



*ORDRE PROFESSIONNEL DES
TECHNOLOGISTES MÉDICAUX
DU QUÉBEC*

GUIDE D'ANATOMOPATHOLOGIE





GUIDE D'ANATOMOPATHOLOGIE

Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec
281, avenue Laurier Est, Montréal (Québec) H2T 1G2
Tél. : 514-527-9811 – 1-800-567-7763 Téléc. : 514-527-7314
Courriel : info@optmq.org Adresse Internet : www.optmq.org

Dépôt légal – 3^e trimestre 2014
Bibliothèque et Archives nationales du Québec
Bibliothèque et Archives Canada
ISBN : 978-2-9814023-2-5 (version imprimée)
ISBN : 978-2-9814023-3-2 (version PDF)

Reproduction autorisée avec mention de la source et avis à l'OPTMQ

AVANT-PROPOS

Le présent document remplace la deuxième édition des règles normatives « Contrôle de qualité en histopathologie ». Ce guide a été élaboré avec la collaboration de l'Association des pathologistes du Québec.

Afin de remplir son mandat qui est de protéger le public, l'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ) encadre l'exercice de la profession d'une part, par la surveillance générale de celui-ci et d'autre part, par la formation de ses membres. L'OPTMQ s'assure que ses membres conservent leurs compétences et ont accès à des outils appropriés pour les guider dans l'exercice de leurs fonctions.

Les technologistes médicaux doivent posséder les compétences requises pour exercer leur profession. Ces compétences se traduisent par le savoir (les connaissances), le savoir-être (l'éthique), le savoir-faire (la pratique) et le savoir-agir. Pour le technologiste médical, le savoir-agir se manifeste notamment par la capacité d'analyser et d'évaluer le travail à faire, d'en établir l'importance et les priorités, de planifier son travail en conséquence et de prendre les décisions qui s'imposent au moment opportun. Bien que son rôle, sa participation et sa responsabilité varient d'un établissement à l'autre, le technologiste médical doit connaître les politiques et procédures en vigueur à son travail et s'y conformer. L'exercice du jugement professionnel suppose également la capacité d'appliquer les politiques et procédures établies avec toute la rigueur nécessaire ainsi que l'adaptabilité exigée par les circonstances.

Le document intitulé *Les normes de pratique du technologiste médical* énonce les compétences générales que doivent maîtriser les technologistes médicaux ⁽¹⁾. Le présent guide précise les compétences relatives à la pratique de l'anatomopathologie.

Ce guide vise à compléter les connaissances et à améliorer les pratiques des technologistes médicaux. Il collige les renseignements existants afin de renforcer les critères de qualité et de sécurité s'appliquant aux activités et aux analyses réalisées au laboratoire d'anatomopathologie, en vue d'accorder la primauté au bien-être et à la protection du patient et à l'amélioration de la qualité des services dispensés. Ce document rassemble les meilleures pratiques connues à ce jour, évaluées par les experts qui ont participé à son élaboration.

Cet ouvrage ne vise pas à créer de nouvelles obligations non prévues par la loi. Les renseignements qu'il contient ne sont pas exhaustifs et ne remplacent pas la réglementation en vigueur. Compte tenu de l'évolution rapide de la technologie, il fera l'objet de révisions et toute suggestion susceptible d'en améliorer le contenu sera accueillie avec intérêt.

AVANT-PROPOS (suite)

Quand une référence citée dans le présent document n'est pas datée, c'est qu'elle renvoie à la plus récente édition du document. Les hyperliens figurant dans le texte étaient opérationnels quand ce guide a été imprimé. Il est à noter que le titre de « technologiste médical » est considéré invariable et qu'il désigne aussi bien les hommes que les femmes.

La mention d'un fournisseur, d'une entreprise, d'un produit ou d'un service dans ce guide ne signifie pas que l'OPTMQ se porte garant dudit fournisseur, entreprise, produit ou service; de même, le fait de ne pas mentionner un fournisseur, une entreprise, un produit ou un service ne doit pas être interprété comme un désaveu.

Nous remercions sincèrement les organismes et les personnes qui ont collaboré à la révision scientifique de ce document, notamment, l'Association des cytologistes du Québec (Sophie Carbonneau, T.M.), l'Association des pathologistes du Québec (D^r Luc Oligny), l'Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail du secteur affaires sociales (Sylvain LeQuoc), le Bureau du coronar en chef (Dana Deslauriers, avocate), D^r Christian Couture, André Kougioumoutzakos, Élyse Levert, Francine Roy, t.i.m., D^r François Sanschagrin, D^r Bernard Têtu, Josiane Tremblay, ainsi que les technologistes médicaux Louise Beauséjour, Jacinthe Boudreau, Lise Couture, Katty Currie, Élise Desbiens, Suzanne Deschênes Dion, Suzanne Desrosiers, Martin Lamarre, Sergine Lapointe, Alain Leclaire, Doris Levasseur Bourbeau, Caroline Marcoux, Pierre Martineau, Lyne Nadeau, Tochau Nguyen, Yan-Yves Pelletier, Céline Plourde et Steve Sirois.

Nous remercions également la direction des établissements suivants qui ont permis aux membres du groupe de travail en anatomopathologie de participer à des rencontres pendant plus de trois ans afin d'élaborer le présent guide : CSSS les Eskers de l'Abitibi (Hôpital Hôtel-Dieu d'Amos), Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke, Institut national de santé publique du Québec (Laboratoire de santé publique du Québec), CSSS de Trois-Rivières (Centre hospitalier affilié universitaire régional), CHU de Québec (Hôpital de l'Enfant-Jésus) et CSSS Richelieu-Yamaska (Hôpital Honoré-Mercier). Photo de la page couverture : Christine Bourgier, photographie.

Les membres du groupe de travail en anatomopathologie :

Denis Bouchard, T.M.

Martine Chalifoux, T.M.

Louis Gaboury, M.D., pathologiste, président de 2004 à 2012 de l'Association des pathologistes du Québec

Bruno Houde, T.M., vice-président de l'OPTMQ

Cindy Laliberté, T.M.

Anne-Marie Martel, T.M., chargée de dossiers scientifiques de l'OPTMQ

Josée Senécal, T.M.

Chantale Tremblay, T.M.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	III
TABLE DES MATIÈRES.....	V
1.0 INTRODUCTION.....	1
2.0 DOMAINE D'APPLICATION.....	1
3.0 DÉFINITIONS.....	1
4.0 SYSTÈME DE GESTION DE LA QUALITÉ	4
4.1 RESPONSABLE DE LA QUALITÉ.....	5
4.2 CONTRÔLE DES PROCESSUS.....	5
4.2.1 Indicateurs de qualité.....	5
4.2.2 Gestion des achats.....	5
4.3 TRAÇABILITÉ ET PRÉVENTION DES ERREURS	6
4.3.1 Traçabilité du travail effectué	7
4.3.2 Perte d'échantillons	7
4.3.3 Préservation de l'identité du patient sur l'échantillon.....	7
4.3.4 Prévention des erreurs d'identité sur les échantillons.....	7
5.0 MESURES DE SÉCURITÉ.....	8
5.1 AGENTS PATHOGÈNES	9
5.1.1 Tuberculose	9
5.1.2 Maladie de Creutzfeldt-Jakob	10
5.2 ERGONOMIE	10
5.3 PRODUITS CHIMIQUES	11
5.3.1 Formaldéhyde (formol)	11
5.3.1.1 Risque pour la santé.....	11
5.3.1.2 Précautions à prendre durant l'utilisation du formol	12
5.3.1.3 Exposition cutanée ou oculaire au formol.....	12
5.3.1.4 Déversement de formol	12
5.3.2 Toluène	13
5.3.2.1 Risques.....	13
5.3.2.2 Précautions à prendre durant l'utilisation du toluène.....	13
5.3.3 Xylène.....	13
5.3.3.1 Risques.....	13
5.3.3.2 Précautions à prendre durant l'utilisation du xylène.....	13
5.3.4 Éthanol et méthanol	14
5.3.4.1 Risques.....	14
5.3.4.2 Précautions à prendre durant l'utilisation de l'éthanol et du méthanol	14
5.4 RADIOACTIVITÉ	14
6.0 PERSONNEL	15
6.1 FORMATION ET ÉVALUATION DES COMPÉTENCES.....	15
6.2 PROGRAMME DE FORMATION ET ÉVALUATION DES COMPÉTENCES.....	15
7.0 MATÉRIEL DIDACTIQUE ET DE RÉFÉRENCE	16
8.0 LOCAUX ET CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES	16
9.0 GESTION DE LA DOCUMENTATION.....	17
10.0 EXIGENCES PRÉANALYTIQUES	17
10.1 ORDONNANCE MÉDICALE	17
10.2 PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS.....	17
10.2.1 Prélèvement de cellules, de tissus et d'organes destinés à la transplantation	17
10.3 IDENTIFICATION DES ÉCHANTILLONS	18
10.4 CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS.....	18
10.4.1 Tissus fixés au moment de la collecte.....	18
10.4.1.1 Qualité de la fixation	19
10.4.1.2 Recommandations relatives aux tissus traités par méthode immunohistochimique...	20

10.4.2 Tissus frais acheminés au laboratoire	20
10.4.3 Conservation des cellules, des tissus et des organes destinés à la transplantation.....	20
10.5 TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS.....	20
10.5.1 Transport entre deux pavillons d'un même établissement ou à l'intérieur d'un établissement de santé	21
10.5.1.1 Transport par système automatisé (pneumatique).....	21
10.5.2 Transport à l'externe	21
10.5.2.1 Transport de produits chimiques.....	21
10.5.2.2 Transport d'échantillons	22
10.5.2.3 Envoi d'échantillons à un autre laboratoire.....	22
10.6 RÉCEPTION DES ÉCHANTILLONS.....	22
10.6.1 Enregistrement de la réception des échantillons	23
10.6.2 Critères de conformité des échantillons.....	23
10.6.2.1 Identification adéquate de l'échantillon	23
10.6.2.2 Qualité de l'échantillon.....	23
10.6.2.3 Traitement de la demande en cas de non-conformité.....	24
10.6.3 Enregistrement des échantillons dans le système informatique du laboratoire	24
11.0 EXIGENCES ANALYTIQUES.....	24
11.1 MATÉRIEL DE LABORATOIRE	24
11.1.1 Instrumentation.....	24
11.1.2 Réactifs	25
11.1.2.1 Gestion des réactifs	25
11.1.2.2 Notices d'accompagnement	26
11.1.2.3 Vérification du pH.....	26
11.2 ENTRETIEN PRÉVENTIF.....	26
11.3 VALIDATION TECHNIQUE	26
11.4 PROGRAMME DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	26
11.4.1 Contrôle interne de la qualité.....	27
11.4.2 Contrôle externe de la qualité	27
12.0 CRYOTOMIE	28
12.1 EXAMEN MACROSCOPIQUE.....	28
12.2 CONGÉLATION DU TISSU.....	28
12.3 CRYOSTAT.....	28
12.3.1 Température de l'enceinte cryostatique.....	28
12.3.2 Utilisation du cryostat	29
12.3.3 Entretien préventif du cryostat.....	29
12.4 COLORATION DE LA COUPE CONGELÉE	29
12.5 TRAITEMENT DU TISSU APRÈS SA CONGÉLATION	30
13.0 DÉCALCIFICATION.....	30
13.1 AGENT DÉCALCIFANT	30
13.2 VOLUME DE DÉCALCIFANT	31
13.3 OPTIMISATION DE LA DÉCALCIFICATION.....	31
13.4 DURÉE DE LA DÉCALCIFICATION	31
13.5 VÉRIFICATION DE LA FIN DE LA DÉCALCIFICATION	31
13.6 ARRÊT DE LA DÉCALCIFICATION	31
13.7 RENOUVELLEMENT DE LA SOLUTION DÉCALCIFIANTE	31
14.0 CIRCULATION.....	32
14.1 PROGRAMMES DE CIRCULATION.....	32
14.1.1 Post-fixation.....	32
14.1.2 Déshydratation	32
14.1.3 Clarification (éclaircissement)	33
14.1.4 Imprégnation	33

14.2 ENTRETIEN DU CIRCULATEUR	34
15.0 ENROBAGE/INCLUSION	34
15.1 ORIENTATION	34
15.2 STATION D'ENROBAGE	34
15.2.1 Milieu d'enrobage.....	35
16.0 MICROTOMIE	35
16.1 PROCÉDURE DE COUPE AU MICROTOME	35
16.1.1 Rasoir	36
17.0 ÉTALEMENT	36
17.1 BAIN D'ÉTALEMENT	36
17.2 ADHÉSIFS	37
17.3 RÉCUPÉRATION DE LA COUPE TISSULAIRE SUR LAME	37
17.4 SÉCHAGE DE LA LAME	37
18.0 COLORATION DE ROUTINE.....	37
18.1 PRÉPARATION DES RÉACTIFS EN VUE DE LA COLORATION DE ROUTINE	38
18.2 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DE LA COLORATION DE ROUTINE	39
19.0 MONTAGE DES LAMES	39
19.1 MILIEUX DE MONTAGE.....	39
19.2 TECHNIQUES DE MONTAGE	40
19.2.1 Élimination des bulles d'air	40
20.0 COLORATIONS SPÉCIALES	40
20.1 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	41
20.2 DÉCOLORATION DES LAMES COLORÉES	41
20.3 EMPLOI DU FOUR À MICRO-ONDES DANS LE CADRE DE LA COLORATION.....	42
20.4 PARTICULARITÉS DE L'IMPRÉGNATION À L'ARGENT.....	42
21.0 IMMUNOHISTOCHIMIE	42
21.1 CLASSIFICATION DES TESTS IHC	43
21.2 FIXATION.....	43
21.3 CIRCULATION, ENROBAGE, MICROTOMIE ET ÉTALEMENT	43
21.4 DÉCALCIFICATION.....	44
21.5 ÉTAPES DE LA RÉACTION IMMUNOHISTOCHIMIQUE.....	44
21.5.1 Démasquage et restauration antigéniques	44
21.5.2 Blocage de l'activité enzymatique endogène.....	44
21.5.3 Application de l'anticorps	44
21.5.3.1 Anticorps monoclonaux.....	45
21.5.3.2 Anticorps polyclonaux	45
21.5.4 Mise en évidence de l'anticorps	45
21.5.5 Contre-coloration.....	45
21.5.6 Montage de la lame.....	45
21.6 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	45
21.6.1 Matériel de contrôle.....	45
21.6.1.1 Tissu témoin positif.....	46
21.6.1.2 Tissu témoin négatif	46
21.6.1.3 Témoin négatif des réactifs.....	47
21.6.2 Bloc multi-tissus.....	47
21.7 RÉACTIFS UTILISÉS.....	47
21.7.1 Réactifs ou méthodes conçus par le laboratoire	48
21.8 ÉVALUATION DE LA COLORATION IHC.....	48
21.9 AUTOMATISATION	49
21.10 IMMUNOFLUORESCENCE.....	49
21.10.1 Préparation et acheminement du tissu	49
21.10.2 Confection des coupes.....	49

21.10.3 Conservation du tissu non utilisé	49
21.10.4 Montage	50
21.10.5 Contrôle de la qualité	50
22.0 BIOLOGIE MOLÉCULAIRE	50
22.1 PRÉCAUTIONS À OBSERVER DANS LE CADRE DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE.....	50
22.2 TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE.....	51
22.2.1 Hybridation <i>in situ</i>	51
22.2.2 Réaction en chaîne par polymérase.....	52
22.2.2.1 Contrôle de la qualité.....	52
23.0 MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE	52
23.1 FIXATION.....	53
23.2 CIRCULATION DU TISSU	53
23.3 COUPE DU TISSU	53
23.4 ÉTALEMENT.....	53
23.5 COLORATION	53
24.0 TÉLÉPATHOLOGIE.....	54
24.1 APPLICATIONS DE LA TÉLÉPATHOLOGIE.....	54
24.2 CONDITIONS TECHNIQUES	54
24.3 RESPONSABILITÉ DES SITES PARTICIPANTS	55
24.3.1 Site primaire	55
24.3.2 Site secondaire	55
24.4 SÉCURITÉ DES DONNÉES.....	55
25.0 AUTOPSIE	56
25.1 RÉGLEMENTATION RELATIVE À L'AUTOPSIE	56
25.1.1 Conservation du cadavre	56
25.1.2 Autopsie des fœtus et des mort-nés.....	56
25.1.3 Autopsie impliquant l'investigation d'un coroner.....	57
25.2 MÉTHODE D'AUTOPSIE.....	57
25.3 SALLE D'AUTOPSIE.....	57
25.4 PRÉCAUTIONS À PRENDRE PENDANT L'AUTOPSIE	58
25.4.1 Équipement de protection individuelle (ÉPI)	58
25.4.1.1 Vêtements protecteurs	58
25.4.1.2 Gants	59
25.4.1.3 Appareil de protection respiratoire.....	59
25.4.1.4 Protection oculaire	59
25.4.1.5 Casque	60
25.4.1.6 Protection pour les pieds	60
25.4.2 Autres précautions à prendre durant l'autopsie	60
25.5 MESURES À PRENDRE APRÈS L'AUTOPSIE.....	60
25.5.1 Traitement du corps après l'autopsie.....	60
25.5.2 Désinfection.....	61
26.0 EXIGENCES POSTANALYTIQUES	61
26.1 VÉRIFICATION DES LAMES	61
26.2 RAPPORT D'ANATOMOPATHOLOGIE.....	62
26.3 CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS ET DES RAPPORTS D'ANATOMOPATHOLOGIE	62
26.3.1 Conservation du tissu non circulé.....	62
26.3.2 Conservation des blocs et des lames.....	62
26.4 ÉLIMINATION DES ÉCHANTILLONS.....	62
26.4.1 Élimination du tissu non circulé.....	63
26.4.2 Élimination des blocs de paraffine et des lames	63
ANNEXE 1 INDICATEURS DE QUALITÉ AU LABORATOIRE D'ANATOMOPATHOLOGIE	64
ANNEXE 2 MÉTHODES D'AUTOPSIE.....	65

ANNEXE 3 CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS ET DE LA DOCUMENTATION	66
BIBLIOGRAPHIE.....	68
COMMENTAIRES.....	76

1.0 Introduction

Le laboratoire d'anatomopathologie joue un rôle essentiel dans le diagnostic, le pronostic et le suivi des cancers et d'autres états pathologiques. Il s'acquitte de ce rôle en menant l'examen macroscopique, microscopique et moléculaire de pièces de biopsie ou de tissus prélevés dans le cadre d'interventions chirurgicales ou d'autopsies.

Au cours des dernières années, les méthodes immunologiques et moléculaires appliquées en anatomopathologie ont fait l'objet de grandes innovations. En revanche, par comparaison avec les autres secteurs de la biologie médicale, l'assurance qualité ne s'est taillé une place que tout récemment au laboratoire d'anatomopathologie.

Malgré les progrès technologiques réalisés, la meilleure partie du travail en anatomopathologie repose sur des méthodes manuelles. Il faut uniformiser et encadrer ces méthodes afin d'assurer que le personnel du laboratoire est convenablement outillé pour faire face aux défis posés par ce travail.

L'objectif de ce guide est d'assurer un résultat de qualité, représentatif de l'état du patient, pour favoriser l'établissement de diagnostics fiables et un suivi adéquat.

2.0 Domaine d'application

Le présent guide traite de la majorité des activités qui se déroulent au laboratoire d'anatomopathologie, notamment la réception et la fixation des échantillons, la cryotomie, la préparation des tissus en vue de l'examen microscopique, les techniques histochimiques, immunologiques et moléculaires, ainsi que l'autopsie et la télépathologie.

L'examen macroscopique n'est pas traité dans ce guide. Un guide incluant une liste des échantillons, leur description macroscopique, leur dissection et leur échantillonnage sera publié ultérieurement par l'OPTMQ.

Les techniques appliquées en cytologie ne sont pas traitées dans ce guide.

3.0 Définitions

Assurance de la qualité	Large concept qui couvre tout ce qui peut influencer sur la qualité d'un produit. Ensemble des mesures prises pour assurer que les produits réalisés ont la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés ⁽²⁾ .
Contrôle de la qualité	Activités permettant de vérifier qu'un produit, processus ou service respecte les exigences appropriées ⁽³⁾ .
Coupes à niveaux	Coupes de tissu séquentielles, non consécutives, faites à des profondeurs variées dans un bloc de paraffine ⁽⁴⁾ .

Coupes sériées	Coupes de tissu séquentielles et consécutives d'épaisseur uniforme et prédéterminée, faites dans un bloc de paraffine ⁽⁴⁾ .
Échantillon	Partie du corps ou parties d'une structure anatomique prélevées aux fins d'analyses ⁽⁵⁾ . Peut également être un corps étranger retiré au cours d'une intervention chirurgicale et expédié au laboratoire d'anatomopathologie.
Exactitude	Degré de concordance entre le résultat analytique obtenu et le résultat attendu ⁽⁶⁾ .
Examen extemporané	Examen histologique effectué dès la réception du tissu par le laboratoire, souvent au cours d'une intervention chirurgicale, dont les résultats immédiats peuvent orienter la suite de l'intervention ou les traitements suivants ⁽⁷⁾ .
Fragment	Dans ce document et au sens anatomopathologique, pièce de biopsie ou partie d'une structure anatomique prélevée (échantillonnée). Note : le terme « échantillon » est parfois utilisé pour désigner le fragment.
Non-conformité	Défaut de se conformer à une exigence établie ⁽⁸⁾ .
Pièce anatomique	Dans ce document et au sens anatomopathologique, terme désignant une ou plusieurs parties d'une structure anatomique prélevées. Peut être un organe, une partie d'organe ou une pièce de biopsie. Note : le terme « échantillon » est parfois utilisé pour désigner la pièce anatomique.
Politique	Énoncé ou écrit qui indique clairement la position et les valeurs de l'organisme en ce qui concerne un sujet donné ⁽³⁾ .
Précision	Capacité d'une méthode d'analyse de reproduire plusieurs fois le même résultat lors de mesures multiples d'une même grandeur ⁽⁶⁾ .
Prion	Particule infectieuse constituée d'une molécule protéique autorépliquable et dépourvue d'acide nucléique qui est responsable des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles ⁽⁷⁾ .
Procédure	Documentation et instructions techniques expliquant toutes les étapes à suivre pour réaliser une activité. Les expressions <i>procédure opératoire normalisée (PON)</i> et <i>procédure documentée</i> peuvent également être utilisées ⁽⁵⁾ .

