

Manuel de prélèvement d'échantillons primaires

Guide du Laboratoire de
Dermatopathologie et de Mycologie
Cutanée



CHU Saint-Pierre
UMC Sint-Pieter

Le CHU Saint-Pierre s'organise sous la forme d'une Association de droit public, régie par la loi du 8 juillet 1976, dont le siège social se situe 322 rue Haute à 1000 Bruxelles.

INTRODUCTION

Depuis le début de l'année, notre laboratoire de dermatopathologie s'est engagé dans une démarche qualité qui respecte les exigences de l'Arrêté Royal du 5 décembre 2011 réglant l'agrément des laboratoires d'anatomie pathologie et dont l'objectif majeur est la maîtrise et la fiabilité des résultats d'analyse.

Cette démarche prend déjà corps à l'étape pré-analytique, puisque certains échecs de diagnostic sont liés à des manquements dans le prélèvement et la préservation des échantillons avant l'arrivée au laboratoire.

26/06/2014

C.H.U. Saint-Pierre ; Laboratoire de Dermatopathologie et de Mycologie Cutanée.

REDACTEURS :

Dr. Josette ANDRE, Responsable du Laboratoire

Dr. Anne THEUNIS, Anatomopathologiste

Didier SALMON, Technologue

Cécile PISCHOUDT, Secrétaire

CHU Saint-Pierre | Site Porte de Hal
Rue Haute 322 - 1000 Bruxelles

CHU Saint-Pierre | Site César De Paepe
Rue des Alexiens 13 - 1000 Bruxelles

www.chusaintpierre.be

Table des matières

Introduction	2
Objet	4
Domaine d'application	4
Définitions et abréviations	4
Présentation du laboratoire	5
Activités du Laboratoire	5
Acheminement des prélèvements	6
Demande d'examens	6
Informations à fournir	6
Laboratoires sous-traitants	7
Cas particulier examens secondaires	8
Transmission au laboratoire	8
Techniques de prélèvement	10
Biopsie cutanée pour microscopie optique	10
Biopsie cutanée pour immunoflorescence	10
Biopsie cutanée pour microscopie électronique	10
Cheveux	11
Ongles	11
Squames /frottis	11

1. OBJET

Ce manuel contient toutes les informations relatives aux traitements des échantillons primaires ainsi qu'aux conditions de fixation et d'acheminement préconisées pour garantir le déroulement optimal des analyses.

Quelque soit la technique appliquée, la qualité du diagnostic dépend de celle du prélèvement effectué. L'objectif du manuel est de permettre de suivre les étapes du processus pré analytique dès que les échantillons sont prélevés.

2. DOMAINE D'APPLICATION

Ce manuel est un document interne et externe mis à la disposition des prescripteurs qui adressent leurs échantillons au Laboratoire de dermatopathologie et de mycologie cutanée du CHU Saint-Pierre.

3. DEFINITIONS ET ABREVIATIONS

Anatomie pathologique : est basée sur l'étude morphologique conventionnelle des prélèvements menée principalement au microscope optique. Les données microscopiques peuvent être complétées par des méthodes telles que immunohistochimie, biologie moléculaire, microscopie électronique.

Pré-analytique : toutes les étapes survenant avant l'analyse elle-même.

Echantillon : matériel humain destiné à l'examen anatomo-pathologique (macroscopie, histologie, immunohistochimie, immunofluorescence, microscopie électronique, biologie moléculaire) et/ou à l'examen mycologique.

LDP - MC : Laboratoire de dermatopathologie et de mycologie cutanée

STP : Saint-Pierre

FE : Formulaire d'enregistrement

4. PRESENTATION DU LABORATOIRE

Localisation

Laboratoire de dermatopathologie
CHU Saint-Pierre - Site porte de Hal
Rue Haute 322 - 1000 Bruxelles

L'accès se fait par l'entrée de la Polyclinique,
129, bd de Waterloo, 8ème étage.

Secrétariat:

Mme Cécile Pishoudt:
Tel: 02 535 43 79 - Fax: 02 535 43 81
cecile_pishoudt@stpierre-bru.be
labodermato@stpierre-bru.be

Responsable:

Dr Josette André : 02 535 43 80
josette_andre@stpierre-bru.be

Numéros de téléphone utiles:

Histologie: 02 535 43 61
Mycologie: 02 535 43 86

Heures d'ouverture:

Lundi au vendredi de 08h30 à 12h30 et de 13h30 à 17h00

4.1. Les activités du Laboratoire

Le laboratoire LDP-MC traite les prélèvements suivants:

- biopsies cutanées
- prélèvements de cheveux
- prélèvements de squames et d'ongles

Le LDP-MC assure les analyses suivantes:

- microscopie optique
- immunofluorescence
- microscopie électronique
- trichogramme
- lumière polarisée
- examen direct et culture mycologiques

5. ACHEMINEMENT DES PRELEVEMENTS

Les prélèvements internes au CHU Saint-Pierre parviennent au laboratoire via les membres du personnel.

Les prélèvements externes au CHU Saint-Pierre parviennent au laboratoire via des navettes entre les hôpitaux ou par courrier.

