

Anatomie Pathologique : le groupe des techniciens de Midi-Pyrénées

K Gordien (1), C Silvagni (2), S Giacomini (3), M Cesca (4), M Candotti (2), S Campse(2), G Caruana (5)

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

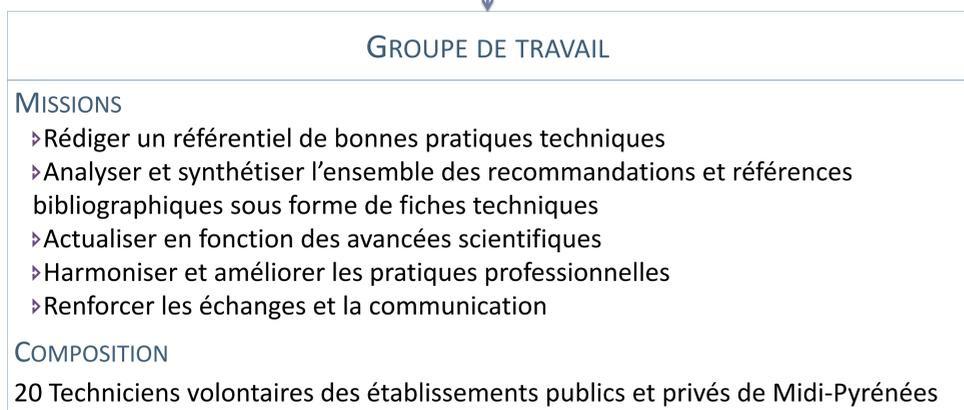
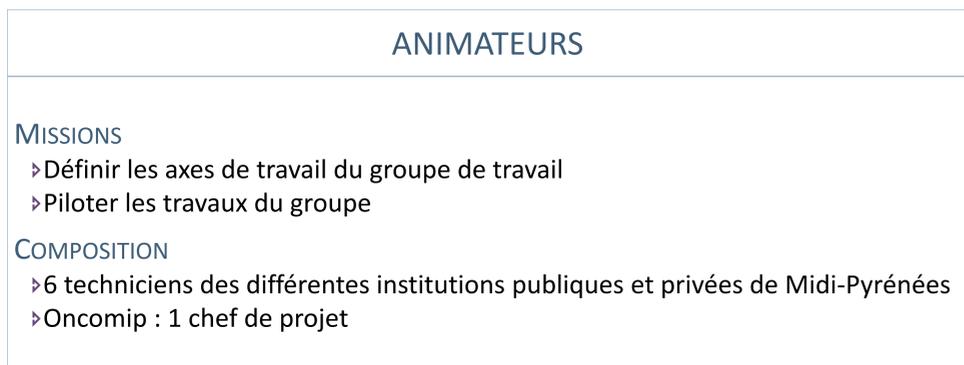
Introduction

En mettant en œuvre l'ensemble des techniques de préparation du prélèvement tout en garantissant une qualité irréprochable, le technicien en l'anatomo-cytopathologie (ACP) a un rôle central dans le processus d'établissement d'un diagnostic. La spécialité évolue et se structure depuis plusieurs années, entraînant un changement du rôle et des missions du technicien. Pour anticiper et accompagner ces évolutions, un groupe de techniciens s'est mis en place en 2013 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.

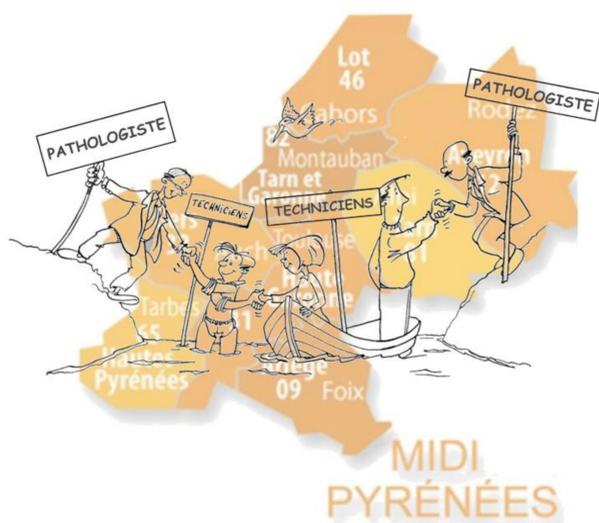
Matériel et méthode

→ 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
- ↳ Diffusion lors des manifestations régionales



