

**RISQUES BIOLOGIQUES POUR LA SANTE
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
GROUPE DE TRAVAIL EEQ**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE
DES ANALYSES D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE**

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF

HISTOLOGIE – HE/PAS/Réticuline/Trichrome

ENQUETE 2022/1

Sciensano/Histologie/7-FR

Risques biologiques pour la santé
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

GROUPE DE TRAVAIL EEQ

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Membres groupe de travail EEQ	Institution				
Gabriela Beniuga	IPG Gosselies				
Cecile Colpaert	ZNK Turnhout				
Bart De Wiest	OLV Aalst				
Caroline Fervaille	CHU UCL Namur				
Bart Lelie	AZ-ZENO Knokke-Heist				
Herwig Van Dijck	UZ Antwerpen				

Une version provisoire (draft) de ce rapport a été transmise aux membres du groupe de travail EEQ le : 10/01/2023.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du groupe de travail EEQ du : /.

Autorisation du rapport : par Vanessa Ghislain, coordinateur d'enquête

Date de publication : 16/01/2023

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:
<https://www.sciensano.be/fr/qualite-des-laboratoires/eeq-histologie>

TABLE DE MATIERES

1. Introduction	4
1.1. Objectif de l'EEQ	4
1.2. Activités sous-traitées.....	4
1.3. Matériel de l'EEQ.....	4
1.4. Demande	4
1.5. Formulaire de réponse.....	4
2. Relecture.....	4
2.1. Critères spécifiques	5
2.1.1. Qualité de la coupe.....	5
2.1.2. Coloration HE	5
2.1.3. Coloration PAS	5
2.1.4. Coloration de la réticuline	5
2.1.5. Coloration trichrome	5
2.2. Évaluation finale	5
3. Résultats.....	6
3.1. Participation à l'EEQ	6
3.2. Aperçu des résultats.....	6
3.3. Repartition des notes.....	7
3.3.1. Notes globales (qualité de la coupe et HE)	7
3.3.2. Qualité de la coupe.....	7
3.3.3. Notes HE(S)	8
3.3.4. Notes PAS.....	8
3.3.5. Notes réticuline.....	9
3.3.6. Notes trichrome	9
4. Discussion des résultats	10
4.1. Note globale (qualité de la coupe et HE)	10
4.2. Qualité de la coupe.....	10
4.3. Coloration HE(S).....	10
4.4. Coloration PAS	12
4.5. Coloration de la réticuline	13
4.6. Coloration trichrome.....	14
4.7. Coupes de contrôle.....	15

1. Introduction

Ce document comprend un résumé ainsi qu'une discussion des résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) Histologie 2022/1 (HE/PAS/Réticuline/Trichrome) et un résumé des commentaires individuels et des recommandations.

1.1. OBJECTIF DE L'EEQ

Cette EEQ avait pour objectif d'évaluer la qualité des préparations (coupe microtomique des blocs de paraffine et montage des coupes), de la coloration standard de routine (HE/HES/HPS) et de 3 colorations histochimiques spéciales (PAS, réticuline et trichrome).

1.2. ACTIVITÉS SOUS-TRAITÉES

La Commission d'Anatomie Pathologique a choisi de collaborer avec l'AFAQAP (Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie Pathologique) pour la fourniture du matériel tissulaire et le soutien à l'évaluation des lames colorées pour cette EEQ.

1.3. MATÉRIEL DE L'EEQ

Le matériel transmis comportait :

- 1 bloc de paraffine de foie, fixé au formol neutre tamponné à 10% (dilution réelle à 4%) ;
- 6 coupes en paraffine de 4 µm non colorées de foie.

L'homogénéité des échantillons a été testée par l'AFAQAP. Les échantillons ont été considérés comme homogènes (au sens où chaque entité d'échantillons renferme une information identique) et stables jusqu'à la fin de la période d'analyse.

1.4. DEMANDE

Il était demandé de couper au microtome le bloc de foie et de réaliser une coloration HE(S) sur une de ces lames. Dans le cas où le laboratoire ne coupe pas les blocs de foie en routine, il était permis de réaliser la coloration HE(S) sur un bloc du laboratoire même.

Les lames blanches de foie fournies ont servi à la réalisation d'une coloration PAS, d'une coloration de la réticuline et d'une coloration trichrome.

Il était précisé que le traitement des échantillons devait être le même que celui des échantillons des patients, c.-à-d. qu'ils devaient être intégrés dans le circuit habituel des échantillons des patients.

1.5. FORMULAIRE DE RÉPONSE

Il a été demandé de remplir un formulaire de réponse concernant les méthodes utilisées. Ce formulaire a été établi par le coordinateur d'enquête et a été joint aux échantillons.

2. Relecture

L'évaluation des lames a été réalisée conjointement et simultanément par Jean-Pierre Bellocq (pathologiste, AFAQAP, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg-FR), Jean-François Michiels (pathologiste, AFAQAP, CHU Nice-FR), Marie-Paule Van Craynest (pathologiste, Hôpital Erasme-BE), Vanessa Ghislain (coordinateur EEQ, Sciensano-BE) en présence de Caroline Egele (collaborateur scientifique faisant office de notaire, AFAQAP-FR). Dans ce but, les évaluateurs se sont réunis à la date du 5-6 octobre 2022 à l'Hôpital de Hautepierre de Strasbourg. Cette structure administrative et scientifique garantit la qualité et l'anonymat des résultats.

