors de la réception des prélèvements sera enregistrée dans le logiciel du service d'ACP et figurera sur le compte-rendu d'ACP.

3- Type de prélèvements pouvant être adressés au service ACP

3.1. Biopsies

Une biopsie est un (des) petit(s) fragment(s) de tissu prélevé(s) par une aiguille de calibre variable, des pinces, un bistouri. Ce(s) fragment(s) est(ont) étudié(s) intégralement. Leur fixation, leur mise dans un milieu de conservation (RPML, ...) ainsi que leur congélation doit être immédiate après leur prélèvement afin de préserver leur intégrité dans des conditions optimales pour leur analyse morphologique et toute technique complémentaire, immunohistochimique et moléculaire.

Seuls les prélèvements frais ou fixés dans du formol tamponné à 4 % pourront être analysés par des techniques d'immunohistochimie et de biologie moléculaire accréditées. Les fragments tissulaires doivent être immergés dans le fixateur représentant au moins 5 fois le volume de(s) biopsie(s). La durée optimale de fixation est comprise entre 2h et 48h. Seules les biopsies testiculaires sont fixées dans l'AFA pour préserver la morphologie des tubes séminifères et permettre une meilleure évaluation des stades de la spermatogenèse.

3.2. Pièces opératoires

Les pièces opératoires doivent être adressées non ouvertes. Selon le type d'intervention, elles doivent être orientées (schéma ou indications sur la feuille de prescription). Elles sont prises en charge à l'état frais par le médecin pathologiste de garde. Celui-ci fait une photo macroscopique ou un schéma de la pièce opératoire. Des prélèvements cryopréservés pour le Centre de Ressources Biologiques (CRB) sont effectués selon les protocoles de bonnes pratiques. Une fixation de la pièce opératoire est ensuite réalisée le plus rapidement possible, dans du formol tamponné à 4%. Le choix et le nombre de prélèvements effectués sur la pièce opératoire après 24h à 72h de fixation se fait selon des procédures établies pour chaque situation clinique.

3.3. Cytoponctions

Les produits de cytoponctions d'organes (sein, thyroïde, ganglion, organe profond...) sont étalés sur des lames blanches, puis séchés à l'air. Dans certaines situations, il est également possible de rincer l'aiguille de prélèvement dans du formol ou dans un milieu de conservation (RPML...) pour réalisation d'un cytobloc.

3.4. Liquides biologiques

Ces prélèvements correspondent à des cellules en suspension dans un liquide biologique tels que liquide pleural, ascite, liquide céphalo-rachidien, liquide péritonéal, liquide vitréen, urines ... Ils font l'objet d'une centrifugation puis d'un étalement sur lames et le cas échéant d'un cytobloc.

3.5. Pools médullaires (Pédiatrie-Paris)

Ces prélèvements correspondent à des cellules médullaires obtenues par aspiration lors de la réalisation de biopsies médullaires et « poolées » dans un seul flacon.

3.6. Frottis cervico-vaginaux

L'ensemble des frottis cervico-vaginaux réalisés en milieu liquide sont externalisés au laboratoire PRAXEA.

3.7. Blocs paraffine / Coupes tissulaires (lames)

Des blocs tissulaires enrobés en paraffine ou des coupes tissulaires colorées ou blanches peuvent être adressés par courrier postal au secrétariat du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques pour toute demande d'avis ou de technique complémentaire (immunohistochimie, biologie moléculaire, génotypage HPV ...). Outre la feuille de prescription ou la lettre d'accompagnement remplie selon les modalités explicitées au chapitre 3, il convient d'adresser le compte-rendu histopathologique et de préciser le type de fixateur utilisé, le délai avant fixation ainsi que la durée de fixation de l'échantillon. Le cas échéant, il convient également de préciser la date de réalisation des lames blanches transmises pour technique complémentaire.