Processus	Ensemble des activités interdépendantes ou étroitement liées dont l'exécution transforme des éléments d'entrée en éléments de sortie ⁽⁸⁾ .
Processus préanalytique	Série d'étapes débutant par l'ordonnance médicale, la préparation du patient, le prélèvement, la stabilisation, l'acheminement et la réception de l'échantillon au laboratoire et se terminant avec le début du processus analytique ⁽⁵⁾ .
Processus analytique	Série d'étapes qui comprennent la transformation et l'analyse de l'échantillon aux fins de mesure ou de détection d'analytes ou de dépistage de maladies.
Processus postanalytique	Série d'étapes qui suivent l'analyse et comprennent la revue des résultats, la validation, la transmission et l'archivage du rapport d'anatomopathologie, ainsi que l'entreposage des échantillons examinés ⁽⁵⁾ .
Qualité	Degré d'excellence ou mesure dans laquelle un établissement répond aux besoins et aux attentes des clients tout en respectant les normes généralement reconnues ⁽³⁾ .
Rabotage	Action d'exposer adéquatement le tissu avant d'en faire la coupe.
Rasoir	Instrument utilisé en microtomie, servant à couper des tranches de tissus sur un microtome. Note : quoique les termes <i>couteau</i> et <i>lame</i> servent souvent à désigner cet instrument, nous avons retenu le terme <i>rasoir</i> dans le présent document afin d'éviter toute confusion avec les lames de verre sur lesquelles les sections de tissus sont déposées et les couteaux utilisés dans le cadre de la macroscopie.
Seuil de détection (sensibilité)	Concentration en dessous de laquelle un élément ne peut être décelé à l'analyse ⁽⁷⁾ .
Spécificité	Capacité d'une analyse à doser de manière sélective l'élément recherché ⁽⁹⁾ .
Système de gestion de la qualité	Ensemble des activités de planification, de direction, de contrôle et d'assurance de la qualité destinées à assurer ou à maintenir la qualité.
Tissu	Dans ce document et au sens anatomopathologique, structure formée de divers éléments anatomiques (cellules et liquide biologique) de source humaine ou commerciale ⁽⁷⁾ . Note : les termes « spécimen » ou « échantillon » sont parfois utilisés pour désigner le tissu.

Traçabilité	« Aptitude à retrouver l'historique, la mise en œuvre ou l'emplacement de ce qui est examiné. » ⁽⁸⁾ ISO 9000 : 2005, 3.5.4.
Validation	« Confirmation par des preuves tangibles que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévues ont été satisfaites. » ⁽⁸⁾ ISO 9000 : 2005, 3.8.5.
Vérification	« Confirmation par des preuves tangibles que les exigences spécifiées ont été satisfaites. » ⁽⁸⁾ ISO 9000 : 2005, 3.8.4.
Signification des termes « doit », « devrait » et « peut » :	
Doit :	Dans le présent document, le verbe <i>devoir</i> à l'indicatif désigne l'obligation de respecter ou d'appliquer les exigences prescrites, soit parce qu'elles sont requises par la réglementation en vigueur ou parce qu'elles ont trait à une compétence que doit posséder le technologiste médical. L'expression <i>il faut</i> a le même sens.
Devrait :	Dans le présent document, le verbe <i>devoir</i> au conditionnel signifie que l'énoncé s'appuie sur des faits scientifiques et qu'il est recommandé de le respecter ou de l'appliquer. L'expression <i>il faudrait</i> a le même sens.
Peut :	Dans le présent document, le verbe <i>pouvoir</i> signifie que l'énoncé est considéré comme valable et que son application est souhaitable.

4.0 Système de gestion de la qualité

Depuis 2005, le ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec oblige tous les laboratoires de biologie médicale à se conformer aux exigences de la norme ISO 15189 : *Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence* ⁽⁵⁾. La vérification de cette conformité est assurée par un organisme d'agrément reconnu et intégrée au processus d'agrément des établissements de soins de santé ⁽¹⁰⁾.

Ce guide présente certaines exigences tirées de la norme ISO 15189-12 afin d'informer le lecteur des points applicables à l'anatomopathologie. Toutefois, il n'entend pas être une interprétation de cette norme; pour en savoir plus, le lecteur doit se référer à la dernière édition de la norme ainsi qu'à toute exigence du processus d'agrément des laboratoires.

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire met en place un système de gestion de la qualité afin d'assurer la qualité de tous les processus préanalytiques, analytiques et postanalytiques. Ce système couvre toutes les étapes du processus, de l'ordonnance médicale de l'analyse à l'acheminement et à l'archivage du rapport d'anatomopathologie ⁽⁵⁾.

Pour de plus amples renseignements sur les systèmes de gestion de la qualité, veuillez consulter les documents suivants :

- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *ISO 15189 :2012(F) Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*, troisième édition, 2012⁽⁵⁾;
- ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*⁽¹¹⁾.

4.1 Responsable de la qualité

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, la direction du laboratoire désigne au moins une personne responsable de la qualité qui veillera à l'application, au suivi et à la mise à jour des exigences définies dans le système de gestion de la qualité^{(5) (11) (12)}. Le service de biologie médicale peut nommer un responsable de la qualité ainsi que des adjoints pour chaque secteur d'activité; par ailleurs, chaque secteur peut nommer son propre responsable.

4.2 Contrôle des processus

Le système de gestion de la qualité inclut la mise en place de mesures de contrôle à toutes les étapes des processus préanalytiques, analytiques et postanalytiques. Ces mesures comprennent notamment la gestion des cas non conformes, des incidents et des accidents, des mesures correctives et préventives, des indicateurs de qualité, des audits et des achats^{(5) (11)}.

Pour vous renseigner davantage sur la gestion des cas non conformes, des incidents et des accidents, des mesures correctives et préventives et des audits, veuillez consulter les documents suivants :

- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *ISO 15189 :2012(F) Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*, troisième édition, 2012⁽⁵⁾;
- ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*⁽¹¹⁾.

4.2.1 Indicateurs de qualité

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, la direction du laboratoire d'anatomopathologie met en place des indicateurs de qualité ciblés permettant de surveiller et d'évaluer de façon systématique la contribution du laboratoire aux soins prodigués au patient. Ces indicateurs servent à cerner des occasions d'améliorer les processus⁽⁵⁾.

L'annexe 1 présente quelques exemples d'indicateurs de qualité qui pourraient s'appliquer au laboratoire d'anatomopathologie.

4.2.2 Gestion des achats

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, les processus de réception, de rejet et d'entreposage des consommables susceptibles d'influer sur la qualité des prestations doivent être conformes aux politiques et procédures émises par la direction du laboratoire⁽⁵⁾.

L'équipement acheté et les consommables qui ont une incidence sur la qualité du service ne sont pas utilisés avant d'avoir fait l'objet d'une vérification conforme aux spécifications ou aux exigences normatives définies pour les procédures concernées ⁽⁵⁾.

Le laboratoire évalue les fournisseurs de réactifs, de fournitures et de services critiques qui influent sur la qualité des analyses. Il conserve les enregistrements de ces évaluations et rédige la liste des fournisseurs approuvés ⁽⁵⁾.

4.3 Traçabilité et prévention des erreurs

Le laboratoire d'anatomopathologie est très exposé à des erreurs d'identification d'échantillons en raison des nombreuses étapes comprises dans ses processus.

En effet, l'échantillon subit de nombreuses modifications, et plusieurs intervenants différents doivent veiller à préserver son identification à toutes les étapes du processus de transformation, dont les suivantes ⁽¹³⁾ :

- le prélèvement;
- la saisie de données;
- la description macroscopique;
- la mise en cassette;
- l'inclusion dans un bloc de paraffine;
- le transfert sur une lame;
- l'interprétation;
- la transcription des résultats.

Une erreur d'identification peut survenir à n'importe laquelle de ces étapes. Une telle erreur peut avoir des conséquences désastreuses pour la santé du patient, pouvant aller de la reprise de la collecte de l'échantillon à des interventions chirurgicales et médicales non nécessaires, en passant par des retards de diagnostic de maladies qui peuvent mettre la santé du patient en péril ⁽¹³⁾.

Il est primordial d'établir des mécanismes pour détecter ces erreurs avant l'émission du rapport d'anatomopathologie ainsi que des processus qui permettront au laboratoire d'en réduire la fréquence au minimum.

4.3.1 Traçabilité du travail effectué

D'après les normes reconnues en matière d'assurance qualité, il faut mettre en place un système permettant de retracer toutes les étapes qui mènent au rapport d'anatomopathologie et de cerner qui a fait quoi et quand ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁵⁾. À cette fin, le technologiste médical date et paraphe ou appose sa signature électronique ou manuscrite lorsqu'il intervient au laboratoire d'anatomopathologie, qu'il s'agisse de mesures d'entretien, de contrôle de qualité, de vérification, de description, d'observation, de renouvellement des solutions ou de toute autre étape qu'il importe de documenter. Il consigne le résultat de son intervention quand cela est exigé, investigate toute discordance ou tout écart, et apporte les correctifs nécessaires ⁽¹⁾.

Ce système est important quand il faut établir à quelle étape une erreur s'est produite afin de corriger celle-ci et de prendre les mesures nécessaires pour éviter de la reproduire.

4.3.2 Perte d'échantillons

La perte d'échantillons peut survenir, par exemple, quand plusieurs petits fragments présents dans un même récipient sont transférés en cassette. Il faut établir une procédure afin de s'assurer de l'exactitude du nombre de fragments à chaque étape du processus ⁽¹⁶⁾.

4.3.3 Préservation de l'identité du patient sur l'échantillon

L'identité du patient doit être préservée sur le support ou le contenant de l'échantillon à toutes les étapes du processus. On doit être particulièrement attentif à cette exigence s'il faut transcrire l'identité sur un nouveau support (p. ex., du bloc à la lame) ⁽¹⁷⁾.

Il est fortement recommandé d'établir un système d'identification à deux identifiants afin d'éviter que la transcription erronée d'un chiffre compromette l'identité de l'échantillon. Bien que l'on utilise souvent deux identifiants numériques par manque d'espace, l'utilisation des nom, prénom et numéro d'identification unique propre au patient demeure le moyen le plus efficace d'éviter ces erreurs ⁽¹⁸⁾.

4.3.4 Prévention des erreurs d'identité sur les échantillons

Durant la mise en place des procédures visant à éviter les erreurs d'identification, les points suivants devraient être considérés ⁽¹⁶⁾ :

- utiliser deux identifiants (voir le point 4.3.3);
- réduire au minimum les distractions pendant toute opération de transcription ou de vérification de l'identité de l'échantillon;
- éviter de procéder à l'enregistrement et à la description consécutive d'échantillons semblables;
- décrire en détail le nombre et la grosseur des fragments;

- utiliser de l'encre de couleur différente afin de différencier les échantillons de tissus semblables dans une même série⁽¹⁹⁾;
- utiliser un système de code-barres afin d'uniformiser les données inscrites sur le récipient et d'éviter les erreurs dues à une écriture illisible. Il faut également s'assurer que l'étiquette est apposée sur le bon récipient.

En cas de doute sur l'identité d'un échantillon, on peut envisager l'analyse d'ADN en dernier recours, quand toutes les procédures de vérification se révèlent infructueuses et que la vie du patient est en danger⁽¹⁹⁾.

5.0 Mesures de sécurité

La *Loi sur la santé et la sécurité du travail* établit des exigences de sécurité pour l'employeur et le travailleur⁽²⁰⁾. Cette Loi traite de sujets tels que la formation exigée en matière de santé et de sécurité et l'information que l'employeur doit mettre à la disposition du personnel. Il incombe au technologiste médical de prendre connaissance du programme de prévention qui le concerne et de tous renseignements transmis par l'employeur, et de participer aux activités de formation qui lui sont offertes⁽¹⁾.

Le technologiste médical doit exercer sa profession de façon sécuritaire. Il doit adopter les mesures nécessaires afin d'assurer sa protection et celle des autres, et il doit utiliser le matériel et les équipements de façon sécuritaire⁽¹⁾.

Des mesures de sécurité supplémentaires s'appliquent à la microtomie, à la cryotomie et aux autopsies. Le lecteur peut consulter les sections qui traitent de ces sujets pour obtenir un complément d'information sur le comportement sécuritaire à adopter lors de ces activités.

Pour se renseigner davantage sur les mesures de sécurité à respecter au laboratoire de biologie médicale, le lecteur peut se référer aux documents suivants :

- *Loi sur la santé et la sécurité du travail*⁽²⁰⁾;
- *Règlement sur la santé et la sécurité du travail*⁽²¹⁾;
- *La sécurité au laboratoire - Directives de la SCSLM*, septième édition, 2012⁽²²⁾;
- *CAN/CSA-Z15190-05 Medical laboratories - Requirements for safety (Laboratoires de médecine - Exigences pour la sécurité)*, 2005⁽²³⁾;
- AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA ET AGENCE CANADIENNE D'INSPECTION DES ALIMENTS, *Normes et lignes directrices canadiennes sur la biosécurité*, 2013⁽²⁴⁾.

5.1 Agents pathogènes

Il faut prendre des précautions pour protéger le personnel de l'exposition aux agents pathogènes. Ces agents pathogènes peuvent se trouver dans les tissus frais ou fixés même s'ils sont la plupart du temps inactivés à l'étape de fixation ⁽²⁵⁾. Santé Canada a publié les documents suivants qui traitent des exigences relatives à la manipulation d'échantillons : *Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les établissements de santé* ⁽²⁶⁾ et *Guide de prévention des infections : Lavage des mains, nettoyage, désinfection et stérilisation dans les établissements de santé* ⁽²⁷⁾. Ces documents peuvent être consultés aux adresses suivantes :

http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/99vol25/25s4/index_f.html

<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/98pdf/cdr24s8f.pdf>

L'Agence de la santé publique du Canada a produit des fiches techniques santé-sécurité : agents pathogènes (FTSSP), anciennement *Fiches Techniques Santé/Sécurité*, dans lesquelles sont décrites les propriétés dangereuses des agents pathogènes pour les humains ainsi que des recommandations pour le personnel qui manipule ces agents en laboratoire. Ces fiches peuvent être consultées à l'adresse suivante : <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/index-fra.php>.

De plus, la surface externe de tout récipient, que son contenu soit fixé ou non, devrait être considérée comme potentiellement contaminée ⁽²⁸⁾.

Suivant les pratiques de base et précautions additionnelles (qui englobent les précautions universelles), tout échantillon doit être considéré comme potentiellement infectieux ⁽²²⁾. Cependant, il serait souhaitable que les renseignements cliniques fournis sur l'ordonnance médicale incluent la suspicion ou le diagnostic d'une maladie transmissible pour que l'on puisse prendre des précautions supplémentaires ⁽²⁹⁾.

5.1.1 Tuberculose

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par un microorganisme appelé *Mycobacterium tuberculosis*. Ce bacille infecte généralement les poumons, mais il peut contaminer d'autres organes. Il peut être présent dans les crachats, le liquide de lavage gastrique, le liquide céphalorachidien, l'urine et les lésions touchant divers tissus. ⁽³⁰⁾

Les bacilles peuvent se propager dans des aérosols produits durant les manipulations nécessaires à la description macroscopique d'un tissu frais, à la préparation de coupes en congélation et à l'éviscération. Ils peuvent aussi survivre dans des frottis fixés par la chaleur ⁽³⁰⁾. En vertu des normes et des lignes directrices sur la biosécurité de l'Agence de la santé publique du Canada et de l'Agence canadienne d'inspection des aliments, il faut utiliser une enceinte de sécurité biologique durant les activités pouvant produire des aérosols infectieux ou des toxines aéroportées, lorsqu'il est impossible de confiner la production d'aérosols par d'autres moyens ⁽²⁴⁾.

Comme *Mycobacterium tuberculosis* est très résistant aux désinfectants, il faut l'exposer longtemps à ces produits. Il faut consulter les fiches techniques santé-sécurité : agents pathogènes (F7SSP) de l'agence de la santé publique du Canada pour connaître quels désinfectants sont efficaces contre le *Mycobacterium tuberculosis* ⁽³⁰⁾. L'agence de la santé publique du Canada (avec la Société canadienne de thoracologie et l'Association pulmonaire du Canada) a également publié des *Normes canadiennes pour la lutte antituberculeuse* qui traitent de la manipulation de cet agent par le personnel de laboratoire ⁽³¹⁾. Ces normes sont disponibles à l'adresse suivante :

<http://www.respiratoryguidelines.ca/node/351>.

Note : Le formol à 10 % tamponné est considéré comme un agent de désinfection efficace contre *Mycobacterium tuberculosis* ⁽³²⁾. Le risque de contamination des tissus fixés dans ce produit est donc présumé faible. À ce jour, aucun cas d'infection à *Mycobacterium tuberculosis* acquise en laboratoire durant la manipulation de tissus fixés au formol à 10 % tamponné n'a été rapporté ^{(29) (32) (33) (34)}.

5.1.2 Maladie de Creutzfeldt-Jakob

La maladie de Creutzfeldt-Jakob est une forme d'encéphalopathie spongiforme transmissible (EST; aussi connue sous le nom de maladie à prions). Les prions posent un danger, car ils demeurent infectieux pendant des années dans des conditions de sécheresse et qu'aucune des méthodes de stérilisation, de désinfection et de fixation courantes ne permet de les détruire ⁽³⁵⁾.

Santé Canada a produit un document intitulé *Guide de prévention des infections, La maladie de Creutzfeldt-Jakob classique au Canada* ⁽³⁵⁾. Il faut consulter ce guide, accessible à l'adresse <http://dsp-psd.tpsgc.gc.ca/Collection/H12-21-3-28-5F.pdf>, pour connaître les précautions à respecter durant la manipulation des échantillons provenant de patients pouvant être atteints d'EST. Un guide de consultation rapide produit par l'agence de la santé publique du Canada ⁽³⁶⁾ apporte quelques précisions à ce document et peut être consulté à l'adresse suivante : www.phac-aspc.gc.ca/nois-sinp/pdf/cjd-fra.pdf.

5.2 Ergonomie

Il faudrait effectuer une analyse des tâches afin d'évaluer la méthode de travail actuelle, les changements à apporter ainsi que les problèmes liés aux mouvements répétitifs. Les considérations d'ordre ergonomique devraient faire partie de la politique d'achat du matériel. La conception physique de l'environnement de travail exige que l'on s'attarde aux différences physiques des employés susceptibles d'y travailler. L'acquisition d'équipement et d'appareils réglables peut être une option intéressante. L'équipement permettant d'automatiser les mouvements répétitifs devrait être privilégié.

L'ASSTSAS (Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail dans le secteur affaires sociales) a créé des fiches techniques pour le travail de macroscopie et le travail au microtome qui peuvent être consultées sur son site à l'adresse suivante^{(37) (38)} :

<http://www.asstsas.qc.ca/publications/repertoire-de-nos-publications.html#Results>.

5.3 Produits chimiques

Le technologiste médical doit consulter la fiche signalétique de chaque produit chimique utilisé au laboratoire afin de connaître les risques, incompatibilités et précautions particulières liés à l'emploi de tels produits⁽²⁰⁾.

Les produits chimiques et le matériel imprégné de produits chimiques doivent être éliminés conformément au *Règlement sur les matières dangereuses*⁽³⁹⁾. Ce règlement interdit le déversement des matières dangereuses dans les égouts.

Certaines des caractéristiques des produits fréquemment utilisés sont présentées ci-dessous. Toutefois, la lecture de ces renseignements ne remplace pas la consultation des fiches signalétiques accessibles au lieu de travail.

5.3.1 Formaldéhyde (formol)

Le formol (ou formaline) est une solution aqueuse contenant entre 37 et 40 % de formaldéhyde. On s'en sert principalement en solution à 10 % afin de fixer les tissus^{(40) (41)}.

5.3.1.1 Risque pour la santé

Le formaldéhyde peut pénétrer dans l'organisme par les voies respiratoires ou par contact cutané direct (solution aqueuse).

Il est fortement irritant pour les yeux et la peau ainsi que pour les voies respiratoires. Une exposition prolongée aux vapeurs peut provoquer des symptômes asthmatiformes, une conjonctivite, une laryngite, une bronchite ou une bronchopneumonie. L'exposition prolongée peut également entraîner une sensibilisation par contact cutané. Le formaldéhyde peut avoir des effets nocifs irréversibles et est classé substance cancérogène pour l'humain^{(41) (42)}.

5.3.1.2 Précautions à prendre durant l'utilisation du formol

- En vertu de la *Loi sur la santé et sécurité du travail*, l'établissement doit s'assurer que la quantité de formaldéhyde présente dans l'air du laboratoire ne dépasse pas le niveau d'exposition admissible établi ⁽²⁰⁾. Au Québec, la valeur plafond (valeur à ne jamais dépasser en situation de travail pour quelque durée que ce soit) des concentrations admissibles dans l'air est présentement de deux parties par million (ppm) ⁽⁴³⁾. Il faut vérifier la teneur de l'air en formaldéhyde quand des modifications sont apportées aux méthodes de travail ⁽⁴⁰⁾.
- S'assurer de l'efficacité de la ventilation. Pour que la ventilation soit suffisante, le volume d'air total doit être filtré (renouvelé) six fois par heure et remplacé par de l'air extérieur (air frais) deux fois par heure ^{(40) (44)}.
- Porter l'équipement de protection individuelle approprié (gants imperméables au formol, lunettes de sécurité, écran facial ou appareil respiratoire) ⁽⁴⁵⁾.
- Réaliser le travail dans une zone d'aspiration adéquate (en particulier pour préparer des solutions, remplir des récipients, éliminer et neutraliser le formol) ^{(40) (45)}.
- S'assurer que tous les récipients sont fermés hermétiquement afin d'éviter les fuites, les déversements et l'exposition aux vapeurs ⁽⁴⁵⁾.

5.3.1.3 Exposition cutanée ou oculaire au formol

Une exposition cutanée ou oculaire au formol peut survenir lors d'un déversement accidentel, du bris d'un récipient, d'une éclaboussure ou de toute manœuvre non sécuritaire.

Si la peau a été exposée au formol, elle doit être immédiatement et abondamment rincée à l'eau. Si l'exposition est plus étendue, la douche d'urgence peut être nécessaire. Si l'œil a été exposé au formol, il faut le rincer à l'eau sous fontaine oculaire pendant au moins 15 minutes. Une consultation médicale est recommandée ^{(22) (46)}.

5.3.1.4 Déversement de formol

En cas de déversement de formol, la procédure d'intervention sécuritaire doit être fondée sur l'étendue du déversement, les risques d'exposition pour le personnel et les mesures de sécurité à adopter ⁽⁴⁶⁾.

5.3.2 Toluène

5.3.2.1 Risques

Le toluène est un solvant très inflammable dont le point d'éclair est de 4 °C; ses vapeurs peuvent facilement s'enflammer en présence d'une source de chaleur ou d'une étincelle. Une exposition prolongée à ce produit considéré toxique cause l'irritation des yeux, des muqueuses et de la peau.^{(4) (42)}

Il faut manipuler le toluène dans un endroit bien ventilé pour éviter l'accumulation de vapeurs en concentration explosive. Les mesures de réduction du risque d'inflammation et d'explosion doivent être conformes aux articles 52 et 53 du *Règlement sur la santé et la sécurité du travail* ⁽²¹⁾.

5.3.2.2 Précautions à prendre durant l'utilisation du toluène

Les récipients doivent être hermétiquement fermés et tenus à distance de toute source d'inflammation. Il faut mettre à la terre les récipients métalliques afin d'éviter les décharges d'électricité statique ⁽²¹⁾ et ranger ces récipients à l'abri des agents oxydants ^{(4) (42)}. Porter l'équipement de protection individuelle approprié (gants de nitrile, lunettes de sécurité ou écran facial) et éviter d'inhaler les vapeurs.

5.3.3 Xylène

5.3.3.1 Risques

Le xylène est un liquide inflammable dont le point d'éclair se situe entre 27 et 32 °C. Il est également considéré toxique ^{(4) (42)}. Le xylène peut contenir une impureté, l'éthylbenzène, pouvant être cancérogène chez l'humain ⁽⁴²⁾.

5.3.3.2 Précautions à prendre durant l'utilisation du xylène

L'utilisation du xylène exige les mêmes précautions que celle du toluène ^{(4) (21) (42)}.

5.3.4 Éthanol et méthanol

5.3.4.1 Risques

L'éthanol et le méthanol sont des alcools très inflammables ⁽⁴²⁾. Le méthanol est modérément irritant pour les yeux et faiblement irritant pour la peau. Ses vapeurs sont irritantes pour les yeux et les voies respiratoires supérieures ⁽⁴⁷⁾.