2.1. CRITÈRES SPÉCIFIQUES

2.1.1. Qualité de la coupe

- épaisseur adéquate des coupes
- présence/absence de déchirures, plis, stries, taches de colorants, décollements
- présence/absence de contamination
- montage

2.1.2. Coloration HE

Composants nucléaires :

- la chromatine est nette et colorée en bleu/violacé
- le nucléole est contrasté bleu pourpre
- la membrane nucléaire est bien définie

Caractéristiques morphologiques du cytoplasme avec :

- un bon contraste par rapport à la matrice extracellulaire
- les granules éosinophiles sont bien définis de coloration rouge orangée
- le mucus est clair

Composants de la matrice extracellulaire :

- les hématies sont rouge vif
- le collagène est de coloration jaune orangé (HES) et la structure fibrillaire apparaît lors de la manipulation de la vis micrométrique du microscope

2.1.3. Coloration PAS

- coloration granulaire rose/rouge vif du cytoplasme des hépatocytes (glycogène)
- coloration des membranes basales

2.1.4. Coloration de la réticuline

- mise en évidence des fibres de réticuline

2.1.5. Coloration trichrome

- collagène bleu ou vert
- les noyaux (chromatine) sont bleu-noir
- cytoplasme, hématies et fibres musculaires rouge vif

2.2. ÉVALUATION FINALE

A chaque coloration a été attribuée une évaluation finale basée sur les critères suivants :

A	Optimal	Résultat parfait ou proche de la perfection
B	Bon	Résultat correct, avec quelques éléments perfectibles sur le plan technique
C	Moyen	Qualité technique passable ; à améliorer
D	Insuffisant	Mauvaise qualité technique ; des modifications techniques sont nécessaires

3. Résultats

3.1. PARTICIPATION À L'EEQ

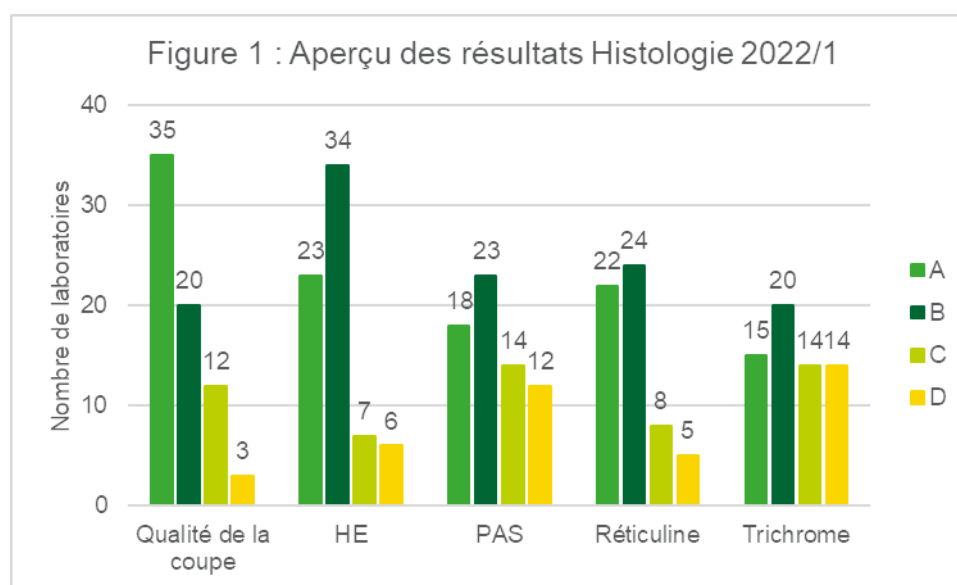
Le taux de participation a été de 70/70 (100%).

Région	Nombre de laboratoires ayant renvoyé des lames/ nombre de laboratoires inscrits
Région Flamande	40
Région Bruxelloise	10
Région Wallonne	20
Total	70

3.2. APERÇU DES RÉSULTATS

Les notes concernant les préparations évaluées sont rassemblées dans le tableau ci-dessous.

Note	Qualité de la coupe	HE	PAS	Réticuline	Trichrome
A – 5/5	35 (50%)	23 (33%)	18 (27%)	22 (37%)	15 (24%)
B – 4/5	20 (29%)	34 (48.5%)	23 (34%)	24 (41%)	20 (32%)
C – 2/5	12 (17%)	7 (10%)	14 (21%)	8 (13.5%)	14 (22%)
D – 1/5	3 (4%)	6 (8.5%)	12 (18%)	5 (8.5%)	14 (22%)
Total	70	70	67	59	63



3.3. REPARTITION DES NOTES

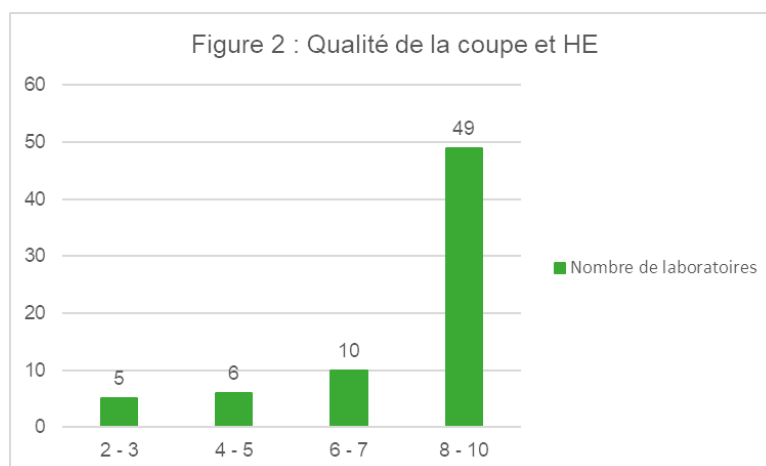
3.3.1. Notes globales (qualité de la coupe et HE)

La note globale (notée sur 10 points) a été la somme des points pour la qualité de la coupe et pour la coloration HE(S), calculés sur la base suivante : A = 5, B = 4, C = 2, D = 1.