3.8. Prélèvements congelés pour le Centre de Ressources Biologiques (CRB)

Des prélèvements congelés de différents tissus tumoraux ou normaux peuvent être adressés au CRB. La conservation des échantillons sous forme congelée permet de les rendre disponibles pour des investigations diagnostiques complémentaires. En effet, toutes les analyses ne peuvent être réalisées sur les échantillons conservés de façon classique à l'issue du diagnostic. Si plusieurs années après le diagnostic, un nouveau test diagnostique est disponible afin de mieux caractériser la maladie, les échantillons conservés au sein du CRB pourront être exploités dans l'intérêt du patient.

Les échantillons provenant de centres extérieurs doivent être acheminés selon les modalités décrites dans le document IC-002288.

Depuis mars 2009, le Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Curie est certifié selon le référentiel NFS 96-900 pour les activités suivantes : réception, préparation, conservation et mise à disposition à des fins de recherche scientifique et médicale d'échantillons tissulaires, d'ADN et ARN extraits de tissus tumoraux et non tumoraux, d'échantillons sanguins et liquides biologiques, de protéines issues de tissus tumoraux et non tumoraux.

4- Conditionnement/acheminements des prélèvements

4.1. Généralités

Tous les tissus biologiques sont considérés comme potentiellement infectieux, il faut donc appliquer les mesures préventives de base. Les pots doivent être hermétiquement fermés et propres pour le transport.

Tous les prélèvements, à l'état frais ou dans un milieu de conservation, mis dans des flacons, boîtes, ou tubes doivent être acheminés dans un sac de transport homologué pour prélèvements biologiques, scellé avec une double poche permettant d'isoler la feuille de prescription. Les pièces plus volumineuses sont acheminées par l'agent du bloc dans une sacoche homologuée.

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

	<p>Les <u>flacons Biopsafe®</u> contenant du formol tamponné à 4%, utilisés pour la fixation des biopsies, sont mis à disposition des différents services de l'hôpital et envoyés aux préleveurs sur demande. La commande est à effectuer auprès du logisticien du département : guillaume.jaume@curie.fr pour le site de Paris ou du cadre de santé pour le site de Saint-Cloud (poste 1512). Les instructions pour l'utilisation des flacons Biopsafe® sont consultables sur le document (IC - 009374).</p>
	<p>Les <u>flacons SafeCapsule®</u> contenant du PBS et du formol concentré dans le bouchon rouge. Ce dernier est libéré une fois le bouchon rouge vissé sur le bleu et dilué dans le PBS pour obtenir du formol tamponné à 4%. Le préleveur n'est donc pas au contact du formol. Ils sont mis à disposition des différents services de l'hôpital et envoyés aux préleveurs sur demande. La commande est à effectuer auprès du logisticien du département : guillaume.jaume@curie.fr pour le site de Paris ou du cadre de santé pour le site de Saint-Cloud (poste 1512). Les instructions pour l'utilisation des flacons SafeCapsule® sont consultables sur le document (IC - 011792).</p>
	<p>Les flacons de formol 4% sont mis à disposition des différents services de l'hôpital et envoyés aux préleveurs sur demande. La commande est à effectuer auprès du logisticien du département : guillaume.jaume@curie.fr pour le site de Paris.</p>
	<p>Les flacons, comportant un milieu de conservation (RPMI, milieu spécifique pour un essai clinique ...) utilisés pour l'acheminement rapide des biopsies fraîches avant leur fixation, sont mis à disposition des différents services de l'hôpital et envoyés aux préleveurs sur demande. La commande est à effectuer auprès du technicien de cytologie (4264) pour le site de Paris ou du cadre de santé pour le site de Saint-Cloud (poste 1512). Les flacons de RPMI doivent être conservés à 4°C jusqu'à utilisation, en vérifiant leur date de péremption.</p>
	<p>Les instructions pour l'utilisation de <u>l'automate Tissuesafe®</u> permettant la conservation des pièces opératoires sous vide à 4°C, en dehors des heures d'ouverture du laboratoire, sont consultables sur le document IC - 009375.</p>
	<p>Les étalements cytologiques sur lames de verre seront disposés dans une boîte rigide porte-lames limitant les chocs pendant le transport.</p>
	<p>Les prélèvements biopsiques destinés à être congelés seront mis dans des cryotubes plongés immédiatement dans de l'azote liquide. Pour les prélèvements congelés provenant d'un centre extérieur et à destination de Paris, les échantillons seront acheminés dans des boîtes isothermes contenant de la carboglace (IC - 002288)</p>