5.3.4.2 Précautions à prendre durant l'utilisation de l'éthanol et du méthanol

Les récipients doivent être hermétiquement fermés et tenus éloignés de toute source d'inflammation (chaleur ou étincelle). Il faut mettre à la terre les récipients métalliques afin d'éviter les décharges d'électricité statique ⁽²¹⁾.

Manipuler ces produits dans un endroit bien ventilé afin d'empêcher l'accumulation de vapeurs en concentration explosive. Les mesures de réduction du risque d'inflammation et d'explosion doivent être conformes aux articles 52 et 53 du *Règlement sur la santé et la sécurité du travail* ⁽²¹⁾.

Porter l'équipement de protection individuelle approprié (gants, lunettes de sécurité ou écran facial). Travailler sous une hotte ou dans un endroit bien ventilé ⁽⁴²⁾.

5.4 Radioactivité

Dans certains cas (p. ex., recherche de ganglions sentinelles ou traitement à l'iode radioactif des troubles thyroïdiens), des substances radioactives peuvent avoir été administrées au patient, avoir gagné ses tissus et y être encore présentes à leur arrivée au laboratoire. En général, ces substances radioactives sont injectées en très petite quantité et ont une demi-vie souvent très courte. Les tissus devraient donc contenir très peu de radioactivité ⁽²⁹⁾.

Il faut manipuler les tissus radioactifs dans une zone ventilée, en se tenant à une distance de travail raisonnable et en limitant la durée de l'exposition aux besoins de l'analyse. Si des quantités importantes de matériel radioactif sont reçues au laboratoire, des précautions supplémentaires peuvent être nécessaires ^{(22) (48)}.

6.0 Personnel

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, la direction du laboratoire s'assure de la présence d'un nombre suffisant de personnes ayant la formation et la compétence nécessaires pour fournir des services de laboratoire qui répondent aux besoins et aux exigences des utilisateurs ⁽⁵⁾. Certaines activités effectuées au laboratoire d'anatomopathologie sont réservées aux membres d'ordres professionnels. L'attribution des tâches dans le laboratoire doit être conforme à la réglementation en vigueur ⁽⁴⁹⁾.

6.1 Formation et évaluation des compétences

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, un programme de formation continue doit permettre d'assurer le maintien des compétences du personnel travaillant au laboratoire ⁽⁵⁾.

Une formation suivie d'une évaluation des connaissances acquises devrait être effectuée ⁽⁵⁰⁾ :

- à l'embauche;
- à l'entrée en vigueur d'une nouvelle procédure;
- au retour d'un congé prolongé;
- de façon périodique.

Si des lacunes sont cernées, les mesures appropriées devraient être prises ⁽⁵⁰⁾.

Les membres d'ordres professionnels doivent se conformer au programme de formation continue de leur ordre respectif. Pour les technologistes médicaux, la formation continue est obligatoire ⁽⁵¹⁾.

6.2 Programme de formation et évaluation des compétences

Les points suivants, entre autres, peuvent servir de base au programme de formation et d'évaluation des compétences du personnel travaillant en anatomopathologie ⁽⁵⁰⁾ :

- connaissance des procédures en vigueur au laboratoire d'anatomopathologie;
- démonstration de l'application des procédures à toutes les étapes du processus où le membre du personnel participe;
- connaissance des précautions à prendre durant la manipulation des échantillons et des produits chimiques dans le cadre du travail;
- connaissance de la théorie qui sous-tend la pratique (p. ex., causes possibles de résultats erronés, principes de réactions chimiques);
- participation aux contrôles internes et externes de la qualité.

7.0 Matériel didactique et de référence

En vue d'accomplir son travail quotidien ainsi qu'aux fins d'orientation et de formation continue, le personnel devrait avoir accès sur place au matériel nécessaire à l'exercice de ses fonctions, entre autres ⁽²⁾ :

- ouvrages de référence récents;
- procédures établies au laboratoire d'anatomopathologie;
- lames témoin, planches ou images numérisées;
- toute autre source d'information pertinente.

8.0 Locaux et conditions environnementales

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire s'assure que l'espace réservé à l'exécution de ses activités est suffisant et adéquat, afin de garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des prestations offertes aux utilisateurs, ainsi que la santé et la sécurité du personnel du laboratoire, des patients et des visiteurs ⁽⁵⁾.

Il faut prévoir l'espace et des conditions d'entreposage adaptés afin d'assurer l'intégrité permanente des échantillons, des documents, des équipements, des réactifs, des consommables, des enregistrements, des résultats et d'autres éléments susceptibles d'influer sur la qualité des résultats d'analyse. Il faut entreposer les échantillons et matériaux biologiques utilisés dans les processus analytiques de manière à éviter toute contamination croisée ⁽⁵⁾.

Le laboratoire doit surveiller, contrôler et enregistrer les conditions propres à l'environnement conformément aux spécifications correspondantes ou au cas où ces conditions seraient susceptibles d'influer sur la qualité des échantillons ou des résultats ou encore sur la santé du personnel. Il faut faire attention à des facteurs comme la lumière, la stérilité, la poussière, les fumées nocives ou dangereuses, les interférences électromagnétiques, les radiations, l'humidité, l'alimentation électrique, la température, les niveaux de bruit et de vibration et la logistique de travail, si ces facteurs visent les activités concernées, pour éviter d'invalidier les résultats ou de nuire aux exigences de fiabilité des examens ^{(5) (16)}.

Une séparation efficace doit être mise en place entre les zones du laboratoire où se déroulent des activités incompatibles. Il faut instituer des procédures afin d'empêcher toute contamination croisée quand des méthodes d'analyse posent un risque de contamination ou que l'absence de séparation peut nuire au travail ⁽⁵⁾.

De plus,

- il faut prêter une attention particulière au revêtement de plancher afin de réduire le risque de chute causée par des résidus de paraffine tombés au sol ⁽³⁷⁾;
- toute surface de travail devrait être revêtue de matériau non poreux et facilement lavable ⁽²⁴⁾;
- on devrait situer les postes de travail de microtomie dans une zone en retrait et à l'abri des courants d'air afin de favoriser la stabilité des rubans de paraffine ⁽³⁷⁾;
- la température ambiante ne devrait pas dépasser 22 °C, car une température plus élevée favorise la production d'électricité statique en plus de compliquer la coupe et le refroidissement des blocs de paraffine ⁽⁴⁾.

9.0 Gestion de la documentation

Dans les systèmes de gestion de la qualité, la documentation désigne les politiques, les processus, les procédures et l'enregistrement des résultats. Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, des procédures documentées sont élaborées de concert avec les spécialistes du laboratoire pour toutes les activités effectuées⁽⁵⁾. Il incombe au technologiste médical de prendre connaissance de ces procédures et de s'y conformer, tout en s'appuyant sur son jugement professionnel quand la situation l'exige⁽¹⁾.

Le technologiste médical doit s'assurer que les enregistrements (p. ex., résultats d'analyse et commentaires) qu'il fait sont lisibles, précis, exacts et complets. Il doit s'assurer d'ajouter au rapport d'anatomopathologie tous les commentaires qu'il juge pertinents afin de transmettre la meilleure image possible de l'échantillon, tout en respectant les politiques et les procédures en vigueur au laboratoire⁽¹⁾.

10.0 Exigences préanalytiques

10.1 Ordonnance médicale

Chaque échantillon reçu au laboratoire est accompagné d'une ordonnance médicale (demande d'analyse)^{(52) (53)}. Le personnel chargé de la réception des échantillons doit s'assurer qu'il comprend bien les renseignements inscrits sur l'ordonnance. En cas de doute, le personnel doit vérifier l'ordonnance avec le prescripteur ou une personne autorisée⁽¹¹⁾.

Le *Règlement sur les normes relatives aux ordonnances faites par un médecin* adopté par le Collège des médecins du Québec précise les éléments devant figurer sur l'ordonnance individuelle⁽⁵⁴⁾.

Le siège anatomique exact du prélèvement et le nombre de fragments prélevés, s'il y a lieu, devraient être indiqués sur l'ordonnance ainsi que le type d'intervention pratiquée⁽⁴⁾.

10.2 Prélèvement des échantillons

Les échantillons qui sont acheminés au laboratoire d'anatomopathologie sont normalement prélevés au cours d'une intervention médicale. Les procédures de prélèvement dépassent le cadre du présent guide.

Les technologistes médicaux sont habilités par la loi à prélever des organes aux fins d'autopsie. Ils sont également autorisés à prélever, aux fins de greffe ou dans le cadre de travaux de recherche, des tissus ou des globes oculaires sur une personne décédée⁽⁴⁹⁾.

10.2.1 Prélèvement de cellules, de tissus et d'organes destinés à la transplantation

Le prélèvement de cellules, de tissus et d'organes destinés à la transplantation doit s'effectuer conformément au *Règlement sur la sécurité des cellules, tissus et organes destinés à la transplantation*⁽⁵⁵⁾.

Ce Règlement exige que ces échantillons soient prélevés suivant des techniques aseptiques et que tout le matériel de prélèvement réutilisable soit nettoyé et désinfecté et, si le fabricant le précise, stérilisé après chaque don⁽⁵⁶⁾.

10.3 Identification des échantillons

Pour être bien identifiés, tous les récipients d'échantillons remis au laboratoire d'anatomopathologie doivent porter deux identifiants différents, c'est-à-dire le nom et le prénom du patient ainsi qu'un numéro d'identification propre au patient. Le numéro de la demande ne constitue pas un numéro d'identification propre au patient^{(11) (18)}.

Afin d'assurer la traçabilité et de permettre au laboratoire de vérifier la concordance entre l'ordonnance médicale et l'échantillon, les renseignements suivants devraient également figurer sur chaque récipient⁽⁴⁾ :

- le siège anatomique précis ou tout autre identifiant permettant de relier le récipient au tissu approprié;
- la date du prélèvement;
- l'heure exacte du prélèvement, si elle est exigée pour l'analyse.

Il faut consigner tous les renseignements relatifs à la collecte pour assurer la traçabilité de l'échantillon une fois celui-ci éliminé. Des politiques ou des procédures devraient préciser l'endroit où ces informations peuvent être consignées (formulaire, système informatique, etc.)⁽¹¹⁾.

10.4 Conservation des échantillons

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire s'assure que les échantillons ont été conservés à la température appropriée et avec les agents stabilisants recommandés afin d'assurer leur intégrité⁽⁵⁾.

10.4.1 Tissus fixés au moment de la collecte

La fixation étant la seule étape de la préparation du tissu qui est définitive et irréversible, il faut y prêter une attention particulière^{(4) (57)}.

Le choix du fixateur est primordial et déterminé de concert avec le(s) pathologiste(s), compte tenu des progrès scientifiques et technologiques ainsi que des restrictions relatives aux tissus à examiner et aux analyses prévues (immunohistochimie, recherche d'ADN, d'ARN, etc.)⁽⁴⁾.

Les éléments suivants devraient être consignés dans les rapports d'analyse immunohistochimique et d'analyses moléculaires⁽⁵⁸⁾ :

- la durée de l'ischémie froide (temps écoulé entre l'excision complète du tissu et le début de la fixation);
- l'heure du début de la fixation;
- la durée de la fixation;
- le type de fixateur utilisé.

10.4.1.1 Qualité de la fixation

Voici quelques facteurs dont il faut tenir compte^{(4) (25) (58) (59) (60)} :

- La vitesse de pénétration du fixateur varie entre fixateurs et peut influencer sur le temps de fixation nécessaire.
- Le volume du fixateur doit idéalement être de 15 à 20 fois plus grand que le volume du tissu à fixer. Il est important que la pièce anatomique soit complètement immergée.
- Si la pièce anatomique est de grande taille, il est recommandé de faire des incisions à intervalles de 5 à 10 mm (tout en conservant les indices d'orientation initiaux de la pièce anatomique) afin d'optimiser la fixation.
- Certains organes creux sont généralement ouverts et vidés de leur contenu avant leur fixation (p. ex., intestin, utérus).
- Les tissus denses, adipeux et nécrotiques demandent un temps de fixation plus long.
- Il est fortement recommandé de débiter la fixation dans l'heure qui suit le prélèvement du tissu. Par contre, les échantillons de petite taille devraient être mis dans le formol immédiatement après leur prélèvement.
- La durée de la fixation dépend également du fixateur utilisé, de la concentration, du pH et de la nature du tissu. La durée de fixation recommandée pour les pièces anatomiques va de 24 à 72 heures⁽⁶¹⁾. S'il s'agit d'une pièce de biopsie, la durée de fixation recommandée va de 12 à 24 heures (au moins 6 à 8 h).
- La température influe sur la vitesse de fixation. Le froid ralentit le processus de fixation. Les tissus plongés dans un fixateur ne devraient pas être conservés au réfrigérateur.
- Le pH du formol tamponné devrait idéalement se situer entre 6,8 et 7,2⁽⁵⁹⁾. Le pH du fixateur utilisé devrait être vérifié dès que l'on change de lot et périodiquement par la suite. Il doit être ajusté au besoin.

10.4.1.2 Recommandations relatives aux tissus traités par méthode immunohistochimique

Présentement, le formol à 10 % tamponné à pH neutre (6,8 à 7,2) est le seul fixateur recommandé pour les marqueurs de classe II à moins de validation interne préalable^{(9) (58) (59) (60)}.

10.4.2 Tissus frais acheminés au laboratoire

Comme l'autolyse débute dès que l'irrigation sanguine des tissus cesse, il est primordial d'acheminer les tissus frais au laboratoire immédiatement après leur prélèvement.

Dans certains cas, la conservation des tissus à l'état frais est préférable, car elle en favorise l'appréciation à l'examen macroscopique et permet d'utiliser les fixateurs qui conviennent à l'analyse suivante (microscopie électronique, cytométrie de flux, immunofluorescence, etc.). Les tissus doivent être conservés et acheminés à l'état frais si un examen extemporané est demandé⁽⁴⁾.

Afin d'éviter leur dessèchement, les pièces anatomiques de petite taille peuvent être humidifiées avec des gazes imbibées de solution saline⁽⁴⁾.

10.4.3 Conservation des cellules, des tissus et des organes destinés à la transplantation

En vertu de la norme CAN/CSA-Z900.1-12 *Cellules, tissus et organes destinés à la transplantation*, les cellules, tissus et organes doivent être conservés durant un laps de temps convenant à la préservation des fonctions biologiques, de façon à ce qu'ils demeurent propres à l'usage prévu. Les récipients et les matériaux d'emballage doivent préserver l'intégrité, la qualité, la fonction et la stérilité des cellules, des tissus et des organes pendant toute la durée de l'entreposage. Il convient d'utiliser des méthodes et des matériaux conçus pour empêcher ou signaler de façon évidente toute tentative d'altération⁽⁵⁶⁾.

10.5 Transport des échantillons

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire s'assure que les échantillons sont transportés⁽⁵⁾ :

- dans un délai approprié, compte tenu de la nature des examens demandés et de la discipline concernée;
- à la température exigée pour le prélèvement et la manipulation des échantillons et avec les agents stabilisants recommandés, pour assurer l'intégrité des échantillons;
- d'une manière qui garantit l'intégrité de l'échantillon et la sécurité pour le transporteur, le grand public et le laboratoire destinataire, conformément aux exigences établies.

10.5.1 Transport entre deux pavillons d'un même établissement ou à l'intérieur d'un établissement de santé

Les échantillons peuvent être transportés par le personnel ayant effectué le prélèvement, par un messenger interne ou par système de transport automatisé (pneumatique). Ils doivent être transportés de façon sécuritaire et de manière à éviter tout dommage⁽⁶²⁾.

10.5.1.1 Transport par système automatisé (pneumatique)

Le laboratoire établit et met en œuvre une procédure de transport des échantillons par système automatisé^{(63) (64)}. Il faut expédier ces échantillons de façon sécuritaire (emballés individuellement afin d'éviter les bris et enveloppés dans un matériau amortissant les secousses), dans des récipients primaires et secondaires étanches afin d'éviter les déversements accidentels^{(28) (63)}. L'ordonnance médicale ne doit pas être en contact direct avec le récipient primaire⁽⁶³⁾. Une procédure d'entretien et une procédure de désinfection en cas de déversement sont établies suivant les directives du fabricant⁽²⁸⁾.

Le laboratoire établit la liste des échantillons qu'il ne faut pas envoyer par transport automatisé, car certaines sources déconseillent l'envoi d'échantillons uniques par ce moyen^{(28) (63)}.

Il faut valider le système de transport automatisé des échantillons destinés au laboratoire d'anatomopathologie avant sa première utilisation, puis le vérifier périodiquement par la suite pour s'assurer de préserver l'intégrité des tissus. On doit prévoir un moyen d'informer le personnel destinataire de l'arrivée des échantillons et d'assurer le respect des règles d'identification du patient et de traçabilité^{(62) (65)}.

Un système d'urgence devrait permettre de récupérer rapidement les échantillons durant une panne du système de transport automatisé^{(11) (65)}.

10.5.2 Transport à l'externe

Dès qu'un échantillon biologique doit passer sur la voie publique, il est assujéti au *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses* (RTMD) de Transports Canada⁽⁶⁶⁾.

10.5.2.1 Transport de produits chimiques

Certains produits chimiques sont classés marchandises dangereuses selon le RTMD. La personne chargée d'expédier des produits chimiques doit consulter la fiche signalétique ou le fournisseur ainsi que le RTMD afin de connaître les exigences relatives à l'envoi du produit⁽⁶⁶⁾.

10.5.2.2 Transport d'échantillons

Certains tissus frais peuvent contenir des agents pathogènes⁽²⁵⁾. Il va de même pour des tissus fixés contenant des prions (voir le point 5.1.2). Si on a des raisons de croire qu'un échantillon peut contenir des agents pathogènes, on doit le transporter en tant que matière infectieuse de la classe 6.2, conformément au RTMD. Il faut consulter le RTMD pour classer l'échantillon et s'informer des exigences relatives à son transport⁽⁶⁶⁾.

10.5.2.3 Envoi d'échantillons à un autre laboratoire

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire tient un registre de tous les laboratoires sous-traitants avec lesquels il fait affaire⁽⁵⁾.

La documentation des demandes et les résultats de toutes les analyses d'échantillons envoyés à un laboratoire sous-traitant ou consultant sont conservés pendant une période déterminée par le calendrier de conservation en vigueur dans l'établissement^{(5) (16)}.

Il faudrait établir une procédure de retour pour assurer l'intégrité des blocs et des lames envoyés à l'extérieur. Le laboratoire consultant devrait indiquer au laboratoire demandeur si d'autres lames ont été coupées et conservées sur place⁽¹⁶⁾. Idéalement, tout le matériel original et le matériel produit par le laboratoire consultant devrait être retourné au laboratoire demandeur pour des raisons de traçabilité.

Pour obtenir de plus amples renseignements sur les exigences relatives au transport des échantillons, le lecteur peut se référer au document de l'OPTMQ intitulé *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale*⁽⁶²⁾ ainsi qu'au *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses* de Transports Canada⁽⁶⁶⁾.

10.6 Réception des échantillons

Il faut vérifier l'intégrité et la traçabilité des échantillons sur réception au laboratoire^{(4) (5)}. Par exemple, le tissu reçu à l'état frais qui aurait déjà dû être fixé devrait être plongé dans le fixateur dès que sa non-conformité est constatée.

La concordance entre l'identification de l'échantillon reçu et l'ordonnance médicale doit être vérifiée à cette étape ainsi qu'à toutes les étapes suivantes des processus de préparation et d'analyse au laboratoire^{(4) (17)}.

Toute situation susceptible de nuire à la qualité de l'échantillon doit être consignée^{(4) (5)}.

10.6.1 Enregistrement de la réception des échantillons

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, tous les échantillons reçus sont inscrits dans un registre d'admission, sur une feuille de travail, dans un système informatique ou tout autre système comparable. La date et l'heure de réception et/ou d'enregistrement des échantillons doivent être consignées. L'identité de la personne recevant l'échantillon doit également être enregistrée ⁽⁵⁾ ⁽¹¹⁾.

10.6.2 Critères de conformité des échantillons

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le personnel autorisé doit évaluer les échantillons reçus afin de s'assurer qu'ils satisfont aux critères d'acceptation pertinents en vue des examens prescrits ⁽⁵⁾.

Les critères de conformité d'un échantillon sont établis dans chaque laboratoire en étroite collaboration avec les pathologistes. La majorité des échantillons reçus au laboratoire d'anatomopathologie sont considérés comme des échantillons irremplaçables, donc uniques, et ne devraient pas être rejetés ⁽⁵⁾ ⁽¹¹⁾.

Si des discordances sont notées lors de l'évaluation de la conformité, il faut investiguer et contacter la personne responsable de la collecte. Il est recommandé de consigner le nom de la personne qui a été contactée ⁽⁶⁴⁾.

Si le laboratoire doit traiter un échantillon unique non conforme, le rapport final doit faire état du problème et, le cas échéant, conseiller l'interprétation prudente des résultats ⁽⁵⁾ ⁽¹¹⁾.

Le technologiste médical doit s'appuyer sur son jugement clinique pour appliquer les critères de conformité des échantillons et tout mettre en œuvre afin de préserver l'intégrité de l'échantillon et d'éviter de retarder l'analyse, sans perdre de vue les impératifs de sécurité du patient ⁽¹⁾ ⁽¹¹⁾.

10.6.2.1 Identification adéquate de l'échantillon

L'identification d'un échantillon est adéquate quand elle comprend deux identifiants liés au patient (nom, prénom et numéro d'identification propre au patient) ⁽¹¹⁾ ⁽⁶⁴⁾.

10.6.2.2 Qualité de l'échantillon

Le technologiste médical doit consigner toute dérogation aux conditions de stabilisation et aux délais de transport de l'échantillon compte tenu de l'analyse demandée ⁽¹⁾ ⁽⁵⁾.

10.6.2.3 Traitement de la demande en cas de non-conformité

Si un échantillon non conforme est tout de même analysé, cette non-conformité doit être consignée dans le rapport d'anatomopathologie^{(5) (11)}.

La traçabilité doit être préservée en tout temps : l'ordonnance médicale ne devrait pas être détruite, qu'elle soit sur support électronique ou papier^{(5) (11)}. Le numéro de cas ne devrait pas être attribué de nouveau.

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire consigne chaque cas de non-conformité; l'examen périodique des enregistrements permet de déceler des tendances et de prendre des mesures correctives^{(5) (11)}.

10.6.3 Enregistrement des échantillons dans le système informatique du laboratoire

Au cours de l'enregistrement des échantillons dans le système informatique du laboratoire, un numéro d'identification est attribué. Ce numéro identifiera l'échantillon tout au long du processus. Il faut éviter de faire l'enregistrement et la description d'échantillons similaires les uns à la suite des autres⁽⁴⁾.

Le laboratoire devrait mettre en place une procédure afin d'assurer l'exactitude des renseignements cliniques et personnels saisis dans le système informatique du laboratoire⁽¹⁰⁾.

11.0 Exigences analytiques

11.1 Matériel de laboratoire

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire doit posséder tout le matériel nécessaire à la prestation de services. Le laboratoire doit vérifier, durant l'installation et avant l'utilisation, que le matériel permet d'obtenir le résultat attendu et qu'il est conforme aux exigences relatives aux examens concernés. Il faut conserver des enregistrements de chaque élément du matériel, afin de contribuer à la bonne exécution des examens⁽⁵⁾.