Note/10	Nombre de laboratoires	%
2 – 3	5	7
4 – 5	6	9
6 – 7	10	14
8 – 10	49	70
Total	70	100

Note globale	
Moyenne	7.9
Médiane	9.0

La médiane est la valeur centrale des notes, c.-à-d. la note minimale atteinte par au moins la moitié des laboratoires. La médiane est, contrairement à la moyenne arithmétique, beaucoup moins influencée par les valeurs aberrantes. Parce qu'il y a des laboratoires dont les notes sont basses, la distribution n'est pas symétrique et la moyenne est inférieure à la médiane. On peut s'attendre à ce que, avec moins de notes basses, la moyenne et la médiane soient plus proche l'une de l'autre.

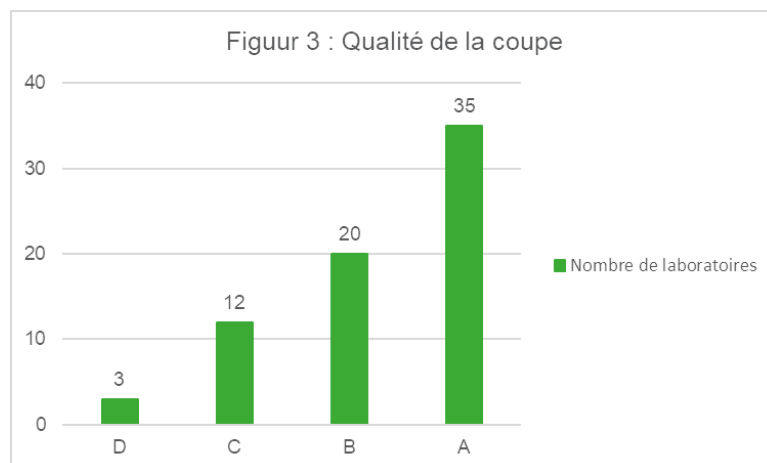


3.3.2. Qualité de la coupe

La qualité de la coupe est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	3	4
C – 2/5	12	17
B – 4/5	20	29
A – 5/5	35	50
Total	70	100

Note coupe	
Moyenne	4.0
Médiane	4.5

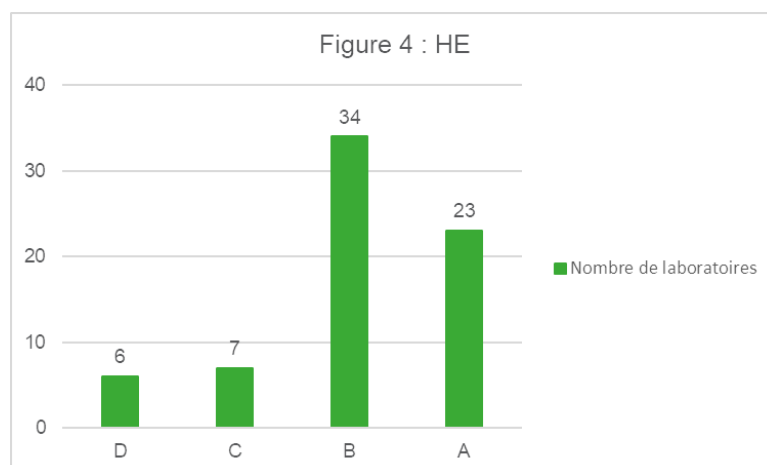


3.3.3. Notes HE(S)

La coloration HE(S) est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	6	8.5
C – 2/5	7	10
B – 4/5	34	48.5
A – 5/5	23	33
Total	70	100

Note HE(S)	
Moyenne	3.9
Médiane	4.0

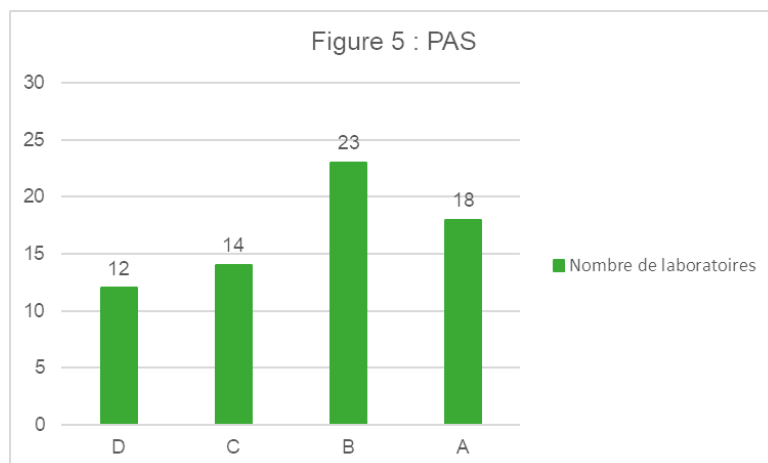


3.3.4. Notes PAS

La coloration PAS est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	12	18
C – 2/5	14	21
B – 4/5	23	34
A – 5/5	18	27
Total	67	100