5.1. Demande d'examens

Chaque prélèvement doit être accompagné d'un formulaire de demande d'examens dûment complété.

- Biopsies cutanées (LDP_FE_0001) : microscopie optique, immunofluorescence, microscopie électronique
- Demandes d'examens combinés (LDP_FE_0002)
 - Biopsies cutanées : microscopie optique, immunofluorescence, microscopie optique
 - Cheveux : trichogramme, lumière polarisée
 - Ongles : examens mycologiques et histologie
 - Squames/frottis : examens mycologiques

NB : Les demandes d'examens sont disponibles au secrétariat du laboratoire de dermatopathologie, ainsi que sur l'intranet Saint-Pierre, sur l'intranet Brugmann et sur le site internet de Saint-Pierre.

5.2. Informations à fournir

La 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.

5.2.1. Identification univoque du patient, de l'échantillon prélevé et du médecin prescripteur

Pour être acceptée, toute demande doit être soigneusement identifiée et contenir au minimum les informations suivantes :

Pour le patient:

- le nom
- le prénom
- la date de naissance
- le numéro national du patient (NISS)
- l'adresse

Pour l'échantillon:

- l'identification du patient et la nature des prélèvements doivent figurer sur le (s) pot (s), et doivent être identiques à celles de la demande.
- la date et le site anatomique d'origine ainsi que la nature de l'examen demandé doivent être précisés.
- une liste précise et numérotée si plusieurs prélèvements.

Pour les biopsies, préciser s'il s'agit de:

- biopsie à visée diagnostique
- mise à plat
- curetage
- biopsie / exérèse

Pour le médecin prescripteur:

- les noms, prénom et numéro INAMI
- le service d'où vient le prélèvement
- les dates et signature
- le ou les destinataire(s) des résultats avec l'adresse exacte

5.2.2. Données cliniques et exposé du problème

Le médecin prescripteur doit préciser le but de l'analyse afin d'orienter le pathologiste dans sa recherche. Les informations cliniques utiles à l'analyse et à l'interprétation des résultats sont :

- les antécédents médicaux et chirurgicaux
- la description des lésions et les traitements éventuels pouvant interférer avec les résultats
- les diagnostics différentiels cliniques

IMPORTANT : Vous comprendrez aisément que certaines non-conformités aux indications reprises ci-dessus sont bloquantes pour l'analyse alors que d'autres permettent l'analyse « sous-réserve ».

5.3. Les laboratoires sous-traitants

Certaines techniques d'analyse sont sous traitées:

- La technique histologie, immunohistochimie, immunofluorescence des biopsies cutanées et la biologie moléculaire sont sous traitées au service d'anatomie pathologique de l'Institut Jules Bordet.
- La cytogénétique est sous traitée au service de génétique de l'Hôpital Erasme.

5.4. Cas particuliers : examens secondaires

Il s'agit d'examens complémentaires demandés par le médecin prescripteur ou par le pathologiste, à visée diagnostique, pronostique ou thérapeutique.

5.4.1. Demande pour examens secondaires sur biopsie cutanée fixée

Il n'existe en pratique pas de délai une fois le prélèvement fixé et traité de façon adéquate.

Il s'agit d'analyse complémentaire par immunoistochimie (ex. récepteurs d'œstrogènes, de progestérone, ..) ou biologie moléculaire (ex. mutation Braf, réarrangement T,...)

Le mode de demande diffère en fonction que l'on soit interne ou externe au laboratoire.

Demande par le clinicien / médecin prescripteur:
Envoi par mail : labodermato@stpierre-bru.be

Demande par le pathologiste du LDP-MC:
via le système informatique du LDP-MC.

5.4.2. Demande d'examens secondaires sur matériel non fixé

Il s'agit de prélèvements pour analyses cytogénétiques (lymphomes).

Il convient de contacter le laboratoire avant le prélèvement.

Le prélèvement doit être acheminé endéans les 24h au service de génétique de l'hôpital Erasme.

Ce prélèvement à frais doit être mis dans une compresse stérile imbibée de sérum physiologique ou mis dans le milieu de transport RPMI.

Le prélèvement peut être envoyé directement à Erasme par le clinicien ou transiter par notre laboratoire.

NB: le LDP ne se charge pas de l'acheminement des prélèvements à frais pour le laboratoire de bactériologie.

5.5. Transmission au laboratoire

Les biopsies cutanées doivent être transportées dans un récipient hermétiquement fermé et propre, muni d'une étiquette comportant l'identification correcte du patient (nom, prénom et date de naissance au minimum).