11.1.1 Instrumentation

L'instrumentation est un élément important du processus analytique. Le technologiste médical doit connaître le fonctionnement des instruments qu'il utilise et s'en servir avec vigilance⁽¹⁾.

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, les instruments doivent être tenus dans un état de fonctionnement optimal et sécuritaire. Si un instrument se révèle défectueux, il doit être mis hors service et clairement identifié. L'instrument défectueux ne doit pas être utilisé tant qu'il n'a pas été réparé. Il doit répondre aux critères d'acceptabilité précisés avant sa remise en service⁽⁵⁾.

11.1.2 Réactifs

Dans le présent guide, les réactifs comprennent tous les produits utilisés au cours d'une analyse (p. ex., les colorants, les produits chimiques, les trousse commerciales).

Il faut vérifier tout nouveau réactif avant sa première utilisation afin d'assurer qu'il remplit les exigences de qualité, même si le lot reçu est déjà utilisé au laboratoire, car les conditions de transport et de conservation peuvent avoir altéré les réactifs d'un même lot⁽⁹⁾.

11.1.2.1 Gestion des réactifs

Le SIMDUT, la *Loi sur les produits dangereux*, le *Règlement sur les produits contrôlés*, la *Loi sur la santé et la sécurité du travail* et le *Règlement sur l'information concernant les produits contrôlés* énoncent plusieurs exigences concernant la manipulation des produits chimiques^{(20) (67) (68) (69)}. Le technologiste médical doit prendre connaissance des éléments de gestion des réactifs qui touchent sa pratique au laboratoire⁽¹⁾.

La norme ISO 15189-12 ajoute des exigences relatives à la gestion des réactifs⁽⁵⁾ :

- Le laboratoire doit avoir un système de gestion des stocks de réactifs.
- Les modes d'emploi des réactifs, y compris ceux qui sont fournis par les fabricants, doivent être facilement accessibles.
- Il faut conserver l'enregistrement de chaque réactif, pour contribuer à la bonne exécution des examens. L'enregistrement doit notamment comprendre les renseignements suivants :
 - a) le nom du réactif;
 - b) le nom du fabricant, le code du réactif et le numéro de lot;
 - c) les coordonnées du fournisseur ou du fabricant;
 - d) la date de réception, la date d'expiration, la date de mise en service et, le cas échéant, la date de mise hors service du réactif;
 - e) l'état du réactif à la réception (p. ex., acceptable ou endommagé);
 - f) les instructions du fabricant;
 - g) le résultat de la vérification de la conformité du réactif pour l'utilisation prévue.

Si des réactifs utilisés au laboratoire sont préparés sur place, les enregistrements doivent comprendre, outre les informations ci-dessus, le nom de la ou des personnes qui les ont préparés et la date de préparation.

11.1.2.2 Notices d'accompagnement

Les exigences décrites dans les notices d'accompagnement (monographies) des trousse commerciales, des réactifs et de tout autre produit devraient être vérifiées à tous les changements de lot. La notice d'accompagnement devrait être lue, datée, paraphée et conservée. Les modifications pertinentes devraient également être intégrées aux procédures.⁽¹¹⁾

11.1.2.3 Vérification du pH

Le pH du réactif utilisé est vérifié périodiquement s'il a une incidence sur la qualité de l'analyse ou de la coloration (p. ex., pH de l'eau courante, pH du tampon utilisé en immunohistochimie). Si le pH du réactif n'est pas approprié, il doit être ajusté^{(17) (59)}.

11.2 Entretien préventif

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire dispose d'un programme documenté d'entretien préventif de ses équipements qui respecte au minimum les instructions du fabricant⁽⁵⁾.

Les activités d'entretien préventif peuvent être effectuées en collaboration avec le Service de génie biomédical, le fournisseur ou toute autre personne habilitée, pourvu que les spécifications soient fournies par le laboratoire. Le technologiste médical doit suivre le programme d'entretien préventif en vigueur au laboratoire⁽¹⁾.

11.3 Validation technique

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, si des modifications sont apportées à une procédure analytique déjà validée, celle-ci doit être validée à nouveau^{(5) (9)}. La validation est également nécessaire dès que l'on modifie le processus de traitement, p. ex., la fixation, le réactif utilisé, le traitement effectué, etc.^{(9) (60) (70) (71)}

11.4 Programme de contrôle de la qualité

Le programme de contrôle de la qualité englobe les mesures prises afin d'assurer l'exactitude et la précision du résultat de chacune des analyses effectuées. Son but final est d'offrir des analyses de grande qualité et, par conséquent, d'étayer les interventions du médecin auprès du patient.

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de mettre en place des mesures de contrôle de qualité spécifiques à chacune des analyses. Le chef du laboratoire d'anatomopathologie est responsable de l'application des mesures de contrôle interne de la qualité ainsi que de la participation du laboratoire au contrôle externe de la qualité⁽⁷²⁾. Le technologiste médical doit connaître et respecter le programme de contrôle de la qualité propre à chaque analyse⁽¹⁾.

11.4.1 Contrôle interne de la qualité

Le contrôle interne est le plus important moyen de déceler les erreurs, les problèmes techniques et les problèmes d'interprétation, et il permet de corriger rapidement ces problèmes. Ce type de contrôle permet un suivi au jour le jour de la qualité des analyses. En l'absence de dispositifs de contrôle commerciaux, il est possible de créer localement des contrôles internes de la qualité ^{(5) (72)}.

Il faudrait conserver les résultats du contrôle interne de la qualité ainsi que les lames témoins pendant la même période que les lames des patients afin de préserver la traçabilité ⁽¹⁷⁾.

Consulter les sections 20.1 et 21.6 pour se renseigner sur le contrôle de qualité applicable aux colorations spéciales et aux méthodes immunohistochimiques.

11.4.2 Contrôle externe de la qualité

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de participer à un programme d'évaluation externe de la qualité de tous les types d'analyses. Le rôle principal du programme de contrôle externe de la qualité est de déceler des erreurs systémiques (biais). Le programme permet ainsi de vérifier l'exactitude de la méthode d'analyse et de comparer la prestation du laboratoire, sur le plan de l'exactitude, avec celle d'autres laboratoires ^{(5) (72)}.

Note : Au Québec, le Laboratoire de santé publique du Québec offre plusieurs programmes de contrôle externe de la qualité.

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire intègre les échantillons fournis dans le cadre du programme de contrôle externe de la qualité dans les séries régulières pour leur faire subir autant que possible le même traitement que les échantillons provenant de patients. Ces échantillons sont traités par le personnel qui analyse régulièrement les échantillons de patients ⁽⁵⁾.

Si un programme de contrôle externe de la qualité n'est pas disponible, le laboratoire conçoit d'autres démarches en vue de fournir des preuves objectives pour valider l'acceptabilité des résultats d'analyse. Le laboratoire peut dans ce cas envoyer un échantillon d'un cas connu à un autre laboratoire ou utiliser un échantillon d'un cas connu afin d'évaluer la conformité de ses procédures analytiques ^{(5) (73)}.

Pour de plus amples renseignements sur le contrôle de la qualité, veuillez consulter les documents suivants :

- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *ISO 15189 :2012(F) Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*, troisième édition, 2012 ⁽⁵⁾;
- ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale* ⁽¹¹⁾.

12.0 Cryotomie

L'examen extemporané des tissus peut mener ou non à la cryotomie. La cryotomie, couramment appelée « congélation », consiste à couper le tissu congelé à l'aide d'un cryostat. Son but est de conserver l'intégrité structurale et antigénique du tissu (dans certains cas) et de préparer celui-ci en vue de son examen immédiat par le pathologiste sans passage par les étapes de fixation, de circulation et d'enrobage⁽⁴⁾. La cryotomie est également nécessaire à la réalisation de certaines méthodes ou au traitement de certains tissus⁽²⁵⁾.

12.1 Examen macroscopique

Le pathologiste est responsable de l'examen macroscopique extemporané du tissu, de la dissection et de l'échantillonnage des spécimens qui seront congelés, s'il y a lieu^{(4) (74)}.

12.2 Congélation du tissu

Il faut congeler le tissu le plus rapidement possible afin d'éviter l'apparition de cristaux de glace ou d'artéfacts⁽²⁵⁾. Il existe plusieurs techniques de congélation; le choix de la bonne technique doit reposer sur les besoins du laboratoire, le volume de demandes et le risque associé à la technique appliquée.

Afin d'accélérer la congélation du tissu, on a souvent eu recours aux réfrigérants en aérosol dans le passé, mais cette pratique est à éviter, car ces agents favorisent la contamination aérienne quand on les vaporise sur des tissus contaminés. On peut accélérer la congélation du tissu au moyen d'un module Peltier ou d'un extracteur de chaleur⁽²⁵⁾. Tout le matériel utilisé doit être exempt de contaminant tissulaire.

12.3 Cryostat

Le cryostat est composé d'un microtome compris dans une enceinte cryostatique. Il faut prévoir une solution de rechange en cas de bris du cryostat, afin d'éviter l'interruption de ce service essentiel⁽⁴⁾.

12.3.1 Température de l'enceinte cryostatique

La température idéale de l'enceinte cryostatique varie grandement selon le type de tissu à couper. Étant donné que les laboratoires d'anatomopathologie reçoivent différents types de tissus, il est recommandé de tenir la température de l'enceinte cryostatique entre -22 et -18 °C. Cependant, sur certains modèles de cryostat, on peut régler la température du porte-objet à la température optimale. La température de l'enceinte cryostatique doit être vérifiée quotidiennement et consignée⁽⁴⁾.

12.3.2 Utilisation du cryostat

Les conditions de coupe au microtome décrites au point 16.0 s'appliquent également à l'utilisation du cryostat. À ces conditions, il faut ajouter les points suivants.

La qualité de la coupe varie en fonction des facteurs suivants^{(4) (25) (57)} :

- la température des instruments utilisés (pinces, pincettes, rasoirs, etc.);
- la congélation rapide et complète du tissu;
- la température de congélation appropriée au type de tissu;
- l'état du rasoir (propre, ajusté correctement, froid et en excellent état).
- le bon positionnement, bien à plat, du tissu sur la platine;
- le bon réglage du guide anti-roulement ou d'un autre moyen de récupérer la coupe.

Si le rasoir est changé ou déplacé, il est important de vérifier l'exactitude des réglages.

12.3.3 Entretien préventif du cryostat

L'entretien préventif du cryostat inclut le nettoyage, le dégivrage et la désinfection de l'enceinte cryostatique et des accessoires⁽⁴⁾.

La désinfection, de même que le nettoyage régulier du cryostat, peut être faite avec du glutaraldéhyde à 2 %, une solution de phénol à environ 5 %, de l'alcool absolu ou des produits commerciaux tels que « Cryofect »⁽⁴⁾. D'autres méthodes de désinfections sont arrivées avec les cryostats de génération récente. Il faut donc consulter le manuel du fabricant pour se renseigner sur les spécifications et les limites de la méthode recommandée.

Après la coupe de tissus dont la contamination par des agents pathogènes est confirmée ou suspectée, il faut désinfecter le cryostat suivant une méthode appropriée à l'agent pathogène le plus tôt possible^{(29) (34)}.

12.4 Coloration de la coupe congelée

Une fois la coupe effectuée, elle est recueillie sur une lame propre, puis colorée immédiatement suivant une technique manuelle de routine. Certaines colorations spéciales peuvent également être réalisées. Le montage de la coupe devrait être fait après la déshydratation et la clarification (éclaircissement).

12.5 Traitement du tissu après sa congélation

Il ne faut pas passer aux étapes suivantes du traitement avant d'avoir obtenu les consignes du pathologiste⁽⁴⁾.

Si le tissu ne doit pas être conservé congelé, il faut le décongeler (tout en évitant la chaleur excessive) et le faire passer par les étapes habituelles de fixation, de circulation, d'enrobage et de microtomie standard.

La lame définitive servira à confirmer ou à infirmer le diagnostic provisoire posé durant la cryotomie⁽⁴⁾. Il faudra donc présenter la même face de l'échantillon sur la lame définitive que sur la lame produite à la cryotomie⁽²⁹⁾.

13.0 Décalcification

On réalise la décalcification après la fixation et, en général, avant la circulation afin d'éliminer le calcium du tissu à étudier. Certains types de tissu ferme comme les tendons, les ongles, le cartilage et le tissu hyperkératinisé peuvent être trempés quelques jours dans un dékératinisant ou ramollis au moyen d'un agent décalcifiant que l'on applique directement sur le bloc de paraffine durant quelques minutes, avant de rincer et d'assécher le bloc⁽⁴⁾.

Il est primordial de bien fixer le tissu avant sa décalcification, car les acides servant à la décalcification détériorent les constituants organiques fondamentaux de l'os et des autres tissus⁽⁴⁾. On rincera le tissu à l'eau courante avant de le déposer dans l'agent décalcifiant afin d'éviter une réaction indésirable entre le formol et l'acide⁽²⁵⁾. Les calcifications peuvent parfois avoir une incidence sur le diagnostic; en cas de doute, consulter le pathologiste.

Les points décrits dans les sections numérotées de 13.1 à 13.7 sont à considérer durant le processus de décalcification.

13.1 Agent décalcifiant

Le choix de l'agent décalcifiant approprié dépend du type de tissu à traiter. Plus l'agent décalcifiant est concentré, plus la décalcification est rapide, mais le risque de détérioration du tissu est également plus important⁽⁴⁾.

Il existe plusieurs agents décalcifiants, dont les acides forts (p. ex., acide nitrique, acide chlorhydrique) qui agissent plus rapidement que les acides faibles (comme l'acide formique). Une exposition aux acides forts pendant plus de 48 heures entraînera la destruction des constituants cellulaires et nuira à la qualité des colorations suivantes^{(4) (25) (57)}.

Il existe aussi des agents chélateurs, dont l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA). Ces agents décalcifiants agissent très lentement⁽⁴⁾.

Un bon agent décalcifiant devrait remplir les conditions suivantes ⁽⁴⁾:

- il doit éliminer complètement tous les sels de calcium;
- il ne doit causer aucune déformation des cellules ou des tissus, ou en causer le moins possible;
- il doit nuire le moins possible à la qualité des colorations et aux analyses immunologiques suivantes;
- il devrait agir suffisamment vite.

13.2 Volume de décalcifiant

Le volume d'agent décalcifiant devrait être de 20 à 50 fois supérieur au volume du tissu. L'agent décalcifiant est remplacé régulièrement, selon le type d'agent utilisé et le nombre de pièces à décalcifier ⁽⁴⁾.

13.3 Optimisation de la décalcification

L'exposition à la chaleur accélère le processus, mais elle favorise aussi le gonflement et l'hydrolyse des tissus conjonctifs. Elle n'est donc pas recommandée pendant la décalcification. Le recours à un agitateur est à privilégier ⁽⁴⁾.

13.4 Durée de la décalcification

Le temps de contact minimal varie selon le type de tissu, l'agent décalcifiant et la méthode utilisée. Les tissus devraient séjourner le moins longtemps possible dans l'agent décalcifiant ⁽⁴⁾.

13.5 Vérification de la fin de la décalcification

Il faut examiner le tissu régulièrement pour vérifier si la décalcification est complète. On peut vérifier la progression de la décalcification de diverses manières (p. ex., palpation, coupe au bistouri, piqure avec une aiguille, test chimique ou radiographie du tissu) ⁽⁴⁾.

13.6 Arrêt de la décalcification

Normalement, on met fin à la décalcification en rinçant le tissu à l'eau courante pendant 30 minutes ou en le plongeant dans une solution neutralisante ⁽⁴⁾.

Il est important de ne pas transférer un tissu décalcifié directement de l'agent décalcifiant à la solution de formaldéhyde tamponné à 10 %; le contact entre ces deux substances chimiques produit des vapeurs nocives ⁽⁴⁾. L'agent décalcifiant peut être corrosif pour les circulateurs.

13.7 Renouvellement de la solution décalcifiante

Le technologiste médical doit remplacer la solution décalcifiante selon la procédure établie ^{(1) (4)}.

14.0 Circulation

La circulation rend le tissu rigide pour qu'il reste intact lors des manipulations et puisse être coupé en tranches minces avant sa coloration et son examen au microscope⁽⁴⁾. Les tissus sont conservés dans le fixateur jusqu'au démarrage du cycle de circulation et devraient être laissés le moins longtemps possible dans la paraffine à la fin du cycle^{(4) (25) (59)}.

14.1 Programmes de circulation

Les programmes de circulation sont établis selon les besoins et le temps d'attente avant l'enrobage. Le circulateur devrait être programmé suivant le type de tissu à traiter, la grosseur et le nombre de cassettes à traiter^{(4) (59)}. Il est important d'établir une procédure de renouvellement des différents bains du circulateur afin d'assurer l'efficacité des différentes solutions⁽¹⁷⁾. Le programme de circulation comprend les étapes suivantes : la post-fixation, la déshydratation, la clarification et l'imprégnation⁽⁴⁾. Bien qu'il existe plusieurs réactifs, seuls les plus utilisés sont présentés ci-dessous.

14.1.1 Post-fixation

La post-fixation permet de compléter la fixation. Le formol tamponné à 10 % est l'agent le plus utilisé et, généralement, un seul bain suffit. C'est également la seule solution dans laquelle les tissus peuvent séjourner sans danger, y compris durant les cycles de fin de semaine. Il est important que la fixation soit complète si on veut éviter que l'alcool utilisé à l'étape suivante altère les propriétés chimiques du tissu⁽⁴⁾.

14.1.2 Déshydratation

La déshydratation permet d'extraire toute l'eau du tissu. L'alcool éthylique est l'agent déshydratant le plus utilisé. Il est miscible dans l'eau et dans l'agent clarifiant. De plus, il assure une bonne conservation des détails structuraux des cellules et il est souvent considéré comme le meilleur agent déshydratant. Comme il agit assez rapidement, on évite d'y laisser les tissus trop longtemps^{(4) (25)}.

Le premier bain d'alcool devrait avoir une concentration allant de 50 à 70 %. Une trop forte concentration risque de causer la déformation, la rétraction et le durcissement des tissus. Le tissu devrait passer par au moins trois bains d'alcool de concentration croissante, p. ex., 70 %, 95 % et 100 %. Le trempage dans le bain d'alcool à 100 % à la fin du processus assure une bonne déshydratation et permet à l'agent clarifiant de bien pénétrer le tissu^{(4) (25)}.

La déshydratation devrait durer entre trois et cinq heures au maximum. Une déshydratation mal effectuée donne un tissu mou, difficile, voire impossible à couper. Les tissus mal déshydratés rétrécissent et se rétractent dans la paraffine, laissant une dépression à la surface du bloc de paraffine et même un trou dans la coupe ^{(4) (25)}. Il est préférable que la déshydratation se fasse à une température allant de 20 à 37 °C, car la chaleur excessive amplifie les effets indésirables de l'alcool ainsi que l'évaporation et le risque d'incendie ^{(4) (75)}. Le vide partiel ainsi qu'une légère pression positive peuvent favoriser une bonne déshydratation ⁽⁴⁾.

14.1.3 Clarification (éclaircissement)

La clarification permet de remplacer l'agent déshydratant par un produit miscible dans la solution d'imprégnation. Un bon agent clarifiant est un solvant anhydre dont l'indice de réfraction est élevé et permet d'augmenter la transparence du tissu ⁽⁴⁾.

Le xylène est un excellent agent clarifiant, mais il tend à causer la rétraction et le durcissement des tissus qui y sont trempés pendant plus de trois heures. De plus, il ne convient ni au tissu cérébral ni aux ganglions. Le toluène a des propriétés similaires à celles du xylène; par contre, le tissu peut y séjourner jusqu'à 12 heures sans durcir excessivement. Si un voile brumeux se forme dans les récipients de clarifiants, c'est que la déshydratation n'est pas complète et que de l'eau a contaminé la solution clarifiante. Il est essentiel que la solution du dernier bain soit pure ⁽⁴⁾.

Bien qu'elle accélère la clarification, la chaleur n'est pas recommandée, car elle peut causer la rétraction et le durcissement des tissus ainsi que l'évaporation des solutions ⁽⁴⁾. La température du bain ne devrait donc pas dépasser 37°C ⁽⁷⁵⁾.

L'agitation favorise la clarification. Le vide partiel a peu d'incidence sur la clarification, mais contribue tout de même à éliminer l'air des tissus ⁽⁴⁾.

14.1.4 Imprégnation

L'imprégnation est la dernière étape de la circulation. Le milieu utilisé est le même qu'à l'étape de l'enrobage. Un mélange à base de paraffine est le milieu le plus utilisé puisqu'il permet de bien remplir toutes les cavités tissulaires, de donner une consistance uniforme et de fournir un support interne au tissu. À l'enrobage, ce mélange offrira un support externe à la coupe. La mise sous vide permet de réduire de moitié le temps d'imprégnation en plus de chasser l'air des tissus. Il est recommandé d'utiliser au moins deux bains de mélange à base de paraffine afin d'assurer une bonne imprégnation ⁽⁴⁾.

14.2 Entretien du circulateur

Le technologiste médical doit vérifier le niveau des solutions des bains à chaque utilisation^{(4) (25)}. La fréquence de renouvellement des solutions dépend du nombre de cassettes mises dans l'appareil, du nombre de cycles effectués et du type de tissu traité^{(17) (25)}. Les solutions doivent être manipulées dans des espaces bien ventilés, comme on le précise dans la *Loi sur la santé et la sécurité du travail*, et les solutions usées doivent être jetées de façon adéquate et sécuritaire^{(4) (20) (45)}. Le technologiste médical doit vérifier quotidiennement la température de la paraffine afin de s'assurer qu'elle se situe dans la plage recommandée par le fabricant⁽⁴⁾.

L'entretien préventif est effectué suivant les recommandations du fabricant du circulateur, à moins d'indication contraire dans la procédure établie au laboratoire⁽⁴⁾.

15.0 Enrobage/inclusion

L'enrobage consiste à préparer un bloc de paraffine (ou autre produit ayant servi à l'imprégnation) dans lequel on introduit une pièce de tissu qui a subi les étapes de circulation. L'enrobage permet de fournir au tissu un support externe pour la coupe au microtome et d'assurer une meilleure conservation du tissu par la suite⁽⁴⁾.

Il faut conserver le tissu à la chaleur pendant l'étape d'enrobage afin d'éviter que la paraffine ne fige et cause la formation d'artéfacts. La température de la paraffine ne doit pas dépasser 60 °C aux fins des analyses immunohistochimiques^{(4) (9)}.

Au cours de l'enrobage, une vérification permet de s'assurer que le numéro du cas (ainsi que tout autre identifiant requis) est correctement inscrit sur la cassette⁽⁴⁾. De même, le nombre de fragments enrobés doit correspondre au nombre de fragments mis en cassette à la macroscopie⁽²⁵⁾. Le technologiste médical doit investiguer et consigner toute discordance⁽¹⁶⁾.

15.1 Orientation

La bonne orientation du tissu dans le moule est de la plus haute importance, car elle facilite la coupe au microtome et favorise l'observation optimale des structures microscopiques et des relations anatomiques entre les différentes structures et tuniques. Il est donc primordial de respecter le plan de coupe établi à la macroscopie⁽⁴⁾.

On déposera les tissus au centre du moule pour éviter qu'ils touchent aux parois. Il faut également éviter qu'ils se touchent entre eux et s'assurer que tous les tissus sont au même niveau, afin d'éviter toute perte⁽⁴⁾.

