

# Anatomie Pathologique : le groupe des techniciens de Midi-Pyrénées

G Caruana (2), M Candotti (3), M Cesca (4), V Thuries (3), S Crampe(2), L Demay (2), S Giacomini (5), A Boutges (5), S Germain (6), C Pistre (6), L Lagriffoul (6), M Baud (3), T Campse (3), K Darre (3), L Jalabert (3), G Perez (3), A Gaston (3), A Estival (3), K Gordien (1), C Silvagni (3)

(1) ONCOMIP, Toulouse, France; (2) Laboratoire des Feuillants, Toulouse, France ; (3) Département de Pathologie IUCT-O, Toulouse, France; (4) ACP Drs Despax & Rolland, Toulouse, France; (5) Laboratoire de Pathologie, Toulouse, France; (6) Laboratoire de Pathologie, Castres, France

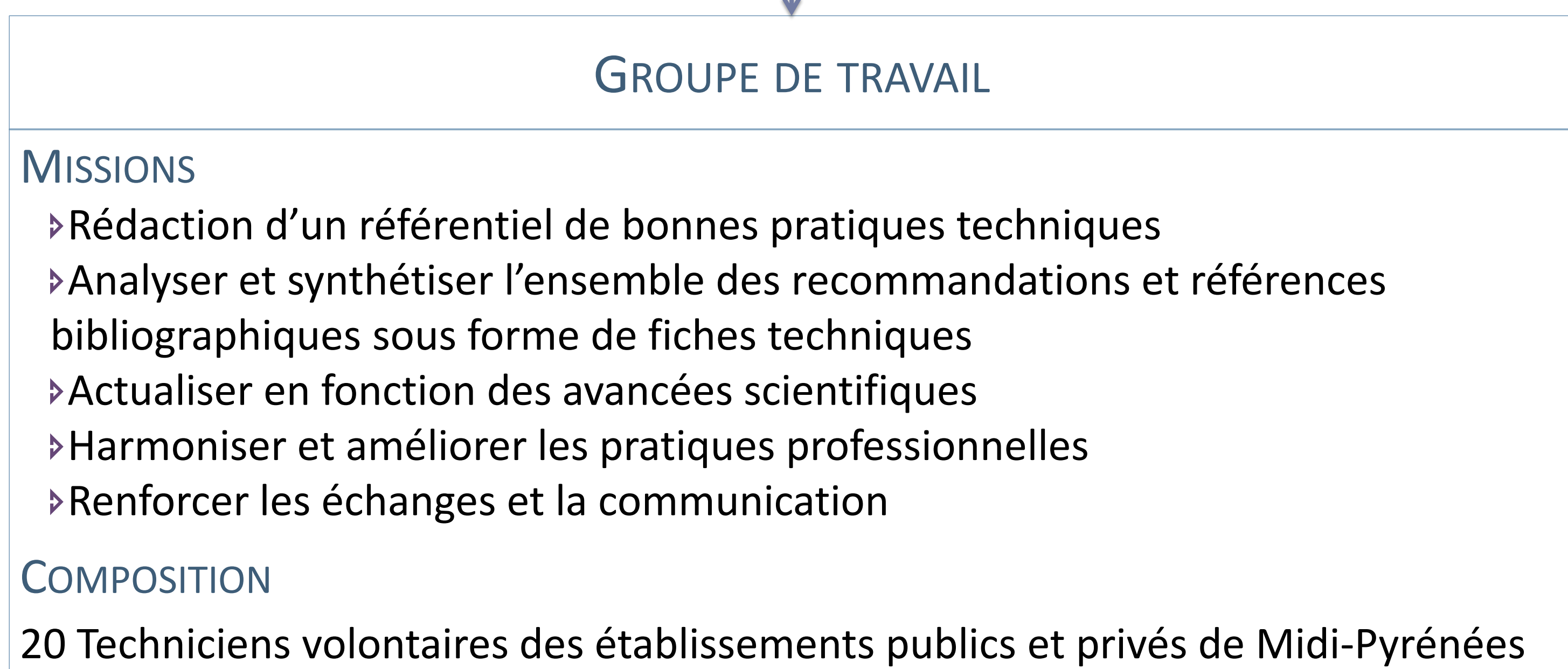
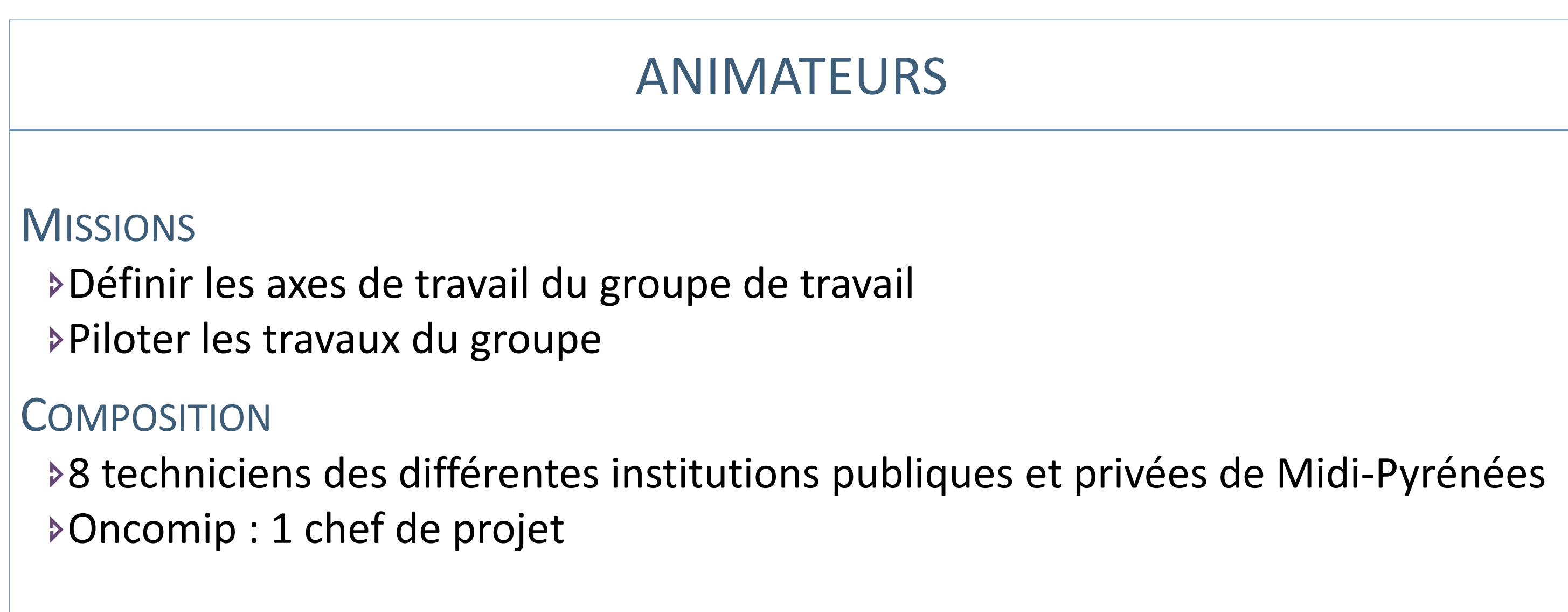
## Introduction