Note PAS	
Moyenne	3.3
Médiane	4.0

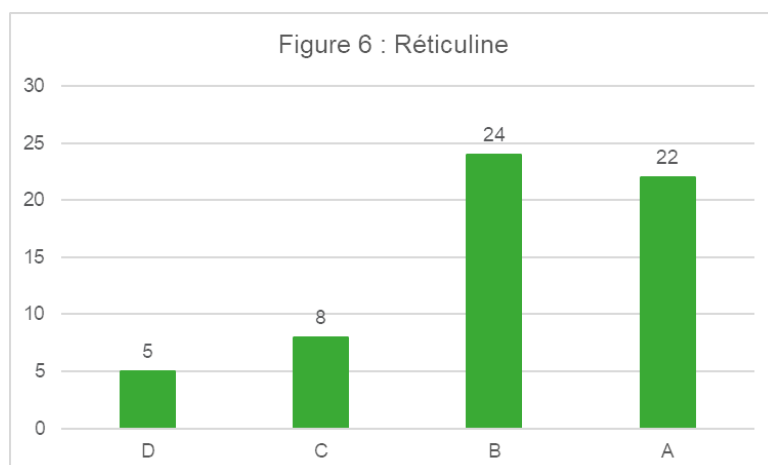


3.3.5. Notes réticuline

La coloration de la réticuline est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	5	8.5
C – 2/5	8	13.5
B – 4/5	24	41
A – 5/5	22	37
Total	59	100

Note Réticuline	
Moyenne	3.8
Médiane	4.0

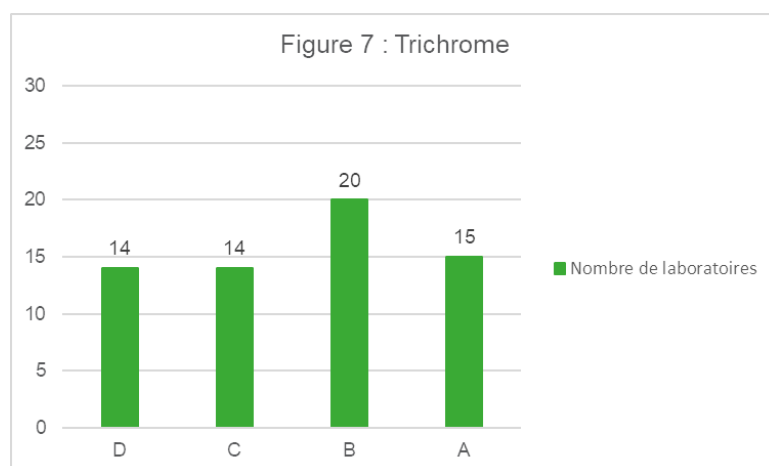


3.3.6. Notes trichrome

La coloration trichrome est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	14	22
C – 2/5	14	22
B – 4/5	20	32
A – 5/5	15	24
Total	63	100

Note Trichrome	
Moyenne	3.1
Médiane	4.0



4. Discussion des résultats

4.1. NOTE GLOBALE (QUALITE DE LA COUPE ET HE)

La note globale (notée sur 10 points) est la somme des points pour la qualité de la coupe et pour la coloration HE(S). 49/70 participants (70%) ont obtenu une note globale d'au moins 8/10, c.-à-d. qu'ils ont obtenu un résultat optimal (A) et/ou bon (B) pour chacun des tests et qu'ils n'ont pas obtenu une note C (moyenne) ou D (insuffisante) pour ces tests (voir figure 2).

4.2. QUALITE DE LA COUPE

Les résultats montrent une prise en charge optimale (A) ou bonne (B) des étapes de coupe et de montage pour 55/70 participants (79%) (voir figures 1 et 3). Les causes principales d'une note C et D sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Problème	Nombre de laboratoires
Coupe plissée	2
Coupe vibrée	2
Coupe striée	3
Coupe déchirée	5
Contamination	2
Coupe trop épaisse	1
Lié à l'étalement ou le séchage	1
Lié au montage	1
Artefacts de rétraction (coupe surchauffée ?)	9

4.3. COLORATION HE(S)

La coloration a été réalisée selon plusieurs techniques :

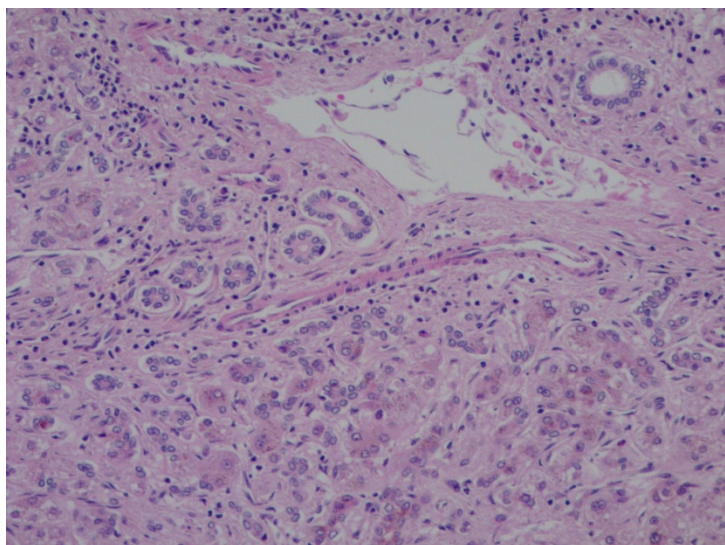
Coloration	Nombre de laboratoires	%
HE	65	93
HES	2	3
HESA*	1	1
Non rapporté	2	3
Total	70	100