Le type de tissu et les besoins d'analyse déterminent l'orientation à respecter. À cette condition peuvent s'ajouter des critères établis suivant les pratiques propres à chaque laboratoire.

15.2 Station d'enrobage

Le technologiste médical doit vérifier quotidiennement la température des constituants de la station d'enrobage⁽⁴⁾.

15.2.1 Milieu d'enrobage

Le milieu d'enrobage doit être le même que celui qui a servi à l'imprégnation du tissu à la fin de la circulation⁽⁴⁾.

Avant de procéder à l'enrobage, le technologiste médical doit vérifier que la température de la paraffine se situe à l'intérieur de la plage recommandée par le fabricant⁽⁴⁾.

Le technologiste médical doit suivre la procédure d'entretien préventif du distributeur de paraffine (incluant l'élimination de la paraffine)⁽⁴⁾.

16.0 Microtomie

La production de coupes de bonne qualité dépend en grande partie de la préparation du tissu aux étapes de la fixation, de la circulation et de l'enrobage.

16.1 Procédure de coupe au microtome

Il faut tenir compte des points suivants pour bien réaliser la coupe au microtome⁽⁴⁾ :

- Il faut prendre soin de ne pas perdre de fragments pendant le rabotage ou la confection des coupes à niveaux⁽¹⁶⁾. Avant de commencer la coupe, il faut examiner les tissus pour assurer qu'ils sont inclus correctement.
- Le bloc de paraffine doit être placé dans le porte-objet de façon à être parallèle au fil (biseau) du rasoir. Le rasoir et le porte-rasoir doivent être correctement fixés. L'angle du rasoir doit permettre au bloc de paraffine de toucher le dos du biseau.
- Il faut tenir le porte-objet le plus près possible du point de départ pour améliorer la stabilité du bloc de paraffine.
- Le rabotage ne doit pas entamer trop profondément le bloc de paraffine pour ne pas abîmer ou comprimer le tissu.
- Un tissu insuffisamment décalcifié qui a été traité par circulation et enrobé peut être décalcifié en surface durant ou après le rabotage.
- Il faut couper les tissus en respectant l'épaisseur recommandée par le laboratoire suivant le type de tissu et les techniques à venir. En général, la première coupe d'un ruban n'est pas de la bonne épaisseur.
- Les coupes à niveaux et les coupes sériées doivent être réalisées suivant les procédures établies au laboratoire.
- Le mouvement doit être régulier, ni trop lent, ni trop rapide, pour permettre l'obtention d'une coupe uniforme et représentative de l'épaisseur sélectionnée.
- Il faut nettoyer régulièrement la zone de coupe du microtome pour éviter la contamination d'une coupe à la suivante⁽¹⁶⁾.

- Il faut toujours positionner le bloc de paraffine de la même façon sur le porte-objet, pour orienter le tissu dans le même sens qu'au cours de l'enrobage et réduire la perte de tissu à la recoupe. Il est recommandé d'indiquer par une marque sur quel microtome on a coupé un bloc de paraffine donné afin d'utiliser le même microtome à la recoupe.
- Durant le changement de blocs de paraffine sur le microtome, il faut toujours bloquer le frein de sécurité et, idéalement, mettre en place le protecteur de rasoir afin de réduire au minimum le risque de coupure.
- Le refroidissement des blocs de paraffine facilite la confection des coupes.

16.1.1 Rasoir

Comme il existe plusieurs types de rasoirs, le choix du rasoir approprié dépend du type de tissu à couper. Il faut changer la zone de coupe du rasoir si l'on constate que cette portion du rasoir est striée ou usée afin de ne pas abîmer le tissu⁽⁴⁾.

En vertu du *Règlement sur les déchets biomédicaux* et de la norme CSA Z317.10-09 (*Handling of waste materials in health care facilities and veterinary health care facilities*), les objets tranchants tels que les rasoirs doivent être éliminés dans des récipients rigides, scellés, étanches et résistants à la perforation^{(25) (76) (77)}.

17.0 Étalement

L'étalement permet de redonner au tissu sa forme initiale avant de le récupérer sur une lame pour l'examiner au microscope. Le mode d'étalement le plus répandu est l'étalement sur bain d'eau chaude.

17.1 Bain d'étalement

L'eau du bain d'étalement doit être à une température d'environ 10 °C sous le point de fusion de la paraffine. Le technologiste médical doit vérifier la température régulièrement pendant la journée afin de s'assurer que l'eau est toujours à la température idéale et consigner quotidiennement la température mesurée^{(4) (59)}. Une température trop chaude fera fondre la paraffine et entraînera la désintégration de la coupe. Une température trop froide empêchera le tissu de s'étaler suffisamment et la coupe gardera des plis⁽⁵⁷⁾. Il est recommandé de laisser les coupes dans le bain d'étalement le moins longtemps possible afin d'éviter le gonflement du tissu⁽⁴⁾.

Il faut s'assurer que la surface du bain d'étalement est exempte de débris en tout temps afin d'éviter la contamination croisée d'un tissu à un autre. On peut déposer une feuille de papier absorbant sur la surface de l'eau afin de retirer les débris et la pellicule de graisses dissoutes en surface. On éliminera les bulles d'air pour éviter qu'elles restent emprisonnées sous la coupe tissulaire. On devrait remplacer l'eau du bain quotidiennement ou plus souvent encore au besoin afin d'éviter l'apparition de contaminants^{(4) (17) (78)}.

17.2 Adhésifs

La décision d'ajouter un adhésif à l'eau du bain d'étalement dépend des analyses que l'on prévoit faire par la suite. Il n'est pas recommandé d'utiliser un adhésif si des tests immunohistochimiques sont prévus⁽⁴⁾.

Les lames adhésives (chargées positivement, polarisées ou ionisées) peuvent remplacer l'ajout d'adhésif à l'eau du bain d'étalement. Par ailleurs, l'ajout d'un adhésif à l'eau du bain peut nuire à l'efficacité des lames adhésives (chargées)⁽⁵⁹⁾. Les adhésifs sont facilement contaminés par les bactéries; leur contamination peut nuire à l'interprétation⁽⁴⁾.

17.3 Récupération de la coupe tissulaire sur lame

Il faut s'assurer que la coupe tissulaire est bien positionnée sur une lame propre. La coupe choisie devrait être exempte de plis, de stries, de compression, de trous, de bulles ou de tout autre défaut⁽⁵⁹⁾.

La lame doit être clairement identifiée soit avant, soit immédiatement après la coupe, et un mécanisme de vérification doit permettre de s'assurer que la lame correspond bien au bloc qui vient d'être coupé^{(4) (16)}.

On établira un système de traçabilité afin d'identifier la personne qui a préparé la lame (la trace peut être laissée sur la lame ou dans un système informatisé)^{(4) (59)}. Si deux personnes différentes ont effectué la coupe et l'étalement, l'identité des deux personnes est consignée.

17.4 Séchage de la lame

Il est recommandé de faire sécher les lames suffisamment afin d'assurer l'adhérence des coupes. On déterminera la durée et la température de séchage suivant les analyses que l'on prévoit faire ensuite⁽⁵⁹⁾.

18.0 Coloration de routine

Les tissus expédiés au laboratoire d'anatomopathologie subissent généralement une coloration de routine. Les méthodes de coloration (incluant les étapes, le temps de séjour dans chaque bain et la concentration de chaque réactif) sont établies de concert avec le pathologiste et validées dans chaque établissement. Il est primordial de vérifier la qualité des colorants et des autres réactifs utilisés avant l'usage et de remplacer ces produits au besoin.

La coloration de routine met en évidence les noyaux, dont les détails de la chromatine. Les contre-colorants doivent produire un fort contraste avec la coloration nucléaire et mettre en évidence les autres structures tissulaires (p. ex., cytoplasme, fibres de collagène). Les méthodes faisant appel à la solution d'hématoxyline et à l'éosine (H&E) et à l'hématoxyline-phloxine-safran (HPS) sont les plus couramment utilisées⁽⁴⁾.

La solution d'hématoxyline et le bleuissent qui suit doivent colorer le noyau en bleu et accentuer la définition de la membrane et de la chromatine. La contre-coloration à l'éosine réalisée lors de la coloration H&E doit donner au moins trois teintes de roses. Les érythrocytes et les granules d'éosinophiles seront rouge rosé, tandis que le cytoplasme et les autres éléments auront différentes teintes de rose plus ou moins vives selon les structures^{(4) (25) (57)}.

Dans la coloration HPS, les contre-colorants phloxine et safran permettent de mettre en évidence la morphologie tissulaire sous-jacente. Le tissu conjonctif se colore en rouge rosé et les fibres de collagène se colorent en jaune⁽⁴⁾. Les deux contre-colorations doivent être d'égale intensité sans se mélanger.

La technique de coloration des tissus congelés dans le cadre d'examens extemporanés peut différer.

18.1 Préparation des réactifs en vue de la coloration de routine

Afin d'assurer une coloration de qualité optimale, il faudrait respecter les points suivants^{(4) (25) (57)} :

- Le niveau des solutions est vérifié quotidiennement ou plus souvent selon l'utilisation. Les colorants, l'acide et l'agent bleuissant doivent submerger complètement le tissu pour que la coloration soit adéquate. Le niveau des autres réactifs (eau, alcool, solvant) doit être supérieur au niveau des colorants/acide/bleuissant pour permettre un bon rinçage.
- Il peut être nécessaire de filtrer périodiquement les colorants selon leur type, le degré de contamination, la fréquence d'utilisation et les recommandations du manufacturier.
- Le pH peut influencer sur l'efficacité des colorants et de l'eau utilisés, et devrait être vérifié périodiquement. Si le pH de l'eau courante n'est pas approprié, il faudra corriger le temps de coloration ou de rinçage en tenant compte de sa valeur^{(17) (59) (79)}.
- Si l'échantillon à colorer doit être plongé successivement dans plusieurs bains de solutions identiques, la solution la plus pure doit toujours être placée en dernier.
- Le choix du type d'eau à utiliser est fondé sur son effet sur le résultat de la coloration.
- Toute solution qui contient des débris tissulaires devrait être remplacée immédiatement. Il faudrait couvrir les bains quand ils ne sont pas utilisés afin de réduire au minimum l'évaporation.
- On établira un horaire de rotation ou de remplacement des réactifs fondé sur la quantité de lames colorées ou le temps d'utilisation⁽⁵⁹⁾.

18.2 Contrôle de la qualité de la coloration de routine

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de mettre en place des contrôles qualité spécifiques pour chacune des analyses ⁽⁷²⁾. Dans le cas de la coloration de routine, le contrôle de qualité interne devrait se traduire idéalement par l'ajout d'une lame témoin à chaque série de lames à colorer ou, à tout le moins, à chaque changement de solutions ou de paramètres de coloration ^{(4) (59)}. Il est recommandé d'utiliser des coupes témoins provenant d'un même bloc contenant différents types de tissus ⁽⁵⁷⁾.

Le technologiste médical s'assure que la qualité de la lame témoin a été vérifiée au microscope et que les correctifs nécessaires sont apportés avant de remettre les lames au pathologiste. Cette vérification est consignée, datée et paraphée ainsi que les mesures qui en découlent ^{(1) (4)}.

La qualité de la coloration peut être affectée par plusieurs facteurs, tels que le pH des solutions colorantes ou de l'eau, la force ionique de ces solutions, les agents fixateurs, la concentration et la pureté des colorants, la densité des structures, la température, le vieillissement et le degré de maturation des solutions colorantes et le solvant des colorants ⁽⁴⁾.

19.0 Montage des lames

Le montage des lames consiste à appliquer une lamelle ou un autre dispositif de protection sur une lame à l'aide d'un milieu de montage. Ce processus offre une protection contre la décoloration causée par l'oxydation par l'air ambiant ou les vapeurs de certains produits chimiques, en plus de protéger le tissu des aléas de la manipulation. Il favorise l'examen microscopique en assurant une meilleure visualisation des détails structuraux ⁽⁴⁾.

19.1 Milieux de montage

Les milieux de montage peuvent être aqueux ou résineux. Un bon milieu de montage a un indice de réfraction se situant très près de celui du verre, soit autour de 1,50. Il est chimiquement neutre, transparent et dépourvu de toute teinte. Il s'étend sans déformer ou plisser les tissus, se solidifie rapidement sans former de granulation ou de sillons et ne s'altère pas en vieillissant ⁽⁴⁾.

Les milieux de montage résineux étant solubles dans les solvants, une déshydratation dans l'éthanol à 100 % suivi d'une clarification dans un solvant sont normalement effectuées avant le montage. Les lames devraient être conservées dans un bain de solvant jusqu'à l'étape du montage pour que les tissus ne s'assèchent pas ⁽⁴⁾.

On utilisera un milieu de montage aqueux quand les solvants risquent de nuire au résultat de la coloration. Par contre, ces milieux de montage présentent plusieurs inconvénients, tels qu'un faible rendement optique ainsi qu'un montage moins résistant et moins permanent ⁽⁴⁾.

19.2 Techniques de montage

Le montage de lames peut s'effectuer manuellement ou au moyen d'un monteur de lames automatique.

En cas de montage manuel, des lamelles propres, de bonne qualité et suffisamment grandes pour couvrir entièrement le tissu doivent être utilisées⁽⁴⁾. La qualité du montage dépend du matériel utilisé ainsi que de la minutie avec laquelle la lamelle est appliquée sur la lame⁽⁵⁹⁾. Le milieu de montage en trop peut être enlevé avec un solvant⁽²⁵⁾.

Si on utilise un appareil de montage automatisé, il faut respecter les instructions d'utilisation et d'entretien du fabricant.

Avant d'entreposer les lames, il faut s'assurer qu'elles sont tout à fait sèches⁽⁴⁾.

19.2.1 Élimination des bulles d'air

Les bulles d'air emprisonnées entre la lame et la lamelle (ou un autre dispositif de protection) devraient être éliminées, particulièrement si elles se situent au niveau du tissu. On peut les éliminer en appuyant délicatement sur la lamelle avec les doigts, des pinces ou des pesées⁽⁴⁾.

20.0 Colorations spéciales

Les colorations spéciales sont des colorations ou des réactions histochimiques qui servent à mettre en évidence certains éléments présents dans le tissu. Bien qu'elles servent à démontrer des structures précises, il ne faut pas oublier que la coloration spéciale n'est pas toujours spécifique et peut colorer d'autres structures. La procédure de coloration spéciale devrait mentionner les résultats attendus, y compris la description des éléments ciblés. Ces éléments serviront à vérifier le résultat final de la coloration.

Plusieurs éléments peuvent être mis en évidence par des méthodes différentes. La méthode appliquée est choisie de concert avec les pathologistes de l'établissement. On peut consulter des ouvrages spécialisés pour se renseigner davantage sur les particularités de chaque technique de coloration spéciale. Les exigences et recommandations relatives à la coloration de routine (voir le point 18.0) s'appliquent également aux colorations spéciales.

Il faut conserver les colorants en poudre et les solutions colorantes dans des flacons hermétiquement fermés en respectant les principes d'entreposage reconnus. À cette fin, on utilisera des récipients et de la verrerie propres suivant les consignes relatives à la technique appliquée⁽⁴⁾.

Certains traitements peuvent influencer sur le résultat des colorations spéciales. Si le résultat est insatisfaisant, la recherche des causes probables devrait inclure la vérification⁽⁴⁾:

- de la fixation (adéquate et complète);
- de la coupe tissulaire;
- du déparaffinage et de l'hydratation;

- de la qualité des solutions;
- du milieu de montage.

20.1 Contrôle de la qualité

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de mettre en place des contrôles de qualité spécifiques pour chacune des analyses⁽⁷²⁾.

Idéalement, des échantillons témoins appropriés devraient être mis sur chaque lame, sinon un tissu témoin positif devrait à tout le moins accompagner chaque série d'analyse⁽⁴⁾.

Le laboratoire devrait conserver une banque d'échantillons témoins pour chacune des colorations spéciales qu'il effectue et préparer des lames témoins à partir de cette banque⁽⁴⁾. Les lames témoins peuvent aussi être d'origine commerciale. Cependant, on ne devrait utiliser ces lames qu'en dernier recours, car l'échantillon tissulaire étalé n'est généralement pas de source humaine.

Une collection de lames témoins validées ou une autre référence visuelle illustrant les cibles de la coloration spéciale est conservée au laboratoire. Ces lames ou images serviront à évaluer la qualité pendant et après la coloration ainsi qu'aux fins de formation⁽⁴⁾.

Quand cette mesure est exigée, le technologiste médical doit vérifier les étapes critiques au microscope. Il doit vérifier et consigner le résultat final de la coloration avant de remettre la lame au pathologiste⁽⁴⁾.

Le technologiste médical doit vérifier quotidiennement la température des bains et des étuves⁽⁴⁾.

20.2 Décoloration des lames colorées

Occasionnellement, il peut arriver que le tissu à examiner ne soit plus accessible, parce que l'on n'a plus accès au bloc de paraffine même ou que les coupes suivantes ne contiennent plus les structures à examiner. Il est alors possible de décolorer la lame de la coloration de routine et d'effectuer la coloration spéciale sur cette lame. Pour ce faire, il faut démonter la lame et la plonger dans le liquide clarifiant afin d'éliminer tout reste de milieu de montage, puis la rincer à fond à l'alcool. On peut ensuite passer à la décoloration, qui repose généralement sur des solutions à base d'alcool acide. Une fois la décoloration terminée, la lame est rincée et la coloration requise peut ensuite être effectuée. On peut également appliquer cette méthode quand le résultat de la coloration est sous-optimal et qu'il faut refaire la coloration de la même coupe. Fait à noter, il est impossible de décolorer des coupes colorées par des méthodes utilisant une réaction histochemique (imprégnation à l'argent, fer, etc.)⁽⁴⁾.

20.3 Emploi du four à micro-ondes dans le cadre de la coloration

Une vérification doit permettre de s'assurer que le four à micro-ondes est capable d'atteindre la performance nécessaire et qu'il est sécuritaire pour un usage en laboratoire ⁽⁵⁾ ⁽⁸⁰⁾. Les fours à micro-ondes classiques ne sont pas conçus pour une utilisation en laboratoire ⁽⁸⁰⁾.

Il ne faut mettre aucune solution inflammable dans un four à micro-ondes. Il est important d'éviter l'ébullition des solutions. Une attention particulière doit être prêtée à la ventilation, car des vapeurs chimiques pourraient se propager dans le laboratoire à l'ouverture d'un four à micro-ondes mal ventilé. Il faudrait porter des gants thermiques et des lunettes de sécurité pour manipuler tout récipient sortant du four à micro-ondes ⁽⁸⁰⁾.

Les récipients servant à chauffer des solutions dans le four à micro-ondes doivent être compatibles à cet usage et ne pas contenir de parties métallisées. Les récipients mis dans le four à micro-ondes ne devraient pas être fermés hermétiquement ⁽⁸⁰⁾.

L'intérieur du four à micro-ondes devrait être nettoyé avec une solution désinfectante. Il faut nettoyer les déversements immédiatement en prenant les précautions appropriées ⁽⁸⁰⁾.

Le technologiste médical observe les procédures de colorations au four à micro-ondes établis au laboratoire en uniformisant et en contrôlant la température, la puissance et la durée de l'exposition, et la manipulation de l'échantillon ⁽⁸⁰⁾.

20.4 Particularités de l'imprégnation à l'argent

La forte alcalinité des solutions d'argent entraîne souvent le décollement des coupes. L'emploi de lames chargées positivement est recommandé avec les solutions d'argent ⁽⁴⁾.

Avant de jeter une solution d'argent, il faut la neutraliser en y ajoutant une solution de chlorure de sodium ou d'acide chlorhydrique diluée. On doit conserver les solutions d'argent au réfrigérateur et à l'obscurité, pour prolonger leur durée de vie utile et réduire le risque d'explosion ⁽⁴⁾.

21.0 Immunohistochimie

Les techniques d'immunohistochimie (IHC) reposent sur l'emploi d'anticorps généralement marqués par des enzymes (comme l'immunoperoxydase) ou des fluorochromes (immunofluorescence) et visent à détecter la présence de molécules d'intérêt. Elles permettent souvent de préciser le diagnostic, et parfois en cas de cancer, de prévoir la réponse à un traitement ou de fournir des indices pronostiques.

Ces techniques peuvent parfois être appliquées à des échantillons cytologiques. Dans ce cas, certains facteurs préanalytiques peuvent différer. Avant d'appliquer une technique IHC sur échantillon cytologique, il faut consulter des ouvrages de référence spécialisés.

21.1 Classification des tests IHC

Les tests IHC de classe I permettent au pathologiste d'identifier des protéines d'intérêt ou des constituants cellulaires et de faciliter le diagnostic d'une lésion. Les résultats de ces tests sont intégrés au rapport d'anatomopathologie et ne font pas l'objet d'un rapport indépendant. Ces tests n'ont pas d'utilité pronostique et ne permettent pas de prévoir la réponse à un traitement. Par exemple, la recherche de cellules qui expriment les cytokératines dans un ganglion lymphatique facilite le diagnostic de micrométastase ganglionnaire. L'expression de la protéine S-100 peut confirmer l'origine nerveuse d'une tumeur à cellules fusiformes⁽⁸¹⁾.

Contrairement aux tests de classe I, les tests de classe II permettent de prévoir le risque de rechute ou la réponse à un traitement donné. Comme le résultat de ces tests peut influencer sur la conduite thérapeutique, ils font l'objet d'un programme rigoureux d'assurance de la qualité. Ils sont généralement réservés aux établissements désignés par le Ministère de la Santé et des Services sociaux qui ont validé leurs techniques avec un assez grand nombre de cas témoins positifs et négatifs. La recherche de récepteurs hormonaux (ER et PR) et du marqueur HER2 sont des exemples de test de classe II⁽⁸¹⁾.

21.2 Fixation

Comme on peut le lire à la section 10.4.1., le choix du fixateur et la durée de la fixation ont une incidence déterminante sur la qualité du résultat des analyses immunohistochimiques. Il est recommandé de placer l'échantillon dans le fixateur dans un délai d'une heure afin d'éviter la perte d'antigénicité.^{(58) (59)}

À ce jour, le formol à 10 % tamponné à pH neutre (entre 6,8 et 7,2) est le fixateur le plus souvent recommandé en immunohistochimie^{(9) (57) (58) (59) (60) (82)}.

L'emploi du liquide de Bouin comme fixateur est à proscrire, car il compromet tout recours ultérieur aux méthodes d'hybridation *in situ* (HIS) et d'IHC. Selon plusieurs publications, l'utilisation de fixateurs à base d'alcool pourrait entraîner des résultats faussement positifs à l'analyse IHC et des problèmes de surdigestion des noyaux durant l'HIS, conduisant à un échec technique^{(9) (25) (83)}.

21.3 Circulation, enrobage, microtomie et étalement

Ces étapes sont effectuées suivant les directives énoncées aux sections 14 à 17. L'épaisseur recommandée de coupe des échantillons est de 3 à 4 microns^{(25) (75) (83)}. La température de la paraffine ne doit pas dépasser 60 °C aux fins des analyses IHC⁽⁹⁾. En raison des nombreuses étapes techniques à suivre à des températures variées, l'emploi de lames chargées positivement est fortement recommandé^{(4) (57) (75) (83)}.

21.4 Décalcification

Certaines méthodes de décalcification peuvent nuire à l'efficacité des analyses IHC. Le temps de décalcification doit être le plus court possible. Le rapport d'anatomopathologie devrait faire état de la durée de la décalcification et de l'agent décalcifiant utilisé^{(9) (75)}. Pour que les résultats soient valides, les tissus témoins doivent avoir subi le même traitement⁽⁹⁾.