En garantissant une qualité irréprochable de l'ensemble des techniques de préparation du prélèvement, le technicien en anatomo-cytopathologie (ACP) a un rôle central et indispensable pour permettre l'établissement d'un diagnostic. Devant le développement de la spécialité, son rôle évolue. Pour accompagner ces changements, un groupe de techniciens s'est structuré en Midi-Pyrénées sous l'égide du réseau régional de cancérologie, Oncomip.

L'objectif de ce travail est de présenter le fonctionnement, les documents mis en place par le groupe et l'importance de ces travaux dans l'évolution de la profession notamment dans le cadre de la démarche qualité.

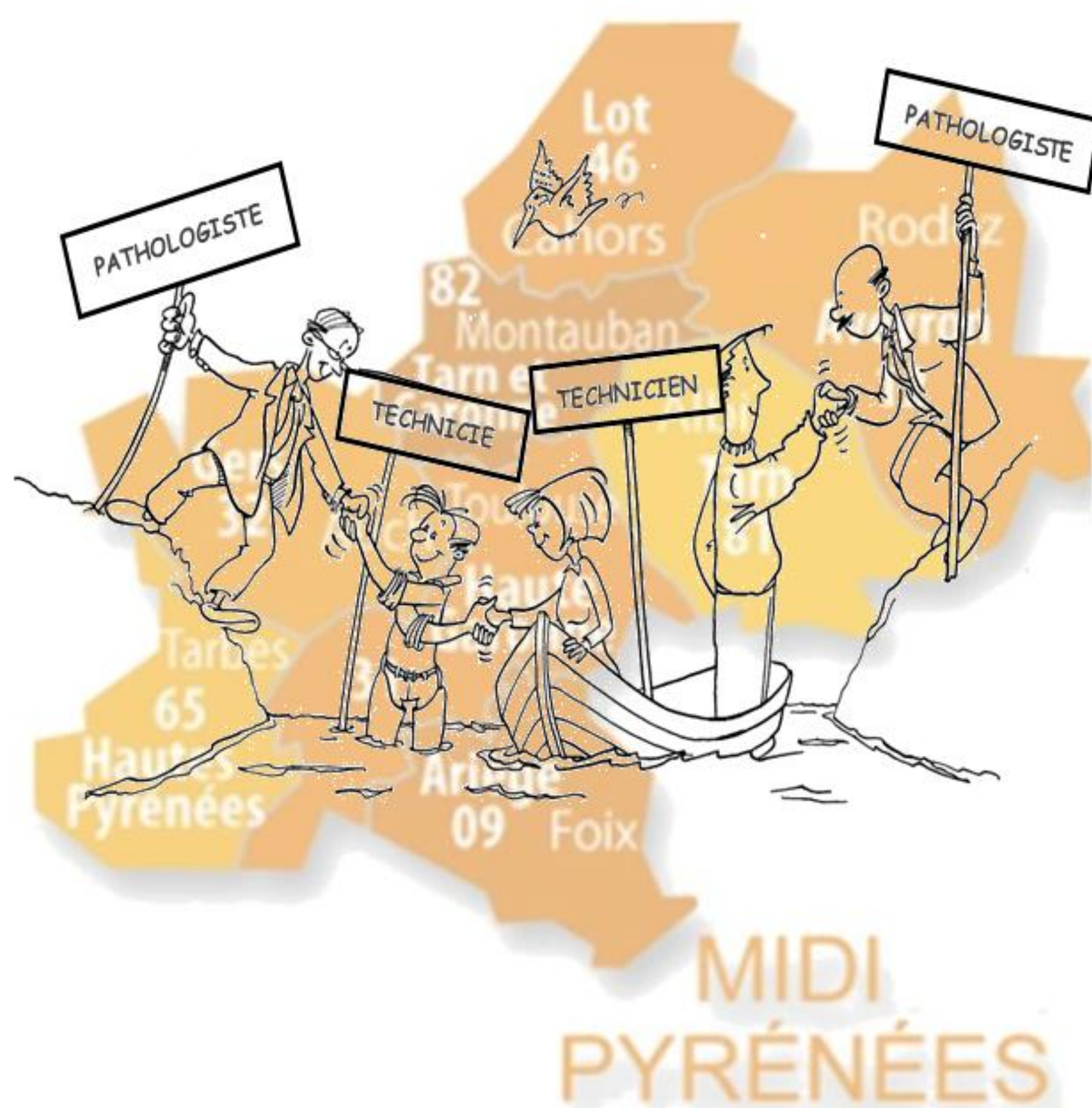
## Matériel et méthode

### → Organisation du groupe



### MÉTHODE DE TRAVAIL

- 4 à 6 séances annuelles de travail en présentiel et en conférence téléphonique
- Validation des travaux par le réseau des pathologistes de Midi-Pyrénées
- Mise en ligne des fiches techniques sur le site d'Oncomip



## Résultats

### → Les chiffres clés 2015

Groupe	Fiches	Communication
13 réunions en 3 ans 10 techniciens en moyenne 57% privés – 43% publics	Hémalun Eosine Inclusion en paraffine Coupe (en cours)	650 téléchargements fiches 1 article Newsletter Anapath

### → Elaboration des fiches techniques

- Objectif
  - Expliquer les différentes procédures techniques pour optimiser la prise en charge des prélèvements
- Contenu
  - Titre et messages clés
  - Principe
  - Protocole standard
  - Résultat et Points de vigilance
  - Eléments de base communs
    - Type de fiche
    - Frise de positionnement de technique
    - Cartouche qualité (dates de création et actualisation, contact)
- Modalités de diffusion
  - Congrès de la spécialité
  - Lettre des actualités régionales en anatomopathologie
  - Rubrique dédiée sur le site internet [www.oncomip.org](http://www.oncomip.org)
  - Suivi des téléchargements

**HÉMALUN EOSINE®**

Coloration histologique topographique qui, en différenciant le noyau du cytoplasme, donne une vue d'ensemble d'un tissu

1<sup>ère</sup> étape nécessaire et essentielle pour établir un diagnostic

**Principe**

Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. C'est la plus simple des colorations « combinées » qui s'effectue avec 2 colorants :

- un colorant nucléaire « basique » hématoxyline (bleu)
- un colorant cytoplasmique « acide » type éosine, orange G... (rose orange)

Cette technique fait agir successivement :

- la solution d'hématoxyline localise la chromatine nucléaire : c'est une coloration progressive \* (bleu violet)
- l'alcool-acide permet la différenciation rapide
- l'eau ammoniacale blanchit les noyaux
- la solution d'éosine localise le cytoplasme : c'est une coloration régressive \*\* (rose à rose orange)

\*Une coloration est dite « progressive » lorsqu'elle s'ajoute par passage dans le colorant pendant un temps optimum.  
\*\*Une coloration est dite « régressive » quand après sa coloration on diminue l'intensité par un décolorant (alcool-acide).