5.5.1. Microscopie optique

- solution de fixation à base de formol tamponné à 4%
- flacons fournis par le laboratoire
- les prélèvements doivent être immédiatement mis dans le formol
- la quantité de formol tamponné utilisée doit être suffisante pour recouvrir largement l'échantillon dans son entièreté (au moins 2x le volume de la pièce)
- le temps de fixation doit être idéalement compris entre 6h et 48h

ATTENTION : Ne jamais utiliser du bouin comme fixateur

5.5.2. Immunofluorescence

- milieu de transport de Michel
- tubes fournis par le laboratoire avec date de péremption
- les tubes doivent être gardés au frigo à 4°C
- les prélèvements doivent être immédiatement mis dans le milieu de Michel
- transmission au LDP-MC dans les 72h

5.5.3. Microscopie électronique

- fixateur : glutaraldéhyde
- flacons fournis par le laboratoire avec date de péremption
- les flacons doivent être gardés au frigo à 4°C
- les prélèvements doivent être immédiatement mis dans la glutaraldéhyde.
- transmission au LDP-MC idéalement dans les 15 jours

5.5.4. Cheveux

- trichogramme : cheveux collés sur 1 lame en verre par un adhésif de type Micropore®
- lumière polarisée : cheveux entre 2 lames en verre collées ensemble par un adhésif de type Micropore®

5.5.5. Ongles

- Enveloppes pour contenir les prélèvements fournis par le laboratoire

5.5.6. Squames

- entre deux lames en verre collées ensemble par un adhésif de type Micropore®

5.5.7. Frottis

- frottis sec : Le frottis ne doit pas être replongé dans le milieu de gélose mais mis tel quel dans l'emballage d'origine.

Des navettes quotidiennes assurent le relevé des prélèvements entre le LDP-MC du CHU Saint-Pierre et les autres hôpitaux du Département Interhospitalier de Dermatologie (CHU Brugmann, Huderf) et les hôpitaux du réseau Iris (Etterbeek - Ixelles, Molière-Longchamp, Bracops, Baron Lambert).

En cas de prélèvement urgent, il convient de contacter le secrétariat du LDP-MC afin que ce dernier s'assure de la bonne réception du prélèvement.

6. TECHNIQUES DE PRELEVEMENTS

6.1. Biopsie cutanée pour microscopie optique

Les biopsies doivent être fixées immédiatement au formol dans les flacons fournis par le laboratoire. Une fois fixées, leur préservation est assurée.

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

En cas de pathologie bulleuse, le prélèvement doit être fait à cheval peau saine – peau lésée.

Biopsies pour diagnostic d'alopecie : punch de 4 mm et il faut bien préciser sur la demande COUPES HORIZONTALES ET VERTICALES (+ gomme bleue si possible).

6.2. Biopsie cutanée pour immunofluorescence.

Les prélèvements sont effectués idéalement par punch 4 mm et doivent être immédiatement mis dans le milieu de Michel.

En cas de pathologie bulleuse, réaliser le punch en peau péri bulleuse.

6.3. Biopsie cutanée pour microscopie électronique.

Les prélèvements sont effectués idéalement par punch 4 mm et doivent être immédiatement mis dans la glutaraldéhyde.

En cas de pathologie bulleuse, le prélèvement doit se faire à cheval peau saine – peau lésée.

Si pour une pathologie bulleuse, un examen en microscopie optique et un examen en immunofluorescence (ou en microscopie électronique) sont nécessaires, il est préférable de faire 1 punch de 4 mm par analyse plutôt que de couper une ellipse en 2 ou 3.

6.4. Cheveux

Trichogramme :

- prendre les cheveux dans la pince Cocher droite avec griffes renforcées
- Faire 2 prélèvements : frontal et occipital (sauf indication contraire du médecin)
- Plus ou moins 20 à 30 cheveux par zone
- tirer dans le sens des cheveux
- les coller avec un adhésif de type Micropore® sur une lame en verre (ne pas coller sur les racines)
- coller les lames en verre sur le formulaire de demande (• ne pas coller les cheveux)

Lumière polarisée :

- prendre les cheveux avec une pince à la base du cuir chevelu
- couper les cheveux
- les placer entre 2 lames en verre
- coller les deux lames ensemble avec un adhésif de type Micropore® à chaque extrémité
- orienter le prélèvement : proximal / distal
- prélever dans la (les) zone(s) demandée(s) par le médecin (si pas d'indication: zone d'hypotrichose)
- coller les lames en verre sur feuille de demande (• ne pas coller les cheveux)

6.5. Ongles

A l'aide d'une pince stérilisée, découper la tablette unguéale lésée, au plus près du front mycélien, en prélevant, tant que possible la kératine hyponychiale.

Gratter celle-ci, si nécessaire, dans un 2ème temps.

Placer le prélèvement dans l'enveloppe ad hoc.

6.6. Squames / frottis

- Prélever les squames en grattant à l'aide d'une lame de scalpel (lame parallèle à la peau) et mettre les squames entre deux lames en verre solidarisées par un adhésif de type Micropore®.
- Frotter la zone lésée avec le frottis sec. Le frottis ne doit pas être replongé dans le milieu de gélose mais mis tel quel dans l'emballage d'origine.

Departement Mère-Enfant
CHU Saint-Pierre
Rue Haute 322
1000 Bruxelles
www.chusaintpierre.be

Version 09/2014 Ref :



Ed. responsable : Mme Buyck - CHU Saint-Pierre, rue Haute 322 - 1000 Bruxelles