Résultats

→ Les chiffres clés

Groupe

17 réunions
10 techniciens en moyenne
57% privés – 43% publics

Fiches

Hémalun Eosine
Inclusion en paraffine
Coupe (validation en cours)

Communication

3000 téléchargements fiches
2 articles Newsletter locale
2 posters congrès nationaux

→ Elaboration des fiches techniques

• Objectifs des fiches

- ↳ Document de référence technique
- ↳ Outil d'optimisation de la prise en charge des prélèvements
- ↳ Outil de formation synthétique
- ↳ Dispositif de la démarche qualité

• Contenu standardisé

- ↳ Titre et messages clés
- ↳ Principe
- ↳ Protocole standard
- ↳ Points de vigilance
- ↳ Éléments 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 régionale des actualités régionales en anatomopathologie
- ↳ Rubrique dédiée sur le site internet www.oncomip.org
- ↳ Suivi des téléchargements des fiches

HÉMALUN EOSINE®
Coloration histologique topographique qui, en différenciant le noyau du cytoplasme, donne une vue d'ensemble d'un tissu.
1^{ère} 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 » hémalun (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 bleuit 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'effectue par passage dans le colorant pendant un temps optimum.
**Une coloration est dite « régressive » quand après sur-coloration on élimine l'excès par un différenciateur (alcool acide).

Protocole standard

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

Points de vigilance

Avant la coloration

- ↳ Chirurgie : durée d'ischémie trop longue → dégradation de la morphologie des tissus
- ↳ Fixation : temps, volume, nature du fixateur inadéquats → dégradation de la morphologie des tissus
- ↳ Coupe : trop épaisse ⇒ superposition des cellules
- ↳ Etalonnage : attention aux pips

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 péremptions des réactifs
- ↳ Préparer les réactifs à l'avance ou en extemporané selon les protocoles recommandés
- ↳ Respecter les concentrations des solutions préconisées par le protocole du laboratoire
- ↳ Ajuster les 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^{ère} 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 (56° à 60°C).
Sa cassette d'identification est posée dessus et l'ensemble est refroidi immédiatement sur une platine réfrigérante (pour durcir la paraffine), après démontage 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'emboîlage
3. Préparer le moule adéquat en le remplissant de paraffine liquide et déposer le prélèvement bien au fond et bien à plat.
4. Figurer le tout sur le point pelletier*
5. Rajouter 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 démonter 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
- ↳ Nettoyer moules, stations et paillasse
- ↳ Remise à niveau du réservoir de paraffine
- ↳ Nettoyer des pinceaux et de la platine entre chaque prélèvement (attention aux « Chlamydia » !!!)

Préparation du bloc

- ↳ Attention aux bulles !
- ↳ Attention au démontage !

Cas particuliers

Prélèvement

- ↳ Eau + liquide muscique
- ↳ Carotte (clic, proctite, etc...)
- ↳ Carreau
- ↳ Basse Airline Temporel

Trouvés en discussion

- ↳ Attention à l'orientation sur la tranche
- ↳ Vérifier le nombre de fragments
- ↳ Bien inclure le plat
- ↳ Ne pas trop appuyer
- ↳ Assurer l'angle Temporel (couper en transversal afin d'avoir la lamelle du prélèvement et inclure à la verticale)

Chameau

- ↳ Petit fragment étranger au prélèvement
- ↳ Hypercentré
- ↳ 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

Fiches techniques : Hémalun Eosine et Inclusion en paraffine

Conclusion

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