**Protocole standard**

- 1- Déparaffinage
- 2- Réhydratation
- 3- Coloration
- 4- Déshydratation
- 5- Montage

**Points de vigilance**

- Changer la durée d'isochromie. Risque trop longue => dégradation de la morphologie des tissus
- Fixation : temps, volume, nature du fixateur standards => dégradation de la morphologie des tissus
- Coupe : trop épaisse => superposition des cellules
- Étalement : attention aux pics

**Pendant la coloration**

- Penser à ouvrir le robinet d'eau
- Changer ou filtrer régulièrement les colorants et les solvants (saturation rapide)
- Inclure des lames témoins dans chaque série
- Vérifier les conditions de conservation et les dates de péremption des réactifs
- Préparer les réactifs à l'avance ou en extemporané selon les protocoles recommandés
- Respecter les concentrations des solutions méconoscues par le protocole du laboratoire
- Ajuster le pH
- Respecter les temps de coloration et de différenciation
- Utiliser une verrerie propre
- Vérifier la position des réactifs dans l'automate
- Vérifier quotidiennement la qualité de la 1<sup>ère</sup> coloration au microscope

**INCLUSION EN PARAFFINE**

Technique qui consiste à enrober le tissu préalablement déshydraté pour réaliser le bloc.

La bonne réalisation du bloc conditionne la qualité de la coupe et la conservation du prélèvement.

**Principe**

Le prélèvement histologique est déposé bien à plat au fond d'un moule adapté à sa taille dans lequel est coulée de la paraffine chaude (58° à 62°C).  
Sa cassette d'identification est posée dessus et l'ensemble est refroidi immédiatement sur une platine réfrigérante (pour durcir la paraffine). Après démoulage on obtient le bloc.

**Protocole standard**

- 1- Récupérer les cassettes contenant les prélèvements déshydratés et imprégnés de paraffine chaude
- 2- Placer les prélèvements dans la station d'embosse
- 3- Préparer le moule adéquat en le remplissant de paraffine liquide et déposer le prélèvement bien au fond et bien à plat.
- 4- Fixer le tout sur le point pelletier\*
- 5- Répéter sa cassette d'identification et recouvrir le tout de paraffine liquide jusqu'au remplissage complet de la cassette
- 6- Mettre le tout sur la platine réfrigérante, laisser refroidir et démouler le bloc.
- 7- Enlever le surplus de paraffine sur les côtés du bloc pour faciliter l'insertion dans la tête du microtome.

**Points de vigilance**

**Préparation du matériel**

- Point pelletier toujours propre
- Nettoyage moules, stations et palliasses
- Remise à niveau du réservoir de paraffine
- Nettoyage des pinces et de la platine entre chaque prélèvement (attention aux « Chateaux » !!)

**Préparation du bloc**

- Attention aux bulles !
- Attention au démoulage !

**Cas particuliers**

Prélèvement	Traitements particuliers
Peau	Attention à l'orientation
Biopsie	Vérifier le nombre de fragments
Carcinome (tissu, prostate, etc...)	Bien inclure le plat
Cerveau	Ne pas trop appuyer
Biopsie Anore Temporelle (côques en traversant afin d'avoir la lumière du prélèvement) inclure à la verticale.	

**Chaîne de montage**

- Petit fragment étranger au prélèvement
- Hypercentricité
- Automate de déshydratation et d'imprégnation des tissus (étape précédente à l'inclusion)
- Point Pelletier
- Petite zone (plaque) réfrigérée pour figer le prélèvement dans la paraffine.

Figure : exemple de fiches

Hémalun Eosine Cette coloration, qui donne une vue d'ensemble d'un tissu, est la 1<sup>ère</sup> étape nécessaire et essentielle pour établir un diagnostic.

Inclusion en paraffine L'inclusion conditionne la qualité de la coupe et la conservation du prélèvement.

## Conclusion

Les fiches élaborées pourront servir de base dans le cadre du processus qualité de chaque structure et de support pour les nouveaux techniciens. Ce groupe permet d'accompagner et de renforcer la structuration de l'activité technique de l'ACP à l'échelle régionale. De plus, il facilite les échanges entre les techniciens de la région, quelle que soit leur structure d'exercice. Il est ainsi un véritable support de valorisation, de partage d'expérience et d'amélioration des pratiques.