(*) Hématoxyline – Eosine – Safran – Bleu Astra

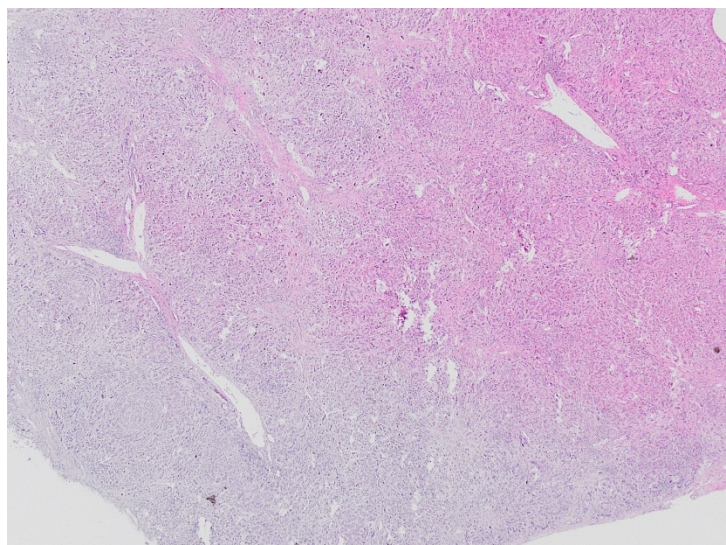
La coloration a été réalisée par automate par tous les laboratoires.

La coloration standard a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 57/70 participants (81%) (voir figures 1 et 4). Les causes principales d'une note C et D sont présentées dans le tableau ci-dessous.

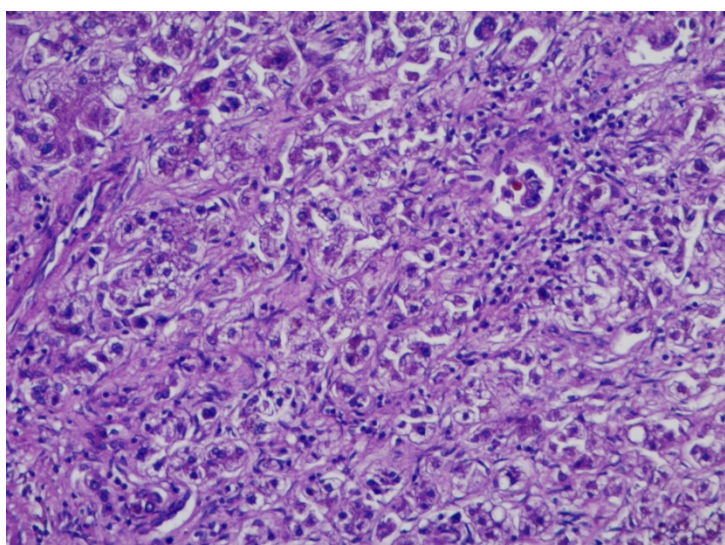
Problème	Nombre de laboratoires
Manque de contraste	7
Taches de colorants/dépôts de colorants	1
Intensité insuffisante de :	
l'éosine	7
l'hématoxyline	2
Coloration hétérogène, effet de zone	3



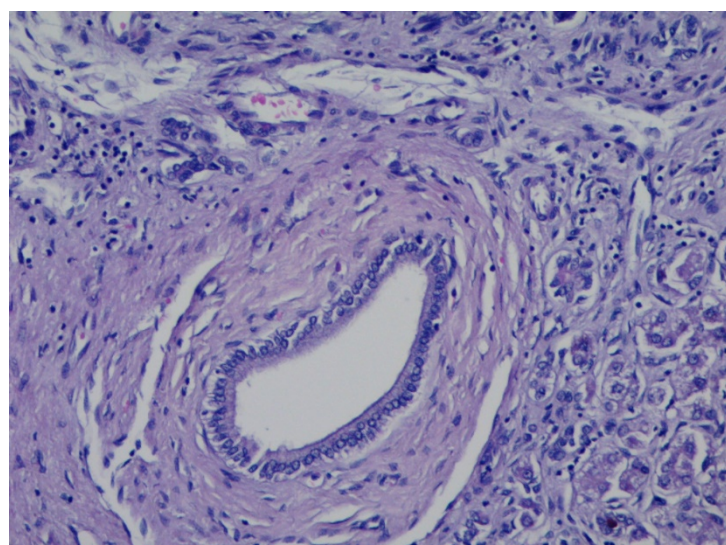
Note A : coupe fine avec un contraste suffisant