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

	<p>Les frottis cervico-vaginaux seront recueillis dans des flacons spécifiques disponibles dans le service d'ACP : poste 4264 ou 4258 pour le site de Paris ou poste n3437 ou 3425 pour le site de Saint-Cloud.</p>
---	---

Utilisation du pneumatique sur le site de Paris pour l'envoi de prélèvements à la Réception Centralisée des Prélèvement (RCP)

Le pneumatique fonctionne du lundi au vendredi de 8h à 17h15.

Les prélèvements autorisés pour le pneumatique sont :

<p>Flacons Biopsafe® de 20 ml</p>	
<p>Flacons SafeCapsule® 60 ml / 120 ml</p>	
<p>Flacons RPMI de 20 ml</p>	
<p>Tubes secs de 15 ml</p>	
<p>Etalements cytologiques sur lames de verre (pas plus de 2 lames par boîte)</p>	

Les bonnes pratiques d'envoi des prélèvements par pneumatique sont explicitées dans le document IC - 007535.

4.2. Prélèvements internes- site Paris

PRELEVEMENT	RECOMMANDATIONS	CONDITIONNEMENT	ACHEMINEMENT
Pièces opératoires avec demande d'examen extemporané	Doivent être acheminées sans délai	Frais dans une boîte en plastique, à T° ambiante	Par le logisticien disponible de 8h30 à 16h30 ☎ 4243 ou 4237
Pièces opératoires (après 17h)		Sac ou flacon TissueSafe®, puis conservation à 4°C, jusqu'au lendemain matin	Par l'aide laboratoire le lendemain de l'intervention à 8h00
Biopsies provenant de la radiologie interventionnelle, des salles d'endoscopie ou des salles de consultation	Flacons de RPMI doivent être acheminés dans l'heure qui suit le prélèvement	Flacon Biopsafe® / SafeCapsule® comportant du formol tamponné à 4%, à T° ambiante (ou Flacon de RPMI, à T° ambiante) Cryotube à placer dans un petit container d'azote (apporté tous les matins par le service de pathologie)	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique ☎ 4241/4233
Liquides biologiques (aspiration bronchique, lavage bronchiolo-alvéolaire, épanchement pleural, épanchement péritonéal, urines)	Doivent être acheminés dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement	Tube sec Hépariné : épanchement pleural, péritonéal Tube sec : aspiration bronchique, LBA, Urine, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique ☎ 4241/4233
Liquide céphalo-rachidien	Doit être acheminé immédiatement après le prélèvement Après 17h00, prévenir impérativement le service d'ACP ☎ 42 64 /4265/5757	Tube sec, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique ☎ 4241/4233
Cytoponctions	Identification des lames au crayon à papier (stylo bille ou feutre à proscrire) par le n° dossier et le nom du patient	Dans une boîte rigide porte-lames, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique. ☎ 4241/4233

Cas particulier des prélèvements pédiatriques réalisés au bloc opératoire ou en radiologie interventionnelle.

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

PRELEVEMENTS PEDIATRIQUES	RECOMMANDATIONS	CONDITIONNEMENT	ACHEMINEMENT
Etalements cytologiques médullaires	Prélèvement d'au moins 2 secteurs. Identification des lames au crayon à papier (stylo bille ou feutre à proscrire) par le n° dossier, nom du patient et le secteur prélevé	Lames blanches standard, dans une boîte rigide porte-lames, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique  4241/4233
Pool de moelle	Exclusivement pour neuroblastome et sarcome d'Ewing	Tube Vacutainer EDTA (tube bouchon violet), à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique  4241/4233
Biopsies ostéo médullaires	Prélèvement de 2 secteurs	Flacon Biopsafe® / SafeCapsule® comportant du formol tamponné à 4%, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique  4241/4233
Etalements cytologiques tumeur primitive	Identification des lames au crayon à papier (stylo bille ou feutre à proscrire) par le n° dossier, nom du patient et le secteur prélevé	Lames superfrost +, dans une boîte rigide porte-lames, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique.  4241/4233
Cytoponction tumeur primitive (suspension cellulaire)	Sera transmise par le Pathologiste à l'UGS avec la prescription  4256	Flacon RPMI/ATB/EDTA, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique.  4241/4233
Biopsie tumeur primitive		Flacon RPMI/ATB, à T° ambiante	RCP (Réception Centralisée des Prélèvements), via le système pneumatique  4241/4233