21.5 Étapes de la réaction immunohistochimique

21.5.1 Démasquage et restauration antigéniques

L'action du formol pouvant masquer les épitopes de certains antigènes, un démasquage antigénique est parfois nécessaire⁽⁵⁷⁾. Les méthodes doivent être strictement validées et respectées^{(9) (71)}.

Deux méthodes sont principalement utilisées :

- Le recours à des enzymes protéolytiques telles que la trypsine, la protéase ou la pepsine a un succès limité. La surdigestion ou la trop forte concentration de l'enzyme peut réduire la réaction antigénique ou endommager les tissus⁽⁵⁷⁾.
- Le démasquage par la chaleur (HIER pour *Heat-Induced Epitope Retrieval*) donne de bons résultats, mais demande une grande précision pour ce qui est de la température, de la durée d'incubation et du pH des tampons utilisés, qui peuvent varier selon l'anticorps⁽⁵⁷⁾. Cette étape de la technique IHC peut provoquer le décollement des coupes de la lame⁽²⁵⁾.

21.5.2 Blocage de l'activité enzymatique endogène

Les enzymes naturellement présentes dans certains constituants tissulaires peuvent réagir avec les réactifs utilisés et causer une coloration parasite. L'activité enzymatique peut être attribuable, entre autres, à la peroxydase ou à la phosphatase endogène. L'emploi d'un agent de blocage permet de l'inhiber⁽⁴⁾.

21.5.3 Application de l'anticorps

Les anticorps sont vendus sous forme concentrée ou pré-diluée. Si l'anticorps est concentré, il faut en établir le facteur de dilution approprié. Les anticorps concentrés peuvent être moins chers d'emploi, mais il importe d'en évaluer la consommation éventuelle pour ne pas dépasser les dates de péremption, car leur volume sera plus grand après dilution⁽²⁵⁾.

Pour un même anticorps, il peut exister plusieurs clones. Ces différents clones ne sont pas tous spécifiques du même épitope. Des anticorps monoclonaux ou polyclonaux peuvent être sélectionnés selon l'antigène recherché. Il existe également des méthodes de multi-marquage avec plus d'un anticorps.

21.5.3.1 Anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux sont spécifiques d'un seul épitope. Par contre, si l'épitope recherché est masqué ou détruit au cours des étapes précédentes de fixation ou de démasquage, le résultat de l'analyse sera faussement négatif⁽⁵⁷⁾.

21.5.3.2 Anticorps polyclonaux

Les anticorps polyclonaux peuvent se lier à plusieurs épitopes différents associés à un même antigène. Comme ils seront plus sensibles, leur marquage sera plus visible, mais leur spécificité peut être moindre. De plus, la présence d'impuretés peut se traduire par une coloration parasite. Une trop grande concentration d'anticorps polyclonaux peut entraîner des résultats faussement positifs⁽²⁵⁾.

21.5.4 Mise en évidence de l'anticorps

Une fois la réaction immunologique (antigène-anticorps) complétée, elle est mise en évidence par un marqueur chromogénique. Il est recommandé de se servir d'une trousse de détection commerciale pour révéler cette réaction⁽⁹⁾.

21.5.5 Contre-coloration

Après la mise en évidence de l'anticorps, on peut rendre les éléments structuraux du tissu visibles avec un contre-colorant⁽⁹⁾.

21.5.6 Montage de la lame

Le milieu de montage choisi dépendra du chromogène utilisé. Le plus souvent, il s'agit d'un milieu de montage résineux. Certains chromogènes tels que l'AEC (3 amino-9-éthylcarbazole) sont solubles dans l'alcool et nécessitent donc un milieu de montage aqueux⁽⁹⁾.

21.6 Contrôle de la qualité

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de mettre en place des contrôles de qualité spécifiques pour chacune des analyses. Cette exigence s'applique aux techniques d'IHC⁽⁷²⁾.

21.6.1 Matériel de contrôle

Toute réaction IHC est vérifiée avec du matériel témoin.

- Le tissu témoin positif sert à évaluer la réaction IHC de l'anticorps primaire.
- Le tissu témoin négatif sert à évaluer la spécificité de l'anticorps primaire.
- Le témoin négatif des réactifs sert à évaluer toute coloration parasite (non spécifique) non liée à l'application de l'anticorps primaire.

Tous les témoins tissulaires devraient être fixés, traités par circulation et enrobés de la même façon que le tissu du patient⁽⁵⁷⁾. Si on a du mal à obtenir un tissu témoin adéquat, on peut se servir de coupes commerciales afin de valider et de vérifier l'une ou l'autre des étapes de l'analyse à l'exclusion des étapes préanalytiques⁽⁹⁾. Ces coupes, qui ne sont généralement pas de source humaine, ne devraient être utilisées qu'en dernier recours.

Il est recommandé d'utiliser des coupes récentes. Si ce n'est pas possible, les coupes utilisées ne devraient idéalement pas remonter à plus de deux à six semaines avant le traitement^{(9) (60) (83) (84)}.

Il est possible de conserver certains antigènes plus longtemps en congelant les lames à -20 °C. La durée et la température de remisage devraient être validées pour chaque tissu et épitope⁽²⁵⁾.

21.6.1.1 Tissu témoin positif

Le tissu témoin positif est un tissu qui exprime l'antigène recherché. On s'en sert pour vérifier la réactivité de l'anticorps primaire et le bon déroulement de la réaction IHC.

Idéalement, ce témoin devrait être ajouté sur toutes les lames à traiter⁽⁹⁾. Un témoin tissulaire positif devrait à tout le moins accompagner chaque série d'analyse; on le placera à la fin de la série afin de détecter un manque de réactif.

L'emploi de témoins positifs de différentes intensités permet de valider la sensibilité de la réaction IHC. Une technique peu sensible permettra de marquer un témoin fortement positif, mais pourrait échouer (faux négatif) avec un tissu faiblement antigénique. L'ajout d'un témoin faiblement positif peut contribuer à réduire le nombre de résultats faussement négatifs⁽⁵⁷⁾.

Si le témoin positif ne permet pas d'observer les structures recherchées, l'analyse est considérée non valide⁽⁹⁾.

On devrait consulter la notice d'accompagnement (monographie) de l'anticorps afin de choisir le matériel témoin approprié. Des sites Internet recommandant certains tissus témoins peuvent également être consultés (p. ex., CiQC, NordiQc, IHC World et les fournisseurs d'anticorps).

21.6.1.2 Tissu témoin négatif

Le tissu témoin négatif est un élément tissulaire qui n'exprime pas l'antigène recherché⁽⁹⁾. Par exemple, si on fait une recherche d'antigène prostatique spécifique (APS), il peut s'agir de tissu utérin, qui ne réagira pas aux anticorps anti-APS. La majorité des tissus comprennent toutefois des éléments pouvant servir de témoin négatif interne.

Ce témoin permet de vérifier la spécificité de l'anticorps primaire. Une réaction positive invalidera le résultat de l'analyse⁽⁹⁾.

21.6.1.3 Témoin négatif des réactifs

Le témoin négatif des réactifs est une deuxième coupe tissulaire provenant du même bloc (témoin positif ou patient), sur laquelle un produit contenant un anticorps qui ne cause pas de réaction spécifique avec les tissus humains est appliqué. Ce témoin sert à cerner les colorations parasites qui ont échappé au système de détection et à faciliter l'interprétation de la coloration IHC⁽⁹⁾.

Le produit idéal devrait être de la même concentration et préparé avec le même diluant que l'anticorps primaire. Le diluant de l'anticorps primaire peut remplacer le produit idéal décrit ci-dessus. La durée de l'incubation dans le produit substitut est la même qu'avec l'anticorps primaire⁽⁹⁾.

Il n'est pas nécessaire de refaire une lame témoin négatif des réactifs quand d'autres anticorps primaires sont demandés sur le même bloc et que toutes les étapes techniques, à l'exclusion de l'anticorps primaire, sont identiques.

21.6.2 Bloc multi-tissus

La méthode d'enrobage faisant appel au bloc multi-tissus, mieux connu sous le nom de *Tissue Microarray* (TMA), peut être une solution intéressante si on souhaite mettre plusieurs témoins sur une même lame. Les blocs témoins multi-tissus peuvent également être composés de quelques fragments tissulaires plus volumineux et représentatifs des cibles recherchées.

Les blocs multi-tissus ne doivent pas servir à analyser les tissus de patients. Le tissu mis dans un bloc multi-tissus est trop petit pour permettre une bonne représentation de l'état du patient⁽⁹⁾.

21.7 Réactifs utilisés

Les points énoncés à la section 11.1.2 s'appliquent également aux réactifs utilisés en IHC.

Rappelons qu'il faut vérifier tout nouveau réactif avant sa première utilisation afin d'assurer qu'il remplit les exigences de qualité, même si le lot reçu est déjà utilisé au laboratoire, car les conditions de transport et de conservation peuvent avoir altéré les réactifs d'un même lot⁽⁹⁾.

Rappelons également que, conformément aux exigences de la norme ISO 15189-12, si des modifications sont apportées à une procédure analytique déjà validée, celle-ci doit être validée à nouveau^{(5) (9)}. La validation est également nécessaire dès que l'on modifie le processus de traitement, p. ex., la fixation, l'anticorps utilisé, le système de détection, etc.^{(9) (60) (70) (71)}

Le technologiste médical doit vérifier régulièrement les directives du fabricant relatives à la conservation, aux températures à respecter et aux temps d'incubation, entre autres⁽⁹⁾.

Selon le *Plan global d'assurance qualité en anatomopathologie* (2009), pour valider un test IHC de classe II, il faut au moins 50 cas, dont environ 50 % sont fortement positifs et 50 %, faiblement positifs ou négatifs. Pour que la validation soit acceptable, elle doit être effectuée dans les mêmes conditions préanalytiques et analytiques que les analyses IHC courantes, et le degré de concordance doit être d'au moins 95 %^{(60) (70) (81)}.

21.7.1 Réactifs ou méthodes conçus par le laboratoire

Le laboratoire peut choisir d'assembler une trousse de réactifs à partir de trousse de détection et d'anticorps offerts sur le marché. Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, le laboratoire doit valider les procédures analytiques qui proviennent de méthodes conçues par le laboratoire⁽⁵⁾. Voici quelques-uns des éléments déterminés dans le cadre de la validation⁽⁹⁾ :

- le type de tissu;
- le type et la durée de la fixation et du traitement;
- le démasquage antigénique;
- la spécificité et la sensibilité de l'analyse pour l'épitope d'intérêt;
- l'utilité clinique de l'analyse.

Le recours aux trousse commerciales homologuées et validées est préconisé^{(9) (83)}.

21.8 Évaluation de la coloration IHC

Le technologiste médical doit évaluer la qualité technique et le résultat de la coloration IHC selon les particularités de chaque anticorps en tenant compte des points suivants s'il y a lieu⁽⁵⁷⁾ :

- Les cellules ciblées sont bien définies et présentes sur la lame.
- La réaction immunohistochimique met en évidence le ou les constituant(s) cellulaire(s) recherché(s) dans les tissus témoins positifs.
- Le témoin négatif tissulaire ne réagit pas.
- Les enzymes endogènes et les immunoglobulines ne sont pas colorés.
Note : l'absence de coloration est confirmée par comparaison avec un témoin négatif des réactifs. Un résultat différent entre le tissu réactionnel (patient ou témoin positif) et le témoin négatif des réactifs peut contribuer à cerner une erreur technique.
- La contre-coloration permet de visualiser les structures tissulaires non ciblées, sans masquer la cible.

21.9 Automatisation

Quand les demandes d'analyses IHC sont très nombreuses, il peut devenir difficile de gérer l'utilisation d'un grand nombre d'anticorps tout en tenant compte des particularités de chacun⁽⁷⁰⁾.

L'automatisation permet d'uniformiser et d'améliorer la reproductibilité de la coloration et de réduire la variabilité des résultats analytiques. Par conséquent, il est fortement recommandé d'automatiser ces techniques⁽⁹⁾.

21.10 Immunofluorescence

L'immunofluorescence sert à localiser des sites antigéniques tissulaires à l'aide d'un anticorps conjugué à un fluorochrome⁽⁴⁾.

21.10.1 Préparation et acheminement du tissu

Il faut congeler les tissus le plus rapidement possible pour préserver le matériel antigénique^{(4) (29) (82)}. Normalement, les tissus sont frais ou dans un milieu de transport (comme le milieu de Michel) quand ils arrivent au laboratoire. Les tissus expédiés dans le milieu de Michel sont stables au réfrigérateur quelques semaines. Ils doivent être rincés avec un tampon de lavage avant la congélation. Cette mesure est importante, car elle empêche la formation de cristaux de sulfate d'ammonium qui peuvent nuire à la coupe au cryostat⁽⁸²⁾.

21.10.2 Confection des coupes

Les coupes, qui sont habituellement faites au cryostat, devraient avoir une épaisseur allant de 2 à 5 microns. Il est recommandé de les déposer sur des lames de verre chargées positivement afin de faciliter leur adhérence^{(4) (82)}.

La décision de recourir à la fixation, la durée de séchage et tout autre aspect technique de l'immunofluorescence sont validés suivant l'antigène recherché^{(4) (82)}.

Les coupes tissulaires peuvent être conservées au réfrigérateur ou congelées si l'analyse doit être réalisée plus tard^{(4) (82) (85)}.

21.10.3 Conservation du tissu non utilisé

Idéalement, les tissus devraient être conservés à une température d'au moins -70 °C. Ils devraient être enveloppés dans du papier Parafilm ou du papier d'aluminium avant d'être mis dans un récipient allant au congélateur. Il ne faut pas laisser les tissus trop longtemps dans un congélateur réglé à -20 °C pour éviter les artefacts de congélation. Il est cependant possible de conserver temporairement les tissus à une telle température⁽⁸²⁾.

21.10.4 Montage

On utilisera un milieu de montage aqueux à pH neutre afin de prévenir l'oxydation du fluorochrome et une baisse d'intensité de la réaction fluorescente. La coupe doit être montée rapidement et conservée à l'abri de la lumière sous peine de perdre sa fluorescence.⁽⁸²⁾

21.10.5 Contrôle de la qualité

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de mettre en place des contrôles de qualité spécifiques pour chacune des analyses⁽⁷²⁾. Dans le cas de l'immunofluorescence, un contrôle de qualité interne devrait se traduire par l'utilisation de témoins positifs et négatifs pour chaque anticorps⁽⁴⁾.

22.0 Biologie moléculaire

La biologie moléculaire permet notamment de caractériser les altérations du génome des cellules anormales ou cancéreuses. Cette caractérisation moléculaire permet de mieux classer les processus tumoraux, donc d'améliorer la précision diagnostique et pronostique, et les prévisions de réponse thérapeutique.

Les exigences et recommandations présentées dans ce document relativement aux mesures de sécurité à appliquer, à la formation du personnel et aux étapes préanalytiques (fixation, conservation, etc.) et analytiques (contrôle de la qualité, entretien des instruments, validation des troussees utilisées, etc.) s'appliquent également au domaine de la biologie moléculaire. La rapidité avec laquelle le tissu est congelé ou placé dans le fixateur (durée de l'ischémie froide) ainsi que les enregistrements des temps de fixation sont très importants en biologie moléculaire.⁽⁸⁶⁾

On consultera le laboratoire qui offre des services de biologie moléculaire pour s'assurer de lui fournir le bon type de tissu, d'appliquer la méthode de fixation nécessaire et de respecter les conditions de conservation et les délais impartis avant l'expédition ainsi que tout autre traitement ou condition à respecter.

22.1 Précautions à observer dans le cadre de la biologie moléculaire

Les méthodes appliquées à la biologie moléculaire, comme le test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) par la méthode PCR d'amplification par la polymérase, permettent d'obtenir des millions de copies d'ADN à partir d'un seul brin. La contamination des tissus par de l'ADN de source exogène est une grande préoccupation en biologie moléculaire. Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, il faut séparer efficacement les zones du laboratoire où se déroulent des activités incompatibles. Il faut instituer des procédures afin d'empêcher toute contamination croisée quand des méthodes d'analyse posent un risque de contamination ou que l'absence de séparation peut nuire au travail⁽⁵⁾.

Le laboratoire devrait réserver une pièce à l'étape qui précède l'amplification (idéalement à pression d'air positive) et une autre à l'étape qui suit l'amplification (idéalement à pression d'air négative). Afin d'éviter le va-et-vient entre ces deux pièces, on ne devrait pas déplacer les instruments et matériaux qu'on y utilise⁽⁸⁷⁾.

22.2 Techniques de biologie moléculaire

22.2.1 Hybridation *in situ*

L'hybridation *in situ* (ISH) est une technique de biologie moléculaire permettant de marquer précisément l'acide nucléique (ADN ou ARN) dans des coupes de tissu.

En raison de sa très forte sensibilité, la technique d'ISH permet de cibler aussi bien des agents pathogènes que des anomalies génétiques ou chromosomiques là où le marquage immunologique des protéines trouve ses limites. On y recourt notamment dans le cadre du diagnostic prénatal et du dépistage de cancers et d'autres maladies. Cette technique repose sur l'utilisation de sondes à ADN ou à ARN couplées à un marqueur, pouvant s'hybrider par complémentarité sur un site d'intérêt⁽⁸⁸⁾.

Il existe plusieurs méthodes d'ISH dont les deux premières sont d'usage plus fréquent en anatomopathologie⁽⁸⁸⁾ :

- L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) : pour rendre la cible fluorescente et la mettre en évidence, on utilise un marqueur fluorescent ou un marqueur possédant un site antigénique reconnaissable par un anticorps couplé à un fluorophore. La fluorescence que l'on observe au microscope à fluorescence perd de son intensité après quelques jours.
- L'hybridation *in situ* chromogénique (CISH) repose sur l'emploi d'anticorps couplés à un chromogène, dirigés contre la sonde. Le signal est permanent et est observé au moyen d'un microscope à fond clair.
- L'hybridation *in situ* argentique (SISH) repose sur l'emploi de sondes à ADN marquées par précipitation d'ions argent (Ag⁺) au locus génique. Cette réaction se manifeste par l'apparition dans le noyau cellulaire de points noirs visibles à la microscopie à fond clair. Cette technique produit des signaux distincts, faciles à compter et permanents.

22.2.2 Réaction en chaîne par polymérase

Appelée méthode PCR (de l'anglais *polymerase chain reaction*), la réaction en chaîne par la polymérase permet d'amplifier *in vitro* des séquences spécifiques d'ADN en seulement quelques heures. Le séquençage de ces fragments amplifiés d'ADN permet ensuite d'analyser précisément la région d'intérêt, par exemple, pour détecter des mutations et contribuer au diagnostic ou mesurer la charge virale d'un échantillon de sang⁽⁸⁷⁾.

À titre d'information, on a recours à la méthode PCR dans les domaines et buts suivants :

- génétique : recherche de certaines mutations;
- oncologie : recherche de clones de lymphocytes en vue de diagnostiquer les lymphomes;
- médecine légale : comparaison de sang trouvé sur la scène d'un crime avec l'ADN de suspects;
- maladies infectieuses : recherche de virus, dont le VPH;
- médecine personnalisée : caractérisation moléculaire d'une tumeur en vue d'optimiser le traitement, notamment par l'utilisation de molécules thérapeutiques ciblant des chaînes de réaction moléculaires qui participent à la croissance de la tumeur.

22.2.2.1 Contrôle de la qualité

Chaque discipline biomédicale est tenue par le Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec de mettre en place des contrôles de qualité spécifiques pour chacune des analyses⁽⁷²⁾. Dans le cas de la méthode PCR, le contrôle de qualité interne devrait se traduire par l'utilisation des témoins positif et négatif, et permettre de vérifier que cette méthode est adéquate⁽⁸⁷⁾.

23.0 Microscopie électronique

La microscopie électronique peut permettre de préciser la nature et le degré de différenciation d'une tumeur, d'évaluer diverses structures cellulaires et de cerner des anomalies (fibrille, dépôts denses, épaisseur des membranes basales, etc.). Elle se distingue de la microscopie standard par sa résolution beaucoup plus élevée et son fort pouvoir de grossissement.

23.1 Fixation

La fixation est l'étape la plus importante de la préparation des tissus en vue de l'examen au microscope électronique. Elle doit être effectuée dans les plus brefs délais après l'excision du tissu. Une fixation médiocre aura un effet désastreux sur la morphologie des structures à observer et ne pourra pas être corrigée aux étapes suivantes ^{(25) (89)}. Il est très important de consulter le laboratoire chargé de l'analyse pour choisir le bon fixateur.

La fixation se déroule généralement en deux étapes : la fixation primaire avec un mélange de glutaraldéhyde et de formaldéhyde, et la fixation secondaire effectuée à l'étape de la circulation avec du tétroxyde d'osmium (acide osmique). Le tétroxyde d'osmium offre l'avantage de bien préserver les détails cytologiques, mais on ne peut pas laisser les tissus en contact avec ce produit plus de deux à quatre heures ^{(25) (89)}. Le tétroxyde d'osmium est toxique et doit être manipulé avec soin sous une hotte ⁽⁹⁰⁾.

Bien qu'il ne s'agisse pas du moyen idéal, la microscopie électronique peut dans certains cas convenir à l'examen de tissu fixé au formol, d'un bloc de paraffine, d'une lame de coloration de routine ou de préparations cytologiques ^{(25) (89)}. Il faut consulter le laboratoire chargé de l'analyse pour s'informer sur les étapes supplémentaires de préparation nécessaires.

23.2 Circulation du tissu

La circulation du tissu est semblable, que l'examen soit réalisé avec un microscope électronique ou standard. Il faut toutefois utiliser un milieu d'enrobage particulier (en résine) en vue de la microscopie électronique ⁽²⁵⁾.

23.3 Coupe du tissu

La coupe du tissu en vue de la microscopie électronique est plus complexe que la coupe de routine. On l'effectue avec un microtome adapté à cet usage (ultra-microtome). On fait d'abord une coupe semi-fine au rasoir de verre afin de vérifier le contenu et l'orientation du tissu. La coupe finale est faite au rasoir en diamant et son épaisseur va de 50 à 90 nm ⁽²⁵⁾.

23.4 Étalement

Contrairement à la coupe ordinaire que l'on étale dans un bain séparé, on étalera la coupe pour microscopie électronique en la laissant glisser dans un bain d'eau placé derrière le tranchant du couteau.

23.5 Coloration

Aux fins de la microscopie électronique, on réalise habituellement des colorations spécialement conçues (p. ex., citrate de plomb aqueux et acétate d'uranyle) ⁽²⁵⁾. La réalisation de ces colorations dépasse le cadre de ce document.

24.0 Télépathologie

Champ spécialisé de la télémédecine, la télépathologie est la pratique de l'anatomopathologie à distance. Cette méthode de travail exige divers équipements spécialisés comme un microscope, un numériseur de lames, un moyen de télécommunication et un poste de travail informatisé ainsi que la maîtrise de ces outils.

L'Association canadienne des pathologistes a publié des lignes directrices sur l'implantation de services de télépathologie⁽⁹¹⁾ que l'on peut trouver sur son site web : http://www.cap-acp.org/cmsUploads/CAP/File/Telepathology_Guidelines_Final_v_13.pdf.