Note D : coloration hétérogène : effet de bord important



Note D : coupe surchargée en colorants

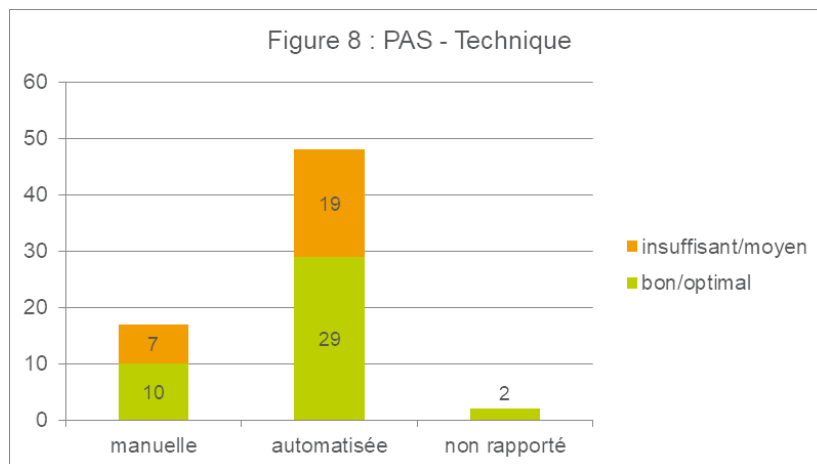


Note C : manque de contraste ; intensité insuffisante de l'éosine

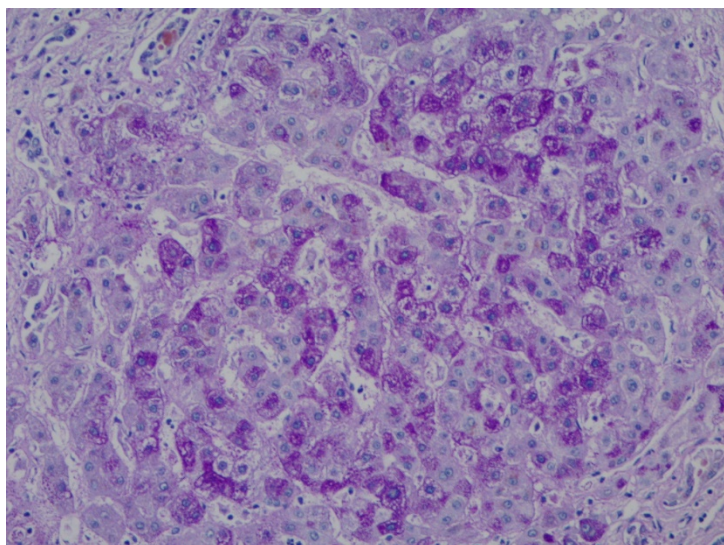
4.4. COLORATION PAS

La coloration PAS a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 41/67 participants (61%) (voir figures 1 et 5).

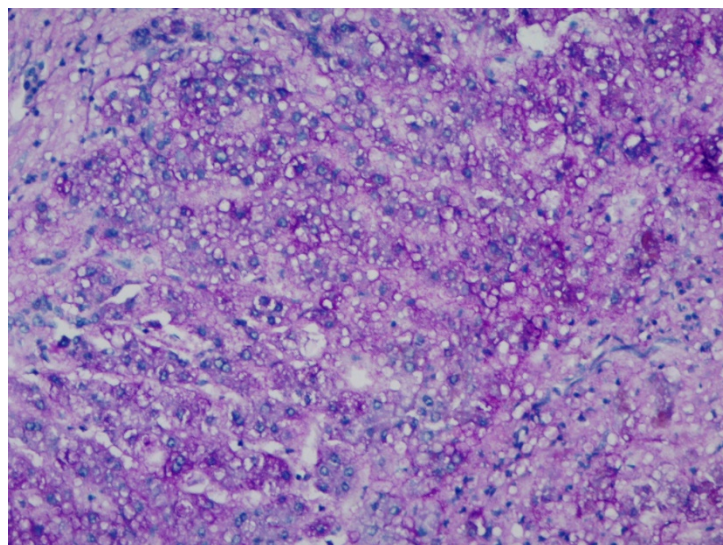
La coloration a été réalisée manuellement dans 17 laboratoires et par automate dans 48 laboratoires. Deux laboratoires n'ont pas rapporté la technique.



26 laboratoires ont été notés C (14 laboratoires) ou D (12 laboratoires) (voir figures 1 et 5), notamment en raison d'une coloration faible ou insuffisante du glycogène et/ou des membranes basales.



Note A : pas de commentaire

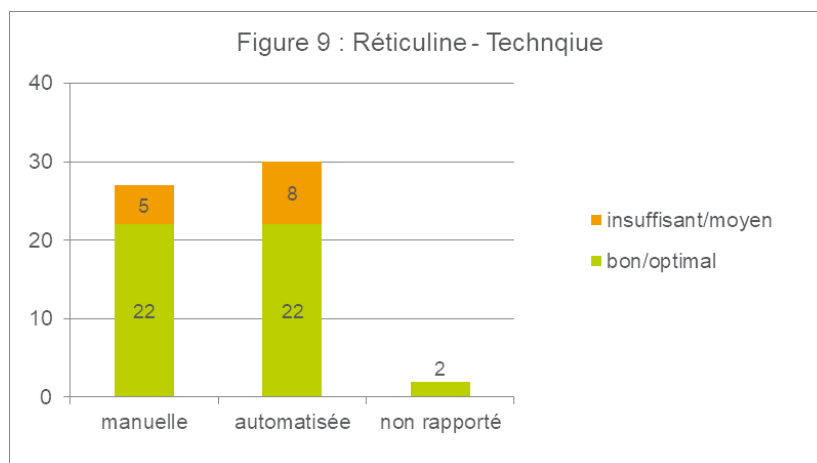


Note D : marquage diffus du glycogène ; altération tissulaire ; vacuolisation inexplicable