4.3. Prélèvements internes - site Saint-Cloud

PRELEVEMENT	RECOMMANDATIONS	CONDITIONNEMENT	ACHEMINEMENT
Pièces opératoires avec demande d'examen extemporané	Doivent être acheminées sans délai	Frais, à T° ambiante	Par l'agent du bloc opératoire disponible de 8h30 à 17h00  3426
Pièces opératoires	Doivent être acheminées dans les 30 minutes qui suivent l'exérèse chirurgicale	Frais, à T° ambiante	Par l'agent du bloc opératoire disponible de 8h30 à 17h00  3426
Pièces opératoires (après 17h00)		TissueSafe®, puis conservation à 4°C	Par l'agent du bloc, le lendemain de l'intervention à 8h30  3426
Biopsies provenant du bloc opératoire	Doivent être acheminées sans délai	Frais, à T° ambiante	Par l'agent du bloc opératoire disponible de 8h30 à 17h00  3426
Biopsies provenant de la radiologie interventionnelle, des salles d'endoscopie ou des salles de consultation		Flacon SafeCapsule® ou Biopsafe® contenant du formol tamponné à 4% reconstitué, à T° ambiante ou, si protocole, flacon de milieu de conservation à T° ambiante Flacon de formol 4% pour la macrobiopsies Cryotube à placer dans un petit container d'azote (à prendre le matin dans le service de Pathologie)	Par un agent du service demandeur directement au laboratoire ACP
Liquides biologiques (épanchement pleural, épanchement péritonéal, urines)	Doivent être acheminés dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement. Après 16h30, conservation à +4°C	Tube sec : épanchement pleural ou péritonéal, à T° ambiante Flacon : Urine, à T° ambiante	Par un agent du service demandeur directement au laboratoire ACP
Liquide céphalo-rachidien	Doit être acheminé immédiatement après le prélèvement. Réception jusqu'à 16h30. Si urgence, appel avant 16h30  3425, sinon conservation à +4°C	Tube sec, à T° ambiante	Par un agent du service demandeur directement au laboratoire ACP
Cytoponctions	Appel d'un Technicien de laboratoire pour assister le médecin préleveur de 8h00 à 16h30  3425	Lames blanches standard, dans une boîte rigide porte-lames à T° ambiante	Par le Technicien de laboratoire directement au laboratoire ACP

Biopsies ostéo médullaires		Flacon SafeCapsule® ou Biopsafe® contenant du formol tamponné à 4% reconstitué, à T° ambiante	Par un agent du service demandeur directement au laboratoire ACP
-----------------------------------	--	---	--

4.4. Prélèvements inter-sites Paris – Saint-Cloud

Des lames, des blocs ainsi que des tubes congelés peuvent être transmis d'un site à l'autre par l'intermédiaire de la RCP (Réception Centralisée des Prélèvements - Paris) et du coursier inter-site.