24.1 Applications de la télépathologie

Voici quelques applications de la télépathologie :

- réalisation de l'examen macroscopique à distance, qu'il s'agisse de l'examen extemporané ou de routine d'une grosse pièce chirurgicale;
- en l'absence de pathologiste dans les centres où l'on pratique des chirurgies, la télépathologie permet de mener des examens extemporanés. L'envoi d'images fixes ou dynamiques d'échantillons ou de coupes tissulaires colorées au pathologiste lui permet alors de poser un diagnostic et de guider la conduite chirurgicale;
- établissement de diagnostics primaires. Le pathologiste examine des pièces prélevées à la chirurgie ou par biopsie dans un cadre courant (non extemporané). Cette pratique est actuellement limitée par le manque de convivialité de la plupart des logiciels de télépathologie;
- obtention d'un deuxième avis. L'élimination des barrières géographiques rend la consultation possible, notamment dans les cas complexes, et donne plus rapidement accès à des experts de pointe;
- téléformation.

24.2 Conditions techniques

La bonne conduite des activités de télépathologie repose sur deux conditions techniques : la présence dans l'établissement de matériel se prêtant à l'application prévue et le respect des normes technologiques assurant la bonne qualité des données transmises.

Selon l'application prévue, le site primaire (qui fait la demande de consultation) est équipé d'une caméra numérique à haute résolution, d'un numériseur de lames et d'un ordinateur doté de logiciels de lecture des images. Le site secondaire (qui offre les services d'un expert) doit avoir un poste de travail performant, des logiciels de lecture d'images et un écran à haute résolution spatiale et à haute luminance permettant d'afficher les images transmises avec netteté. Parfois, on recourt parallèlement à la visioconférence ou au téléphone pour vérifier la qualité de la technique ou guider l'acquisition des images fixes⁽⁹²⁾.

Au Québec, les équipements de télépathologie comprennent également un module de macroscopie qui permet au pathologiste de voir l'échantillon macroscopique en temps réel pour en discuter aussitôt avec le personnel du laboratoire ou le chirurgien.

24.3 Responsabilité des sites participants

En télépathologie, les échantillons du site primaire sont examinés par un pathologiste au site secondaire.

24.3.1 Site primaire

La responsabilité médicale du site primaire est la même que s'il s'agissait de lames expédiées par courrier pour consultation ⁽⁹³⁾ :

- Le laboratoire identifie le fichier et les images de façon appropriée avec l'identifiant unique propre au patient.
- Le site primaire s'assure que le pathologiste consultant a toutes les données cliniques nécessaires (comme les rapports d'anatomopathologie antérieurs et les images médicales) à l'établissement d'un diagnostic. Si les pathologistes participants jugent que le système ne fournit pas suffisamment d'information clinique, il faudrait compléter l'examen télépathologique par d'autres moyens ou y renoncer.
- Outre les responsabilités mentionnées précédemment, le site primaire est habituellement responsable de la gestion, de l'archivage et de la sécurité des données. Il doit notamment conserver les images durant la période établie par l'établissement. ⁽⁹¹⁾

24.3.2 Site secondaire

Le diagnostic incombe généralement au pathologiste du site secondaire.

24.4 Sécurité des données

Un système d'échange de données doit préserver la confidentialité des données sur les patients et protéger les données qui y sont archivées en cas de panne ou de problème informatique ^{(91) (93) (94)}.

25.0 Autopsie

L'autopsie consiste à effectuer l'examen complet ou partiel d'un cadavre.

25.1 Réglementation relative à l'autopsie

En vertu du *Règlement d'application de la Loi sur les laboratoires médicaux, la conservation des organes et des tissus et la disposition des cadavres* ⁽⁵³⁾, un bulletin de décès (formulaire SP3 ou SP4 pour les mort-nés) doit accompagner le cadavre. Le technologiste médical doit s'assurer qu'il a accès à ce bulletin de décès, à une ordonnance médicale d'autopsie ⁽⁴⁹⁾ ainsi qu'au formulaire d'autorisation dûment rempli et signé (formulaire AH276) avant de procéder à l'autopsie. Des exigences différentes s'appliquent dans les cas pris en charge par le coroner. La *Loi sur la recherche des causes et des circonstances des décès* ⁽⁹⁵⁾ encadre la prise en charge de ces cas et dépasse le cadre de ce document.

Selon ce même Règlement, toute personne manipulant ou prenant charge d'un cadavre doit être informée de la cause probable du décès, quand celle-ci est connue, pour être en mesure de prendre les dispositions nécessaires afin d'éviter la contagion ⁽⁵³⁾. Cependant, il serait souhaitable que les renseignements cliniques incluent la présomption de maladie transmissible, même si elle n'est pas liée à la cause du décès, pour que des précautions supplémentaires puissent être prises.

Le technologiste médical doit comparer l'identité apposée sur le cadavre à l'identité inscrite sur l'ordonnance médicale et le bulletin de décès, et résoudre toute discordance avant de procéder à l'autopsie ⁽¹⁾.

25.1.1 Conservation du cadavre

En vertu du *Règlement d'application de la Loi sur les laboratoires médicaux, la conservation des organes et des tissus et la disposition des cadavres*, un cadavre humain qui est gardé plus de 24 heures après le décès doit être conservé à une température inférieure à 5 °C ou être embaumé ⁽⁵³⁾.

25.1.2 Autopsie des fœtus et des mort-nés

Depuis 2008, la définition du terme *défunt* figurant dans la *Loi sur les laboratoires médicaux, la conservation des organes et des tissus et la disposition des cadavres* (section 1, paragraphe j) a été modifiée et, par conséquent, la Loi ne fait plus de distinction entre les mort-nés de plus de 500 g et de moins de 500 g. Les fœtus ou les mort-nés de moins de 500 g ne sont plus considérés comme des déchets biomédicaux, mais bien comme des défunts ⁽⁹⁶⁾.

25.1.3 Autopsie impliquant l'investigation d'un coroner

La *Loi sur la recherche des causes et des circonstances des décès* prévoit que le médecin qui constate un décès dont il ne peut établir la cause probable ou qui lui apparaît être survenu par suite de négligence ou dans des circonstances obscures ou violentes doit en aviser immédiatement un coroner ou un agent de la paix. La Loi permet au coroner d'ordonner l'autopsie d'un corps. Le coroner peut ordonner des expertises spécifiques n'importe quand durant l'autopsie; il peut même annuler son ordonnance d'autopsie. Toute personne qui entrave ou tente d'entraver le travail du coroner commet une infraction au sens de cette Loi⁽⁹⁵⁾.

25.2 Méthode d'autopsie

Le choix d'une méthode d'autopsie et son adaptation dépendent des restrictions imposées et des données cliniques sur le patient ainsi que du risque de blessure ou de contamination⁽⁹⁷⁾.

L'annexe 2 présente les diverses méthodes d'autopsie.

25.3 Salle d'autopsie

L'autopsie pouvant s'étaler sur plusieurs heures, il importe de la pratiquer dans un environnement adapté au personnel qui y participe.

Les éléments suivants devraient être pris en considération à la conception de la salle d'autopsie^{(28) (44) (98) (99) (100) (101)} :

- La table d'autopsie devrait être assez haute et large pour permettre de travailler à l'aise sans fatigue posturale.
- Le corps devrait être déplacé avec un lève-personne ou par deux personnes.
- Le personnel devrait avoir accès à une douche et à du savon désinfectant.
- Les comptoirs, murs et planchers doivent être faits de matériaux non poreux faciles à désinfecter.
- La salle devrait contenir un évier de hauteur confortable, dont la robinetterie est activée avec les pieds.
- La salle d'autopsie doit être sous pression négative. L'air total devrait y être filtré et renouvelé 12 fois par heure et changé par de l'air frais (extérieur) 2 fois par heure. Aucune recirculation d'air ne devrait être permise. L'air vicié devrait être évacué directement à l'extérieur du bâtiment.

25.4 Précautions à prendre pendant l'autopsie

Le cadavre doit toujours être considéré potentiellement infectieux. Il faut prendre des précautions particulières durant l'autopsie afin d'éviter la contamination et la propagation d'agents pathogènes tels que le virus de l'hépatite, le virus de l'immunodéficience humaine, le bacille de la tuberculose et le prion responsable de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (voir le point 5.1)⁽⁹⁹⁾. La contamination au cours de l'autopsie peut se faire par les modes suivants⁽⁹⁷⁾ :

- inoculation percutanée;
- inhalation;
- ingestion;
- contamination par la peau (sans coupure ou piquûre);
- contamination par les muqueuses (yeux, bouche, nez).

Les portes et fenêtres de la salle d'autopsie devraient être tenues fermées pendant l'autopsie et devraient demeurer fermées assez longtemps après la fin de l'autopsie pour que l'air de la pièce soit débarrassé de ses contaminants aéroportés⁽³¹⁾.

25.4.1 Équipement de protection individuelle (ÉPI)

L'ÉPI choisi doit permettre :

- de protéger le personnel des coupures ou piquûres par des instruments ou durant les manipulations;
- d'éviter tout contact entre les échantillons biologiques et la peau;
- d'éviter la contamination par des aérosols.

Si un ÉPI non imperméable est souillé, il doit être changé immédiatement. Toute égratignure ou blessure antérieure doit être recouverte d'un pansement imperméable⁽³⁴⁾.

Il faut retirer l'ÉPI porté durant l'autopsie avant de quitter la salle d'autopsie. Les protecteurs et les vêtements jetables doivent être jetés dans des contenants pour déchets biomédicaux. Les vêtements protecteurs réutilisables et les chaussures doivent être nettoyés adéquatement^{(28) (99)}.

25.4.1.1 Vêtements protecteurs

Les vêtements protecteurs servent à empêcher tout contact entre des échantillons biologiques et la peau⁽⁹⁹⁾.

- Le port de vêtements jetables en papier est à éviter, car le papier absorbe facilement le sang et les liquides, et peut contaminer la peau;

- Les vêtements en tissu protègent plus efficacement le personnel. Il est recommandé de porter une blouse et un pantalon de tissu. L'ajout d'une blouse d'hôpital à manches longues avec poignets doublera la protection sous-jacente. Les avant-bras et l'abdomen sont les parties du corps les plus exposées aux souillures. Le port d'un tablier et de manchons imperméables est recommandé.

25.4.1.2 Gants

Les gants protègent les mains des contaminants biologiques ainsi que des éventuelles coupures et piqûres avec les instruments ou des os qui font saillie ^{(28) (99)}.

- Les gants de latex ou de nitrile ainsi que les gants chirurgicaux offrent une imperméabilité acceptable. Avec le temps, le latex s'altère et perd son intégrité. Il faut donc changer les gants régulièrement pendant l'autopsie. Le port d'une deuxième paire de gants par-dessus la première procurera une protection additionnelle;
- Les gants à mailles fines offrent une plus grande protection contre les coupures ou les piqûres. Ce type de gant se porte entre deux gants. Le deuxième gant devrait être plus grand que le premier pour que celui qui les porte conserve une certaine dextérité;
- Le gant devrait avoir un long poignet et remonter sur le poignet de la blouse d'hôpital.

25.4.1.3 Appareil de protection respiratoire

Un appareil de protection respiratoire protège l'utilisateur contre l'exposition à des agents infectieux aéroportés et l'ingestion accidentelle de liquides.

Un appareil de protection respiratoire à haut pouvoir filtrant doit être offert. Le masque jetable de type N-95 est recommandé ⁽²⁸⁾. Selon la norme *CAN/CSA Z94.4-F11 Choix, utilisation et entretien des appareils de protection respiratoire*, il faut faire un ou plusieurs essais pour choisir le modèle qui convient à l'utilisateur ⁽¹⁰²⁾. Si l'appareil de protection respiratoire est souillé de liquide ou devient humide, il doit être changé immédiatement.

25.4.1.4 Protection oculaire

Il faudrait porter des lunettes protectrices homologuées pour usage personnel ou, idéalement, une visière (écran facial) pleine longueur qui descend jusqu'au cou afin de protéger les yeux du personnel contre une éventuelle contamination par des substances biologiques ⁽²⁸⁾.

25.4.1.5 Casque

Un casque ou un bonnet jetable couvrant entièrement les cheveux permet de protéger ceux-ci contre une éventuelle contamination par des substances biologiques⁽²⁸⁾.

25.4.1.6 Protection pour les pieds

Le port de chaussures fermées ou de bottes imperméables complète bien l'ÉPI^{(28) (34)}.

25.4.2 Autres précautions à prendre durant l'autopsie

On recommande les précautions suivantes pendant l'autopsie afin d'assurer la protection du personnel^{(28) (98)} :

- Pour diminuer le risque d'égratignures et de perforation des gants, on peut couvrir les côtes de papier épais ou de serviettes après les avoir sectionnées.
- Utiliser une scie branchée à un système d'aspiration avec filtre HEPA afin d'éviter toute contamination aérienne à l'ouverture de la boîte crânienne. L'ouverture de la boîte crânienne devrait être effectuée à la fin de l'autopsie. On peut placer un dispositif de protection autour de la tête du cadavre pour contenir la poussière et les éclaboussures. Le moteur de certaines scies est pourvu d'orifices de ventilation; il faut prendre des précautions pour éviter que des poussières d'os contaminé pénètrent dans ces orifices.
- Durant l'utilisation du bistouri ou d'un autre outil tranchant, seul l'utilisateur devrait toucher au corps.
- Privilégier l'emploi de ciseaux ou de lames de bistouri à bout arrondi.
- Être toujours conscient de l'emplacement des instruments tranchants.
- Travailler de façon à réduire au minimum les éclaboussures.
- Nettoyer tout liquide au sol immédiatement afin d'éviter des chutes.

25.5 Mesures à prendre après l'autopsie

25.5.1 Traitement du corps après l'autopsie

Quand l'autopsie est terminée, le corps est refermé et sa surface extérieure est lavée. Par la suite, il faut s'assurer que le corps est toujours bien identifié, l'emballer dans un linceul imperméable et le mettre dans un espace réfrigéré⁽²⁸⁾.

25.5.2 Désinfection

Les précautions suivantes assureront la désinfection efficace de la salle d'autopsie et de son contenu ^{(28) (98)} :

- Tous les instruments, la table d'autopsie et les accessoires doivent être lavés et désinfectés après chaque utilisation;
- Les murs, planchers et surfaces de travail doivent être lavés avec une solution détergente et désinfectés au besoin. Il en est de même pour la civière ayant servi au transport du corps;
- L'extérieur de tous les récipients qui contiennent des tissus doit être exempt de souillures et désinfecté;
- Des désinfectants commerciaux ou de l'eau de javel diluée peuvent servir à la désinfection.
Une immersion prolongée dans l'eau de javel fera rouiller les instruments en acier inoxydable ou en aluminium. Il est recommandé de ne pas laisser ces instruments tremper pendant plus de dix minutes;
- Il faut se débarrasser du matériel jetable souillé conformément au *Règlement sur les déchets biomédicaux* ⁽⁷⁶⁾.

26.0 Exigences postanalytiques

26.1 Vérification des lames

Après avoir franchi toutes les étapes de la préparation des lames, le technologiste médical vérifie que les lames d'un patient donné sont accompagnées de la documentation correspondante. La documentation (qui peut être sur support électronique) peut comprendre l'ordonnance médicale, une feuille de travail ou le rapport de réception ou de macroscopie.

Cette vérification, qui devrait comporter la comparaison des nom, prénom et deuxième identifiant figurant sur la lame et dans la documentation, devrait permettre de détecter toute erreur qui aurait pu survenir au cours du processus. Il est également recommandé de comparer la forme du tissu sur la lame avec celle du tissu inclus dans le bloc de paraffine correspondant. Enfin, le technologiste médical doit confirmer que le nombre de fragments inscrit dans la documentation correspond au nombre de fragments compté sur les lames du patient ⁽¹⁶⁾.

26.2 Rapport d'anatomopathologie

Le rapport d'anatomopathologie peut comprendre plusieurs sections, dont l'examen macroscopique, l'examen microscopique, le diagnostic ainsi que toute analyse supplémentaire effectuée. Le contenu du rapport d'anatomopathologie relève du pathologiste et est déterminé par celui-ci.

26.3 Conservation des échantillons et des rapports d'anatomopathologie

Le laboratoire conserve les échantillons et les rapports d'anatomopathologie conformément à la réglementation en vigueur ainsi qu'au calendrier de conservation de l'établissement. À titre indicatif, l'Association des pathologistes du Québec recommande de se servir du calendrier de conservation de l'Association canadienne des pathologistes⁽¹⁰³⁾.

L'annexe 3 présente les exigences réglementaires ainsi que les recommandations de plusieurs organismes en ce qui a trait à la conservation des échantillons et des rapports.

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, les échantillons et les rapports doivent être conservés dans un endroit accessible seulement au personnel autorisé⁽⁵⁾.

26.3.1 Conservation du tissu non circulé

Le tissu remis au laboratoire d'anatomopathologie qui n'a pas été circulé est mis en « réserve » au cas où on aurait besoin de matériel supplémentaire. Le tissu non fixé est conservé au congélateur, tandis que le tissu fixé est normalement conservé à la température de la pièce dans un endroit bien ventilé⁽¹⁷⁾.

On déterminera la durée de conservation en tenant compte du type de tissu et des analyses qui pourraient être demandées plus tard. À titre indicatif, l'Association canadienne des pathologistes recommande de conserver le tissu pendant quatre semaines après l'émission du rapport final⁽¹⁰⁴⁾.

26.3.2 Conservation des blocs et des lames

Comme le prescrit la norme ISO 15189-12, il faut adapter un espace et réunir des conditions d'entreposage appropriées afin d'assurer l'intégrité permanente des blocs de paraffine et des lames à conserver.⁽⁵⁾

26.4 Élimination des échantillons

Il faut éliminer les échantillons conformément au *Règlement sur les déchets biomédicaux* et aux exigences de protection des renseignements personnels figurant sur leur support ou contenant^{(76) (94)}.

26.4.1 Élimination du tissu non circulé

Les pièces anatomiques conservées dans le formol ou à l'état frais (au congélateur) sont considérées comme des déchets biomédicaux par le *Règlement sur les déchets biomédicaux*⁽⁷⁶⁾. Il faut les incinérer avant de les éliminer. Si un tissu a séjourné dans le formol, il faut récupérer l'excédent de formol avant son incinération. Le formol doit être éliminé conformément au *Règlement sur les matières dangereuses*⁽³⁹⁾.

26.4.2 Élimination des blocs de paraffine et des lames

Si on n'a pas de raison de croire que les blocs de paraffine contiennent des prions, on peut les jeter avec les ordures régulières. Selon le *Règlement sur les déchets biomédicaux*, les blocs de paraffine contenant ou soupçonnés de contenir des prions doivent être incinérés⁽⁷⁶⁾.

Si on n'a pas de raison de croire que les lames contiennent des prions, on peut les jeter avec les ordures régulières dans des contenants rigides identifiés conformément aux politiques en vigueur dans l'établissement. Selon le *Règlement sur les déchets biomédicaux*, les lames contenant ou soupçonnées de contenir des prions doivent être incinérées⁽⁷⁶⁾.

Annexe 1

Indicateurs de qualité au laboratoire d'anatomopathologie

Voici une liste non exhaustive d'indicateurs de qualité qui pourraient être utiles au laboratoire d'anatomopathologie^{(11) (105)} :

Processus préanalytique
• Retards de transport des échantillons • Proportion des récipients reçus non identifiés ou mal identifiés • Fréquence des erreurs de saisie de données informatiques • Proportion des ordonnances sur lesquelles des renseignements cliniques manquent ou sont incomplets • Proportion des échantillons dont la fixation est insatisfaisante (quantité ou durée) • Temps écoulé entre l'arrivée de l'échantillon au laboratoire et son traitement • Taux de conformité au contrôle externe de la qualité
Processus analytique
• Proportion des lames qui sont rejetées • Taux de conformité au contrôle externe de la qualité • Fréquence des bris d'équipement et durée du temps d'arrêt • Pourcentage de réactifs périmés avant leur utilisation complète • Pourcentage de corrélation satisfaisante entre les résultats de la cytologie, de la biopsie, de la coupe au cryostat et le diagnostic final • Nombre d'échantillons en attente de traitement • Nombre de blocs en attente de coupe • Nombre d'accidents imputables à des coupures au microtome • Nombre d'accidents imputables à des produits chimiques • Nombre de lames endommagées par le monteur de lames
Processus postanalytique
• Temps de réponse aux demandes urgentes ou critiques • Fréquence de correction des erreurs dans les rapports d'anatomopathologie • Taux de conformité au contrôle externe de la qualité (p. ex. : erreur de saisie des résultats.)

Annexe 2

Méthodes d'autopsie

Voici les méthodes d'autopsie les plus utilisées⁽⁹⁹⁾ :

- **La méthode Virchow** : Elle consiste à enlever les organes un par un. Elle permet de noter les altérations pathologiques dans chaque organe. Toutefois, si on y recourt, l'examen de l'organe dans son siège naturel ne sera plus possible; cette limite peut être importante dans certains cas. On recourt de préférence à cette méthode quand le consentement à l'autopsie se limite à certains organes ou régions du corps ou que le risque de contagion est jugé très grand. Cette méthode est la plus sécuritaire en ce qui a trait au risque de coupures ou d'éclaboussures⁽²⁸⁾.
- **La méthode en masse** : Cette méthode permet de retirer tous les organes en même temps, du cou jusqu'aux organes pelviens. C'est celle qui convient le mieux à l'observation de la relation entre les organes et leur vascularisation. Comme tous les organes sont retirés en même temps, il faut être deux pour la pratiquer. Étant donné qu'il y a deux intervenants et que certaines sections sont faites à l'aveuglette, le risque de coupures est plus grand.
- **La méthode en bloc**. Cette méthode consiste à enlever les organes par blocs. Par exemple, il peut s'agir de retirer les organes thoraciques avec les organes cervicaux, les organes abdominaux avec les organes génito-urinaires, etc. Ces blocs d'organes peuvent être traités différemment selon les exigences et les attentes du pathologiste. Cette méthode permet d'examiner l'organe en relation avec les structures qui l'entourent habituellement. Elle est un compromis entre la méthode de Virchow et la méthode en masse. Elle peut être pratiquée par une seule personne et est plus sécuritaire que la méthode en masse.
- **La méthode Rokitansky** : Suivant cette méthode, chaque organe est examiné et ouvert sur place. Si une anomalie est détectée, l'organe et les structures avoisinantes sont prélevés en bloc. Cette méthode associe la méthode de Virchow à la méthode en bloc. Étant donné la possibilité que des organes soient enlevés en bloc, le risque de coupure accidentelle est plus grand.

Annexe 3

Conservation des échantillons et de la documentation

Attention : Ces recommandations sont présentées **uniquement** à titre informatif. Les technologistes médicaux travaillant dans le secteur public doivent se conformer au calendrier de conservation en vigueur dans leur établissement.

ÉCHANTILLONS OU DOCUMENTATION	ORGANISME			
	OPTMQ ^a (RLRQ, c. C-26, r.254)	RLRQ, c. L-0.2, r.1	ACP	CAP
Tissu de réserve pour pathologie chirurgicale			4 semaines après le rapport final	2 semaines après le rapport final
Tissu de réserve d'autopsie non médico-légale ^b			3 mois après le rapport final	3 mois après le rapport final
Blocs de paraffine pour pathologie chirurgicale ^c		10 ans	20 ans	10 ans
Blocs de paraffine de l'autopsie non médico-légale ^b			10 ans	10 ans
Lames pour pathologie chirurgicale		10 ans	20 ans	10 ans
Lames d'autopsie non-médico-légale ^b			10 ans	10 ans
Ordonnances pour l'anatomopathologie	5 ans	10 ans	Copie papier : 2 ans	
Rapports d'anatomopathologie	5 ans	10 ans	Indéfiniment	10 ans
Rapports d'autopsie non médico-légale ^b	5 ans		Indéfiniment	10 ans

À titre indicatif, l'Association des pathologistes du Québec recommande de se servir du calendrier de conservation de l'Association canadienne des pathologistes⁽¹⁰³⁾.