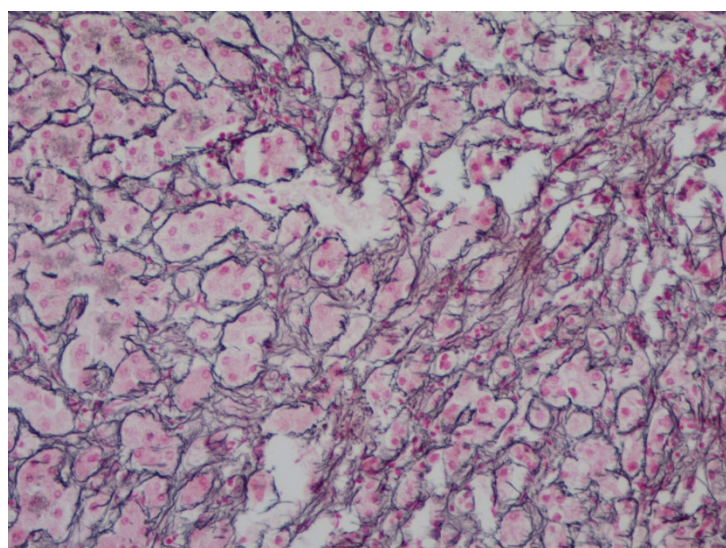
4.5. COLORATION DE LA RETICULINE

La coloration de la réticuline a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 46/59 participants (78%) (voir figures 1 et 6).

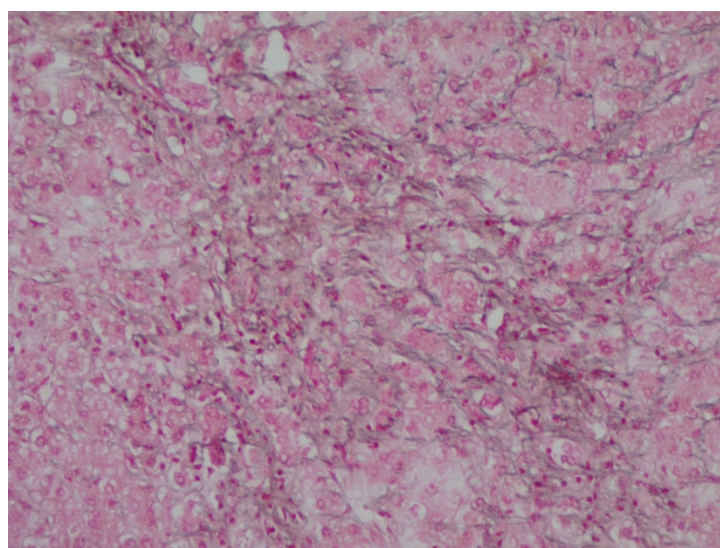
La coloration a été réalisée manuellement dans 27 laboratoires et par automate dans 30 laboratoires. Deux laboratoires n'ont pas rapporté la technique.



13 laboratoires ont été notés C (8 laboratoires) ou D (5 laboratoires) (voir figures 1 et 6), notamment en raison d'une coloration incomplète, faible ou insuffisante des fibres de réticuline.



Note A : pas de commentaire

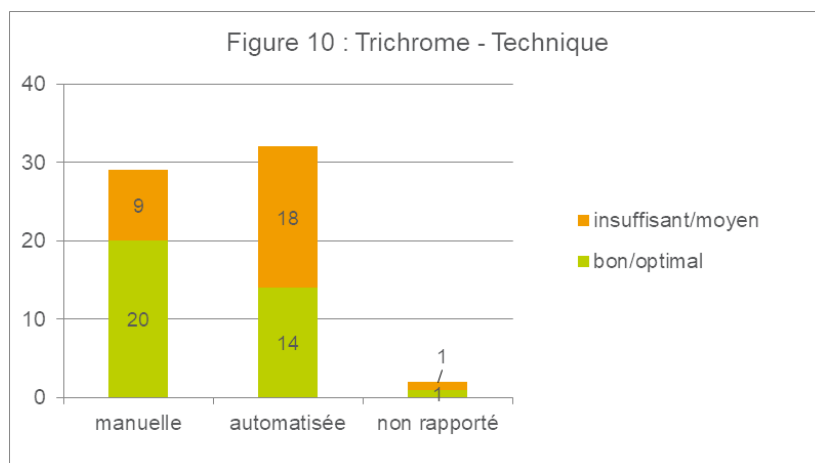


Note D : Absence de marquage des fibres de réticuline

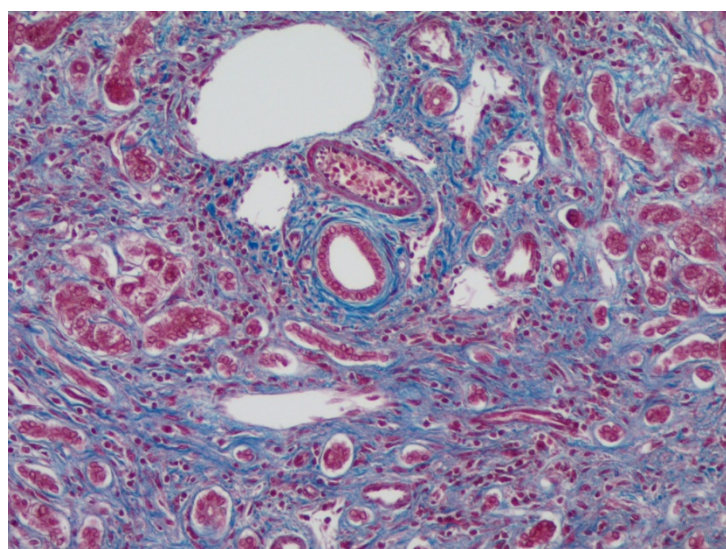
4.6. COLORATION TRICHROME

La coloration trichrome a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 35/63 participants (56%) (voir figures 1 et 7).