4.5. Prélèvements provenant de laboratoires/centres externes

- Les prélèvements adressés pour avis diagnostique, relecture dans le cadre d'un réseau ou à la demande des cliniciens, immuno-histochimie, FISH, analyse moléculaire somatique ou génotypage viral correspondent essentiellement à des blocs de paraffine ou à des lames : ils sont acheminés par courrier postal directement dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques. Ils doivent être acheminés dans une enveloppe à bulles limitant les chocs pendant le transport. Le cas échéant, les lames transmises seront rangées dans une boîte rigide. Un double du compte-rendu d'Anatomie-Cyto-Pathologie doit obligatoirement accompagner les prélèvements ainsi que la demande d'examen en fonction de l'analyse demandée ou une lettre explicitant la demande et d'un bon de commande.
- Les biopsies de col utérin du Centre de Santé de la Mutualité sont acheminées le Vendredi sur le site de Paris par coursier externe.
- Des pièces opératoires ou des biopsies peuvent être acheminés par coursier externe dans le cadre d'un accord conventionnel inter-établissements.
- Des tubes congelés adressés pour extraction d'ADN ou d'ARN dans le cadre du diagnostic ou d'essais cliniques doivent être adressés dans un emballage avec de la carboglace. Les prélèvements doivent être joints à 3 documents : le document détaillant les prélèvements, le compte-rendu d'Anatomie-Cyto-Pathologie ainsi qu'une lettre explicitant la demande faisant office de prescription d'examen.

4.6. Prélèvements réalisés à l'Institut Curie adressés à des laboratoires sous-traitants

- L'ensemble des frottis cervico-vaginaux et anaux réalisés sur les sites de Paris et Saint-Cloud sont externalisés au laboratoire ACP PRAXEA. Une feuille de prescription de Cytologie cervico-utérine spécifique pour ces prélèvements doit être remplie par le prescripteur (IC - 008099). Ces prélèvements doivent être acheminés à la RCP de Paris par le pneumatique (poste 4241 / 4233) ou au CTP de Saint-Cloud. Celle-ci centralise les envois au laboratoire ACP PRAXEA (Procédure : Externalisation des frottis cervico-utérins (IC-008267)).
- L'ensemble des colorations spéciales du site de St Cloud sont externalisés au laboratoire ACP Foch à Suresnes. (IC-012517, Colorations spéciales en ACP site Saint Cloud)
- Les analyses moléculaires des prélèvements de lymphomes sont réalisées par différents laboratoires extérieurs. Les prélèvements leur sont adressés selon les modalités décrites dans le tableau ci-dessous. La RCP de Paris et le CTP de St Cloud assurent l'envoi de ces prélèvements

Prélèvements réalisés à l'Institut Curie adressés à des laboratoires sous-traitants

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

PRELEVEMENT	MATERIEL ET CONDITIONNEMENT	FEUILLE DE DEMANDE D'EXAMEN	LABORTAOIRE SOUS-TRAITANT
Ponctions vitréennes en cas de suspicion de lymphome Site Paris	Tube sec à T° ambiante, acheminé le plus rapidement possible	Feuille de prescription de demande de diagnostic moléculaire en hématologie - Pitié (IC - 007025)	Hôpital Pitié-Salpêtrière, service du Pr. DAVI
Cytométrie de flux des prélèvements réalisés en cas de suspicion de lymphome non hodgkinien et non anaplasique, <u>chez l'enfant et l'adolescent</u> Site Paris	Pool médullaire dans un tube EDTA à T° ambiante, acheminé le plus rapidement possible	Feuille de prescription d'analyse d'Onco-Hématologie -Necker (IC - 007143)	Hôpital Necker-Enfants Malades, service du Pr. MACINTYRE
Cytométrie de flux des biopsies ganglionnaires chirurgicales réalisées <u>chez l'adulte</u> en cas de suspicion de lymphome non hodgkinien Site Paris	Fragment tissulaire en RPMI, acheminé le plus rapidement possible	Feuille de prescription analyse Phénotypage Cochin (IC - 009810)	Hôpital Cochin, service du Pr. FONTENAY
Cytométrie de flux des biopsies ganglionnaires réalisées <u>chez l'adulte</u> en cas de suspicion de lymphome non hodgkinien Site Saint-Cloud	Prélèvement dans un flacon de PBS et 2 lames d'étalement (nom du patient), acheminé le plus rapidement possible	Feuille de prescription d'analyse d'examen hématologiques (IC - 007875)	Hôpital Ambroise Paré, service du Pr. BARDET

4.7. Hygiène et sécurité

Les prélèvements peuvent nous être acheminés dans tout type de récipient, en s'assurant du caractère parfaitement étanche de celui-ci. Les différents récipients (boîtes, flacons, tubes) seront mis dans des sacs plastiques homologués pour le transport d'échantillons biologiques avec une double séparation permettant d'y adjoindre la feuille de demande d'examen.