Annexe 3 (suite)

Conservation des échantillons et de la documentation

Légende :

- **OPTMQ, (RLRQ, c. C-26, r.254)** : *Règlement sur la tenue des dossiers des technologistes médicaux*⁽¹⁰⁶⁾.
- **RLRQ, c. L-0.2, r.1** : *Règlement d'application de la Loi sur les laboratoires médicaux, la conservation des organes, des tissus, des gamètes et des embryons et la disposition des cadavres*, art. 138. **Note** : Ce règlement ne s'applique pas aux laboratoires de biologie médicale du secteur public⁽⁵³⁾.
- **ACP** : Canadian Association of Pathologists/ Association Canadienne des Pathologistes, *The Retention and Use of Human Biologic Material*, 2005⁽¹⁰⁴⁾.
- **CAP** : College of American Pathologists, *Retention of laboratory records and materials*, version réaffirmée en juin 2013⁽¹⁰⁷⁾.

Notes :

^aD'après le *Règlement sur la tenue des dossiers des technologistes médicaux*, le technologiste médical qui exerce dans le secteur public et qui peut inscrire ou faire inscrire des données relatives au client dans le dossier de l'établissement n'est pas tenu de se conformer à l'exigence de conservation de 5 ans. Il doit cependant respecter les exigences de conservation prévues au calendrier de conservation de l'établissement.

^bLa durée de conservation peut être plus longue s'il s'agit d'une autopsie médico-légale.

^cL'Association canadienne des pathologistes recommande de conserver les blocs de paraffine provenant de cas pédiatriques spéciaux durant au moins 50 ans.

BIBLIOGRAPHIE

1. **ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC.** *Normes de pratique du technologiste médical*, troisième édition, Montréal, OPTMQ, 2005, 21 p.
2. **ASSOCIATION FRANÇAISE D'ASSURANCE QUALITÉ EN ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES.** *Recommandations de bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologiques*, v2, 2009, 25 p.
3. **CONSEIL CANADIEN D'AGRÈMENT DES SERVICES DE SANTÉ.** *Programme d'agrément du CCASS: Glossaire*, sixième édition, Ottawa, CCASS, 2007, 43 p.
4. **FORTIER, Jacques C., et René HOULD.** *Histotechnologie théorie et procédés*, Montréal, Centre collégial de développement de matériel didactique, 2003, 717 p.
5. **ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION.** *ISO 15189:2012(F) Laboratoires de biologie médicale - Exigences concernant la qualité et la compétence*, troisième édition, Genève, ISO, 2012, 52 p.
6. **LALIBERTÉ, Alain.** *Techniques instrumentales en biologie médicale*, Tome 2, Québec, Odile Germain inc., 1989, 280 p.
7. **OFFICE QUÉBÉCOIS DE LA LANGUE FRANÇAISE.** *Le grand dictionnaire terminologique*, [En ligne] <http://www.oqlf.gouv.qc.ca/ressources/gdt.html>. Consulté le 9 avril 2014.
8. **ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION.** *ISO 9000:2005 (F) Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire*, troisième édition, Genève, ISO, 2005.
9. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second Edition*, CLSI document I/LA28-A2, Wayne, PA, CLSI, 2011, 135 p.
10. **MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SERVICES SOCIAUX DU QUÉBEC.** *Conformité des laboratoires de biologie médicale à la norme CAN/CSA-15189 « Laboratoire d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence »*, Circulaire n° 5005-007, 2005.
11. **ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC.** *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale: Règles de pratique*, deuxième édition, Montréal, OPTMQ, 2009, 98 p.
12. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Quality Management System: A model for Laboratory Services; Approved Guideline-Fourth Edition*, CLSI document GP26-A4, Wayne, PA, CLSI, 2011, 143 p.
13. **DUNN, Edward J., et Paul J. MOGAN.** « Patient misidentification in laboratory medicine ». *Arch Pathol Lab Med*, February 2010, vol. 134, p. 244-255.
14. **ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION.** *ISO 9001:2008 (F) Système de management de la qualité - Exigences*, quatrième édition, Genève, ISO, 2008, 29 p.

15. **ORGANISATION DE COOPÉRATION ET DE DÉVELOPPEMENT ÉCONOMIQUES.** *ENV/MC/CHEM(98)17 Les principes de l'OCDE de bonnes pratiques de laboratoire*, Paris, OCDE, 1998, 40 p.
16. **NAKHLEH, Raouf E., et Patrick L. FITZGIBBONS.** *Quality Management In Anatomic Pathology*, Northfield, IL, College of American Pathologists, 2005, 183 p.
17. **COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS.** *Anatomic Pathology Checklist, CAP Accreditation Program*, Northfield, IL, College of American Pathologists, 2012, 72 p.
18. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Accuracy in Patient and Sample Identification; Approved Guideline*, CLSI document GP33-A, Wayne, PA, CLSI, 2010, 55 p.
19. **RAFF, Lester J., et autres.** « The effectiveness of inking needle core prostate biopsies for preventing patient specimen identification errors », *Arch Pathol Lab Med*, février 2009, vol. 133, p. 295-297.
20. *Loi sur la santé et la sécurité du travail* (RLRQ, chapitre S-2.1).
21. *Règlement sur la santé et la sécurité du travail* (RLRQ, chapitre S-2.1, r.13).
22. **SHEMATEK, Gene, et Wayne WOOD.** *La sécurité au laboratoire-Directives de la SCSLM*, septième édition, Hamilton, Société canadienne de science de laboratoire médical, 2012, 129 p.
23. **ASSOCIATION CANADIENNE DE NORMALISATION.** *CAN/CSA-Z15190-05 Medical laboratories - Requirements for safety (Laboratoires de médecine - Exigences pour la sécurité)*, Mississauga, Association canadienne de normalisation, 2005, 39 p.
24. **AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA ET AGENCE CANADIENNE D'INSPECTION DES ALIMENTS.** *Normes et lignes directrices canadiennes sur la biosécurité*, Ottawa, Agence de la santé publique du Canada, 2013, 385 p.
25. **CARSON, Freida L., et Christa HLADIK.** *Histotechnology A Self-Instructional Text*, troisième édition, Chicago, ASCP Press, 2009, 400 p.
26. **SANTÉ CANADA.** « Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les établissements de santé-Supplément guide de prévention des infections », *Relevé des maladies transmissibles au Canada*, juillet 1999, vol. 25S4, 157 p.
27. **SANTÉ CANADA.** « Lavage des mains, nettoyage, désinfection et stérilisation dans les établissements de santé-Supplément guide de prévention des infections », *Relevé des maladies transmissibles au Canada*, 1998, vol. 42S8, 57 p.
28. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Third Edition*, CLSI document M29-A3, Wayne, PA, CLSI, 2005, 109 p.
29. **LESTER, Susan C.** *Manual of Surgical Pathology*, troisième édition, Philadelphia, PA, Elsevier Saunders, 2010, 565 p.

30. **AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA.** *Complexe Mycobacterium tuberculosis - Fiche technique santé-sécurité: agents pathogènes*, Ottawa, Agence de la santé publique du Canada, 2012, 7 p.
31. **AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA, SOCIÉTÉ CANADIENNE DE THORACOLOGIE ET ASSOCIATION PULMONAIRE DU CANADA.** *Normes canadiennes pour la lutte antituberculeuse*. septième édition, Ottawa, Agence de la santé publique du Canada, 2014, 501 p.
32. **BOURGET, Stéphane (stephane.bourget@phac-aspc.gc.ca).** *Avis sur la tuberculose de l'Agence de la Santé Publique du Canada, Direction de la Réglementation des Agents Pathogènes concernant les mesures appropriées à utiliser pour les tissus fixés au formaldéhyde*, [courrier électronique à Anne-Marie Martel] (ammartel@optmq.org), 24 octobre 2011.
33. **GERSTON, Kenneth F., et autres.** « Viability of mycobacteria in formalin-fixed lungs ». *Hum Pathol*, mai 2004, vol. 35, n° 5, p. 571-575.
34. **CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION.** « Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories », *MMWR*, janvier 2012, vol. 61 (supplément), 102 p.
35. **SANTÉ CANADA.** « Guide de prévention des infections: La maladie de Creutzfeldt-Jakob classique au Canada », *RMTC*, novembre 2002, vol. 28S5, 93 p.
36. **AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA.** *Guide de consultation rapide: La maladie de Creutzfeldt-Jakob classique au Canada*, Ottawa, ASPC, 2007, 18 p.
37. **ASSOCIATION PARITAIRE POUR LA SANTÉ ET LA SÉCURITÉ DU TRAVAIL DU SECTEUR AFFAIRES SOCIALES (ASSTSAS).** *Fiche technique ASSTSAS laboratoire: Travail au microtome, Secteur pathologie*, Montréal, ASSTSAS, 2005, 4 p.
38. **ASSOCIATION PARITAIRE POUR LA SANTÉ ET LA SÉCURITÉ DU TRAVAIL DU SECTEUR AFFAIRES SOCIALES (ASSTSAS).** *Fiche technique ASSTSAS laboratoire: Travail de macroscopie, Secteur pathologie*, Montréal, ASSTSAS, 2006, 4 p.
39. *Règlement sur les matières dangereuses* (RLRQ, chapitre Q-2, r. 32).
40. **ASSOCIATION PARITAIRE POUR LA SANTÉ ET LA SÉCURITÉ DU TRAVAIL DU SECTEUR AFFAIRES SOCIALES (ASSTSAS).** *Fiche technique ASSTSAS laboratoire: Exposition au formaldéhyde, Secteur pathologie*, Montréal, ASSTSAS, 2007, 4 p.
41. **SHEMATEK, Gene.** « Travailler avec du formaldéhyde, première partie », *CJMLS*, août 2008, vol. 70, n° 4, p. 140-141.
42. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ.** *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*, troisième édition, Genève, OMS, 2005.
43. *Règlement sur la qualité du milieu de travail* (RLRQ, chapitre S-21, r. 11).
44. **AMERICAN SOCIETY OF HEATING, REFRIGERATING AND AIR-CONDITIONING ENGINEERS.** *HVAC Design Manual for Hospitals and Clinics*, deuxième édition, Atlanta, ASHRAE, 2013, 299 p.

45. **SHEMATEK, Gene.** « Travailler avec du formaldéhyde, Deuxième partie », *CJMLS*, octobre 2008, vol. 70, n° 5, p. 159-160.
46. **DIMENSTEIN, Isak B.** « A pragmatic approach to formalin safety in anatomical pathology », *LABMEDICINE*, décembre 2009, vol. 40, n° 12, p. 740-746.
47. **SERVICE DU RÉPERTOIRE TOXICOLOGIQUE DE LA COMMISSION DE LA SANTÉ ET DE LA SÉCURITÉ DU TRAVAIL.** « Fiche de renseignements sur le méthanol », [En ligne], consulté le 10 avril 2014.
http://www.reptox.csst.qc.ca/Produit.asp?no_produit=455&nom=M%E9thanol.
48. **UNITED STATES NUCLEAR REGULATORY COMMISSION.** « *Iodine-125 and Palladium-103 Low Dose Rate Brachytherapy Seeds Used for Localization of Non-Palpable Lesions* », [En ligne] <http://www.nrc.gov/materials/miau/med-use-toolkit/seed-localization.html>, Mise à jour du 24 février 2014.
49. *Règlement sur certaines activités professionnelles pouvant être exercées par un technologiste médical* (RLRQ, chapitre M-9, r. 10).
50. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Training and Competence Assessment; Approved Guideline-Third Edition*, CLSI document GP21-A3, Wayne, PA, CLSI, 2009, 69 p.
51. *Règlement sur la formation continue obligatoire des technologistes médicaux du Québec* (RLRQ, chapitre C-26, r. 249).
52. *Règlement sur l'organisation et l'administration des établissements* (RLRQ, chapitre S-5, r.3.01).
53. *Règlement d'application de la Loi sur les laboratoires médicaux, la conservation des organes et des tissus et la disposition des cadavres* (RLRQ, chapitre L-0.2, r.1).
54. *Règlement sur les normes relatives aux ordonnances faites par un médecin* (RLRQ, chapitre M-9, r.25).
55. *Règlement sur la sécurité des cellules, tissus et organes humains destinés à la transplantation*, Ottawa, Ministère de la Justice du Canada, dernière modification le 8 juin 2008, DOS/2007-118.
56. **GROUPE CSA.** *CAN/CSA-Z900.1-12 Cellules, tissus et organes destinés à la transplantation: exigences générales*, Mississauga, Groupe CSA, 2012, 64 p.
57. **BROWN, Richard W.** *Histologic Preparations Commons Problems and Their Solutions*, Northfield, IL, CAP Press, 2009, 156 p.
58. **HAMMOND, M. Elizabeth H., et autres.** « American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer », *Arch Pathol Lab Med*, juin 2010, vol. 134, p. 907-922.
59. **DIRECTION QUÉBÉCOISE DU CANCER-COMITÉ CONSULTATIF EN ANATOMOPATHOLOGIE.** *Guide sur l'assurance qualité en anatomopathologie, phases pré-analytique et analytique*, Québec, Gouvernement du Québec, 2011, 37 p.

60. **WOLFF, Antonio C., et autres.** « American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer », *Arch Pathol Lab Med*, janvier 2007, vol. 131, p. 18-43.
61. **WOLFF, Antonio C., et autres.** « Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer : American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update », *J Clin Onc*, novembre 2013, vol. 31, n° 31, p. 3997-4013.
62. **ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC.** *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale: Règles de pratique*, quatrième édition, Montréal, OPTMQ, 2010, 71 p.
63. **HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE.** *Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens*, Grande Bretagne, HSE, 1999, 3 p.
64. **GROUPE CSA.** Z316.7-12 *Établissements effectuant la collecte d'échantillons primaires et laboratoire d'analyses de biologie médicale – Sécurité du patient et qualité des soins – Exigences pour la collecte, le transport et la conservation des échantillons*, Mississauga, Groupe CSA, 2013, 63 p.
65. **AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS.** *Guidelines for Pneumatic Tube Delivery Systems: Validation and Use to Transport Blood Components*, Bethesda, Maryland, AABB, 2004, 18 p.
66. *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses*, Ottawa, Ministère de la Justice du Canada, dernière modification le 23 novembre 2012, DORS/2012-245.
67. *Loi sur les produits dangereux*, Ottawa, Ministère de la Justice du Canada, dernière modification le 20 juin 2011, L.R.C. (1985), ch. H-3.
68. *Règlement sur les produits contrôlés*, Ottawa, Ministère de la Justice du Canada, dernière modification le 23 février 2010, DORS/88-66.
69. *Règlement sur l'information concernant les produits contrôlés* (RLRQ, chapitre S-2.1, r.10.1).
70. **COMITÉ CONSULTATIF EN ANATOMOPATHOLOGIE DE LA DIRECTION DE LA LUTTE CONTRE LE CANCER.** *Plan global d'assurance qualité en anatomopathologie*, Québec, La direction des communications du ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec, 2009, 47 p.
71. **FITZGIBBONS, Patrick L., et autres.** « Principles of analytic validation of immunohistochemical assays Guideline from the College of American Pathologists, pathology and laboratory quality center », *Arch Pathol Lab Med*, 19 mars 2014 [diffusion en ligne avant l'impression].
72. **MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SERVICES SOCIAUX DU QUÉBEC.** *Obligation pour tous les laboratoires de biologie médicale du Québec de mettre en place des contrôles internes de qualité et participer à des contrôles externes de qualité, notamment ceux offerts par le Laboratoire de santé publique du Québec*, Circulaire n° 2010-020, 2010.
73. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing Is Not Available; Approved Guideline-Second Edition*, CLSI document GP29-A2, Wayne, PA, CLSI, 2008, 27 p.

74. *Loi sur les services de santé et les services sociaux* (RLRQ, chapitre S-4.2).
75. **ASSOCIATION CANADIENNE DES PATHOLOGISTES.** *Listes de vérification de l'immunohistochimie clinique du CAP-ACP: Partie I et Partie II*, Ottawa, CAP-ACP, 2010, 33 p.
76. *Règlement sur les déchets biomédicaux* (RLRQ, chapitre Q-2, r.12).
77. **ASSOCIATION CANADIENNE DE NORMALISATION.** *Z317.10-09 Handling of waste materials in health care facilities and veterinary health care facilities*, Mississauga, Association canadienne de normalisation, 2009, 41 p.
78. **PLATT, Eric, et autres.** « Tissue floaters and contaminants in the histology laboratory », *Arch Pathol Lab Med*, juin 2009, vol. 133, p. 973-978.
79. **INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC.** *Qualité de l'eau de laboratoire*, Québec, INSPQ, 2002, 15 p.
80. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Microwave Device Use in the Histology Laboratory; Approved Guideline*, CLSI document GP28-A, Wayne, PA, CLSI, 2005, 41 p.
81. **CANADIAN ASSOCIATION OF PATHOLOGISTS, NATIONAL STANDARDS COMMITTEE / IMMUNOHISTOCHEMISTRY.** « Best practice recommendations for standardization of immunohistochemistry tests », *Canadian Journal of Pathology*, juillet 2009, p. 14-25.
82. **ELIAS, Jules M.** *Immunohistopathology A Practical Approach to Diagnosis*, deuxième édition, Chicago, ASCP Press, 2003, 564 p.
83. **DIRECTION QUÉBÉCOISE DU CANCER-COMITÉ CONSULTATIF EN ANATOMOPATHOLOGIE.** *Détection du marqueur HER2 dans le cadre du traitement du cancer gastrique et de la jonction gastro-oesophagienne*, Québec, Gouvernement du Québec, 2011, 19 p.
84. **PENAULT-LLORCA, Frédérique, et autres.** « HER2 et cancer gastrique- Recommandations pour la pratique clinique en 2011 », *Annales de pathologie*, 2011, n° 31, p. 78-87.
85. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories; Approved Guideline-Second Edition*, CLSI document MM07-A2, Wayne, PA, CLSI, 2013, 41 p.
86. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline*, CLSI document MM13-A, Wayne, PA, CLSI, 2005, 51 p.
87. **MCPHERSON, Richard A., et Matthew R. PINCUS.** *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 21e édition, Philadelphie, Saunders Elsevier, 2007, 1450 p.

88. **AGENCE D'ÉVALUATION DES TECHNOLOGIES ET DES MODES D'INTERVENTION EN SANTÉ (AETMIS).** « Performance diagnostique des techniques de détermination du statut HER-2 dans le cancer du sein, Rapport préparé par Cathy Gosselin et Pierre Dagenais. », *ETMIS*, mai 2008, vol. 4, n° 3, p. 1-110.
89. **ROSAI, Juan.** *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*, dixième édition. s.l., Mosby Elsevier, 2011.
90. **SERVICE DU RÉPERTOIRE TOXICOLOGIQUE DE LA COMMISSION DE LA SANTÉ ET DE LA SÉCURITÉ DU TRAVAIL.** « Fiche de renseignements sur le tétr oxyde d'osmium », [En ligne], Consulté le 24 janvier 2013. http://www.csst.qc.ca/prevention/reptox/pages/fiche-complete.aspx?no_produit=12930.
91. **THE CANADIAN ASSOCIATION OF PATHOLOGISTS TELEPATHOLOGY GUIDELINES COMMITTEE.** « Guidelines from the Canadian Association of Pathologists for establishing a telepathology service for anatomic pathology using whole-slide imaging », *J Pathol Inform*, mars 2014, 5:15, 9 p.
92. **AGENCE D'ÉVALUATION DES TECHNOLOGIES ET DES MODES D'INTERVENTION EN SANTÉ (AETMIS).** « Télépathologie: lignes directrices et normes technologiques - Revue de la littérature », *ETMIS*, décembre 2008, vol. 4, n° 7, p. 1-41.
93. **AMERICAN TELEMEDICINE ASSOCIATION.** *Clinical Guidelines for Telepathology*, version 2.4, mai 1999, 10 p.
94. *Loi sur l'accès aux documents des organismes publics et sur la protection des renseignements personnels* (RLRQ, chapitre A-2.1).
95. *Loi sur la recherche des causes et des circonstances des décès* (RLRQ, chapitre R-0.2).
96. *Loi sur les laboratoires médicaux, la conservation des organes et des tissus et la disposition des cadavres* (RLRQ, chapitre L-0.2).
97. **THE ROYAL COLLEGE OF PATHOLOGISTS.** *Guidelines on autopsy practice*, London, The Royal College of Pathologists, septembre 2002, 61 p.
98. **COLLINS, Kim A., et Grover M. HUTCHINS.** *Autopsy Performance & Reporting*, deuxième édition, Northfield, IL, College of American Pathologists, 2003, 377 p.
99. **COLLINS, Kim A., et Grover M. HUTCHINS.** *An Introduction to Autopsy Technique*, deuxième édition, Northfield, IL, College of American Pathologists, 2005, 123 p.
100. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Laboratory Design; Approved Guideline-Second Edition*, CLSI document GP18-A2, Wayne, PA : CLSI, 2007, 105 p.
101. **MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DE SERVICES SOCIAUX.** *Guide de qualité de l'air intérieur dans les établissements du réseau de la santé et des services sociaux*, Québec, Gouvernement du Québec, 2011, 200 p.
102. **GROUPE CSA.** *CAN/CSA Z94.4-F11 Choix, utilisation et entretien des appareils de protection respiratoire*, quatrième édition, Mississauga, Groupe CSA, 2011, 132 p.

103. **ASSOCIATION DES PATHOLOGISTES DU QUÉBEC.** *Liens intéressants*, [En ligne], <http://www.apq.qc.ca/liens.asp>. Consulté le 16 avril 2014.
104. **ASSOCIATION CANADIENNE DES PATHOLOGISTES.** *The retention and Use of Human Biologic Material*. [En ligne], 2005. http://cap-acp.org/guide_retention-human-biologic-material.cfm. Consulté le 16 avril 2014.
105. **CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** *Development and Use of Quality Indicators for Process Improvement and Monitoring of Laboratory Quality; Approved Guideline*, CLSI document GP35-A, Wayne, PA, CLSI, 2010, 53 p.
106. *Règlement sur la tenue des dossiers des technologistes médicaux* (RLRQ, chapitre C-26, r. 254).
107. **COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS.** Retention of Laboratory Records and Materials, [En ligne], réaffirmé en juin 2013, consulté le 16 avril 2014. http://www.cap.org/apps//cap.portal?_nfpb=true&cntvwrPtl_t_actionOverride=%2Fportlet%2FcontentViewer%2Fshow&_windowLabel=cntvwrPtl_t&cntvwrPtl_t%7BactionForm.contentReference%7D=policies%2Fpolicy_appPP.html&_state=maximized&_pageLabel=cntvwr.

COMMENTAIRES

Compte tenu de l'évolution technologique, ce guide fera l'objet de révisions périodiques. Nous vous invitons à nous faire part de toute suggestion susceptible d'en améliorer le contenu.

DOCUMENT : *Guide d'anatomopathologie, 2014.*

COMMENTAIRES :

SIGNATURE : _____ DATE : _____

NOM : _____