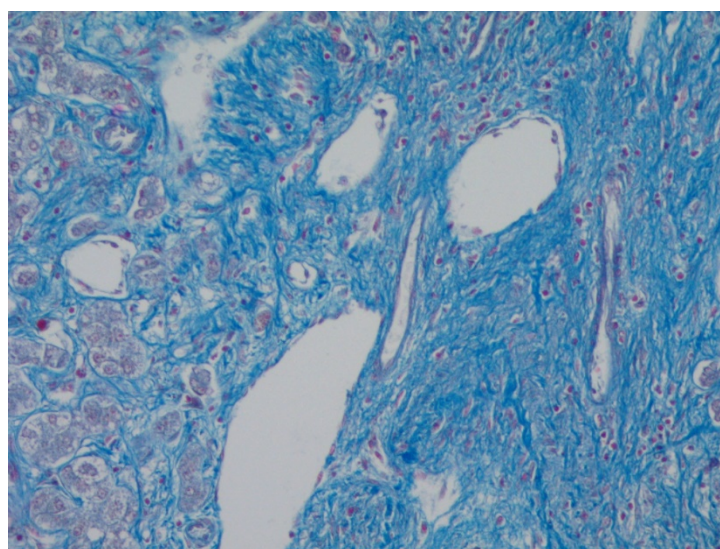
La coloration a été réalisée manuellement dans 29 laboratoires et par automate dans 32 laboratoires. Deux laboratoires n'ont pas rapporté la technique.



28 laboratoires ont été notés C (14 laboratoires) ou D (14 laboratoires) (voir figures 1 et 7), notamment en raison d'une coloration insuffisante des fibres de collagène et/ou des fibres musculaires lisses.



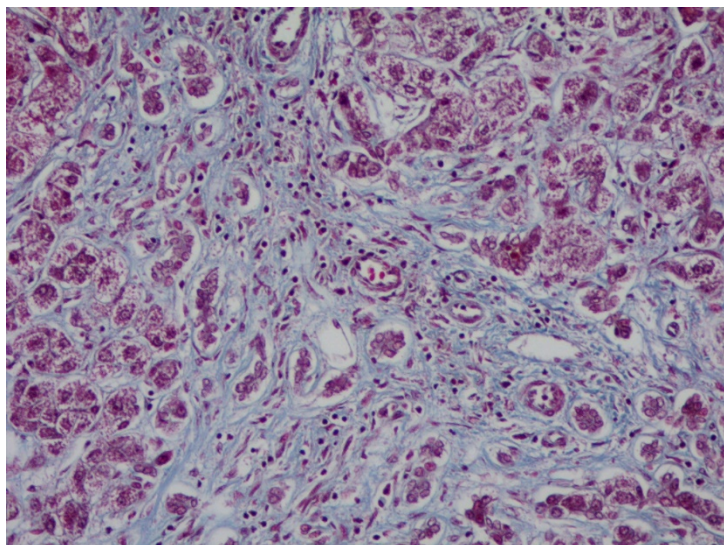
Note A : pas de commentaire



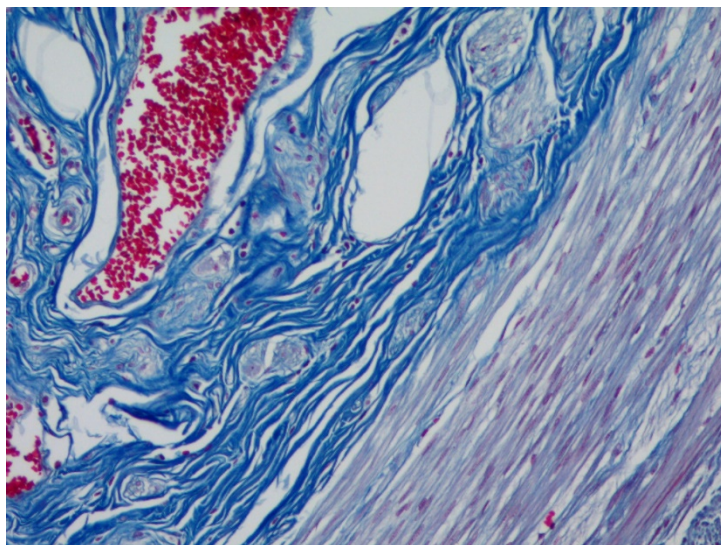
Note C : coloration insuffisante des fibres musculaires lisses

4.7. COUPES DE CONTROLE

Certains participants ont ajouté aux échantillons destinés aux colorations spéciales leur propre coupe de contrôle, et ce sur la même lame. Dans certains cas, nous avons observé une discordance entre la coloration de la coupe AFAQAP et celle de cette coupe de contrôle. En effet, le résultat de la coloration du témoin était meilleur que celle de la coupe AFAQAP. Cela peut être dû à la « double technique » que la coupe AFAQAP a subi. En effet, la lame AFAQAP a été chauffée une fois en plus. A l'AFAQAP, l'effet de l'ajout d'une coupe supplémentaire a été testé, mais il n'y a pas eu de résultat moins bon en rajoutant une coupe par la suite. Cependant, nous ne pouvons pas en tirer de conclusions, car nous ne pouvons pas reproduire les conditions des participants en termes de température d'étuve ou de platine par exemple.



Note D (coupe AFAQAP) : coloration insuffisante des fibres de collagène



Note A (même laboratoire, tissu de contrôle) : discordance entre lame AFAQAP et témoin

FIN