Le personnel du laboratoire est formé à l'utilisation de l'ensemble des EPI (équipements de protection individuels) et EPC (équipements de protection collectifs) mis à disposition pour se mettre en sécurité par rapport aux risques biologiques et chimiques.

5- Conseils assurés par les Pathologistes

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

La fonction de prestation de conseil des pathologistes s'exerce tout au long du processus.

- Lors de la prescription, en matière de type de prélèvement à réaliser, de conditionnement de l'échantillon, de modalités de transport et de choix de l'analyse à réaliser.
- Lors des réunions de concertation pluridisciplinaires organisées à l'Institut Curie et en concertation avec les établissements partenaires.
- Lors de l'édition de compte-rendu, à la demande des médecins prescripteurs.

A Saint Cloud, les médecins peuvent prescrire des techniques complémentaires (IHC, FISH, Bio mol) sur du matériel archivé ou effectuer une demande de relecture de prélèvements extérieurs à l'Institut. Cette demande doit se faire auprès du secrétariat ACP à l'aide de la feuille de « Demande de matériel externe ou de technique complémentaire » (IC-009663). Cette demande doit être explicitée et accompagnée des documents adéquats précisés sur le document. Cette prescription sera transmise à un pathologiste pour validation avant prise en charge.

6- Elimination des déchets / Stockage des prélèvements après analyse

Le service responsable du prélèvement doit éliminer les matériaux utilisés pour la réalisation du prélèvement selon les règles d'hygiène et de sécurité en vigueur.

Après analyse, les pièces opératoires sont conservées au minimum 6 semaines (à compter de la date de réception du prélèvement) dans des conditions appropriées assurant leur intégrité, dans des armoires sécurisées, ventilées puis incinérées par la filière DASRI.

Les pots de biopsies, les contenants de pièces opératoires et les contenants de liquides biologiques sont conservés en containers carton DASRI pendant 1 mois (preuves d'identification, de réception ...) avant d'être éliminés par la filière déchet DASRI.

Les blocs de paraffine ainsi que les lames d'intérêt ayant servi à l'analyse ACP sont conservés pour une durée réglementaire (au minimum 30 ans).

Les prélèvements congelés sont stockés dans des congélateurs sécurisés à -80°C, sans limitation de durée.

7- Techniques

Le service d'ACP participe annuellement aux évaluations externes de la qualité dans le cadre de l'AFAQAP (Association Française assurance Qualité en Anatomie et Cytologie Pathologiques) pour l'ensemble des techniques mises en œuvre. Les techniques d'histochimie et d'immunohistochimie font également l'objet de contrôles qualité interne quotidiens. Les techniques de FISH et de typage viral font l'objet de contrôle interne lors de chaque technique.

Certaines techniques ne pourront être mises en œuvre si le conditionnement des prélèvements n'est pas adéquat. Le tableau suivant résume les techniques pouvant être réalisées en fonction du type de conditionnement des biopsies/pièces opératoires

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

	Frais ou Tissuesafe®	Milieu de conservation (RPMI ...)	Congelé	Formol tamponné 4%	Autres fixateurs (AFA ...)
Histologie standard					
Immuno-histochimie					
FISH					
Typage viral					
Biologie moléculaire				variable selon techniques moléculaires	
Cytométrie en flux					

7.1. Histochemie

Les techniques histochemiques sont basées sur des réactions chimiques permettant de voir la morphologie des cellules et des noyaux ainsi que la structure du tissu. La coloration standard est l'HES (Hématoxyline-Eosine-Safran). Des colorations spéciales peuvent mettre en évidence des constituants cellulaires et extra cellulaires (lipides, glucides, protéines, métaux, pigments ...). La liste des colorations disponibles sont indiquées dans l'annexe (chapitre 10).

7.2. Immunohistochemie (IHC)

L'immunohistochemie est fondée sur la révélation d'antigènes spécifiques, présents dans les tissus, par des anticorps couplés à un système de révélation chromogénique ou fluorescent. Cette technique peut être réalisée sur des coupes tissulaires obtenues à partir des blocs de paraffine, sur des coupes tissulaires obtenues à partir de prélèvements congelés ou directement sur une préparation cellulaire cytologique. La liste des anticorps disponibles dans notre service est indiquée dans l'annexe (chapitre 10). Deux techniques sont disponibles : technique uniparamétrique et technique multiparamétrique.

Pour les demandes provenant de laboratoires ACP extérieurs, l'envoi d'un bloc de paraffine est privilégié ou l'envoi de coupes histologiques étalées sur des lames Superfrost plus ou équivalent, d'une épaisseur de 4 microns.

7.3. FISH

L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) est une technique de biologie moléculaire d'hybridation *in situ* utilisant des sondes couplées à un système de révélation par anticorps fluorescents permettant d'identifier des anomalies chromosomiques (amplification, microdélétion, translocation).

Cette technique peut être réalisée sur des coupes tissulaires obtenues à partir des blocs de paraffine (tissus fixés au formol neutre 4% au minimum 6h pour les biopsies et 24h pour les pièces opératoires), sur des coupes tissulaires obtenues à partir de prélèvements congelés ou directement sur une préparation cellulaire cytologique. Cette technique n'est pas compatible avec des tissus fixés en Bouin, sur les biopsies passées dans l'éosine ainsi que pour les prélèvements décalcifiés à l'acide.

Pour les demandes provenant de laboratoires ACP extérieurs, l'envoi d'un bloc de paraffine est privilégié ou l'envoi de coupes histologiques étalées sur des lames Superfrost plus ou équivalent, d'une épaisseur de 3 microns. La liste des sondes disponibles dans notre service est indiquée dans l'annexe (chapitre 10).

7.4. Typage viral (Paris)

La recherche de la présence des virus HPV (Human Papillomavirus) ou MCV (Merkel cell Polyomavirus) dans les prélèvements est basée sur la détection par PCR (Polymerase Chain Reaction) de séquences d'ADN virales.

- Pour HPV, une PCR permettant de détecter spécifiquement les génotypes 16, 18 et 33 est tout d'abord réalisée. La présence d'un autre génotype est recherchée par une PCR dite « consensus » qui utilise les amorces GP5+ et GP6+ dont la partie 3' est commune à plus d'une vingtaine de génotypes (voir annexe, chapitre 10). Les amplicons obtenus peuvent être séquencés par la méthode Sanger pour identifier le génotype amplifié. Cette analyse permet de détecter le génotype HPV majoritaire et n'est pas optimisée pour identifier les génotypes multiples.
- Pour MCV, la détection de ce virus repose sur une PCR utilisant des amorces ciblant spécifiquement 4 régions du génome viral.

Cette technique peut être réalisée sur de l'ADN extrait à partir de coupes tissulaires obtenues à partir des blocs de paraffine, de prélèvements congelés ou d'un culot cellulaire. Cette méthode n'est pas valide pour l'analyse de tissu fixé en Bouin.

Pour les demandes provenant de laboratoires ACP extérieurs, l'envoi d'un bloc de paraffine est privilégié ou bien l'envoi de 6 coupes histologiques de 10 microns étalées sur des lames, zone tumorale cerclée. La technique reste possible si le nombre de lames est inférieur à 6 ou si les lames ne sont pas cerclées, avec un risque d'échec technique (prélèvement non contributif) qui peut augmenter pour les échantillons de petite taille (2 à 5 mm²) et à faible cellularité tumorale.

7.5. Biologie moléculaire somatique

Les techniques de biologie moléculaire disponibles dans le service de génétique (consulter le catalogue des examens du service de génétique, sur le site de l'Institut Curie : <https://curie.fr/>) sont réalisées à partir des acides nucléiques extraits des tissus cryopréservés ou fixés.

Pour les tissus fixés, les extractions sont faites à partir de 5 à 10 coupes épaisses (6µm)

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

8- Transmission des résultats

Les comptes-rendus d'Anatomie et Cytologie Pathologiques ainsi que les comptes-rendus de techniques complémentaires sont validés dans le SGL (Système de Gestion du Laboratoire). La validation entraîne leur diffusion dans le dossier médical informatisé de l'hôpital (ELIOS). Ceux-ci sont envoyés par courrier postal aux médecins correspondants externes.

Les membres du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques sont soumis au respect du secret professionnel. Les résultats pourront être transmis par téléphone aux prescripteurs clairement identifiés par les médecins pathologistes, en cas d'urgence. Enfin, les comptes-rendus peuvent être transmis par messagerie sécurisée cryptée après accord par convention.

9- Délai de rendu des résultats

Les délais moyens indiqués ci-dessous sont donnés à titre indicatif. Ils peuvent être significativement augmentés pour les cas de diagnostic difficile, nécessitant des examens ou des avis complémentaires. Ces délais sont évalués à réception du prélèvement au laboratoire. Pour les cas où le résultat ACP ne pourrait être disponible à la date requise par le prescripteur (difficultés diagnostiques nécessitant un 2^{ème} avis, mise en œuvre de techniques complémentaires), celui-ci sera tenu informé par le médecin pathologiste responsable de l'analyse du(s) prélèvement(s).

TYPE D'EXAMEN	DELAÏ MOYEN DE REPONSE (Jours ouvrés) A RECEPTION DU PRELEVEMENT
Examen extemporané	20 à 30 mn, selon la nature du prélèvement
Biopsies*, ** (diagnostic + marqueurs)	6 jours +/- 2 jours
Pièce opératoire	20 jours +/- 5 jours
Cytologie LCR	Le jour même ou 24h
Cytologie (Liquides biologiques et cytoponctions d'organes)	5 jours +/- 2 jours
Immuno-histochimie ***	5 jours +/- 2 jours
FISH	10 jours +/- 2 jours (après les techniques morphologiques usuelles)
Typage viral	21 jours +/- 2 jours (après les techniques morphologiques usuelles)

* En cas d'urgence, convenue entre le prescripteur et le pathologiste responsable du prélèvement, le résultat pourra être donné dans des délais plus courts.

** Les examens de biopsies pulmonaires nécessitant la mise en œuvre de techniques immuno-histochimiques et moléculaires sont rendus dans un délai de 15 jours +/- 2 jours.

*** Cas provenant de laboratoires ACP extérieurs avec seule demande d'immuno-histochimie.

10- Annexes

10.1. Liste des anticorps pour IHC (IC - 009884)

10.2. Liste des sondes pour FISH (IC - 009886)

10.3. Liste des colorations spéciales (IC – 009885 et IC - 012703)

Procédure applicable sur l'entité Ensemble hospitalier

	Noms (Fonctions)	Dates de signature
Rédacteur(s)	Paul FRENEAUX (Médecin Pathologiste_Paris), Emmanuelle MENET (Médecin Pathologiste_Saint-Cloud)	08/12/2022, 08/12/2022
Valideur(s)	Yves ALLORY (Médecin Pathologiste_Saint-Cloud), Anne SALOMON (Médecin Pathologiste_Paris)	05/01/2023, 02/01/2023
HISTORIQUE DES EVOLUTIONS		
Date	Motif	
25/11/2022	Ajout des interférences dans le paragraphe FISH.	
<p>000 - 04/05/2018 - Création, 001 - 04/04/2019 - Suite au COFRAC en février 2019 (information sur délai de réponse supérieure à la date requise), 002 - 11/03/2020 - Actualisation des horaires et type de contenants. Ajout de la feuille de prescription de demande d'examen complémentaire., 003 - 14/07/2021 - MAJ identité des patients dont les prélèvements proviennent d'un autre laboratoire ou hôpital</p> <p>Ajout du circuit des colorations spéciales pour le site Saint Cloud, 004 - 16/08/2022 - Modification des données du typage viral suite à l'audit interne AI-2021-04 (AC-2021-0276)</p> <p>Modification des données concernant la transmission des résultats suite à l'audit interne AI-2022-02 (AC-2022-107)</p> <p>Mise à jour des contenants utilisés</p> <p>Suppression de l'annexe 1 (liste des médecins)</p>		