

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 2023/1

Sciensano/Immunohistochimie/8-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
		e-mail: ql_secretariat@sciensano.be	
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		

Un draft de ce rapport a été transmis aux membres du groupe de travail EEQ le : 15/02/2024.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du groupe de travail EEQ du : 26/02/2024.

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

Date de publication : 12/03/2024

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

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	5
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 réticuline	5
2.1.5. Coloration trichrome	5
2.2. Évaluation finale	6
3. Résultats	6
3.1. Participation à l'EEQ	6
3.2. Aperçu des résultats	6
3.3. Répartition 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)	11
4.4. Coloration PAS	11
4.5. Coloration réticuline	12
4.6. Coloration trichrome	13

1. Introduction

Ce document comprend un résumé ainsi qu'une discussion des résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ) Histologie 2023/1 (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 technique 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), en identifiant une ou plusieurs caractéristiques qualitatives des entités soumises à l'EEQ sur la base d'un contrôle visuel.

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

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.

Méthode :

Coloration HE(S) (blocs) : comparer les lames issues des blocs afin de vérifier l'homogénéité des blocs, en réalisant une lame HE ; l'homogénéité inter-blocs se définit par des valeurs comparables pour les propriétés des caractéristiques d'intérêt (voir également le point 2.1).

Colorations spéciales (lames) : comparer des lames à différents niveaux d'épaisseur d'un bloc (effectué toutes les 50 coupes) afin de vérifier l'homogénéité du bloc ; l'homogénéité se définit par des valeurs comparables pour les propriétés des caractéristiques d'intérêt dans toute l'épaisseur du bloc (voir également le point 2.1).

1.4. DEMANDE

Il était demandé de couper au microtome le bloc de rein et de réaliser une coloration HE(S) sur une de ces lames. Dans le cas où le laboratoire ne coupe pas les blocs de rein en routine, il était permis de réaliser la coloration HE(S) sur un bloc du laboratoire même. Les lames blanches de rein fournies ont servi à la réalisation d'une coloration PAS, d'une coloration 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-Philippe Michot (technicien cadre de santé, CLCC de Lyon-FR), Jean-Pierre Bellocq (pathologiste, AFAQAP, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg-FR) et par le coordinateur d'enquête, Vanessa Ghislain (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 17-18 janvier 2024 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, de coloration bleu/violet
- 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 (en 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 glycogène, situé à l'apex dans les cellules épithéliales des tubules
- coloration des membranes basales

2.1.4. Coloration réticuline

- mise en évidence des fibres de réticuline

2.1.5. Coloration trichrome

- collagène bleu ou vert (selon la technique utilisée)
- fibres musculaires lisses rouges
- hématies rouge vif
- noyaux : définition chromatinienne

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 68/68 (100%).

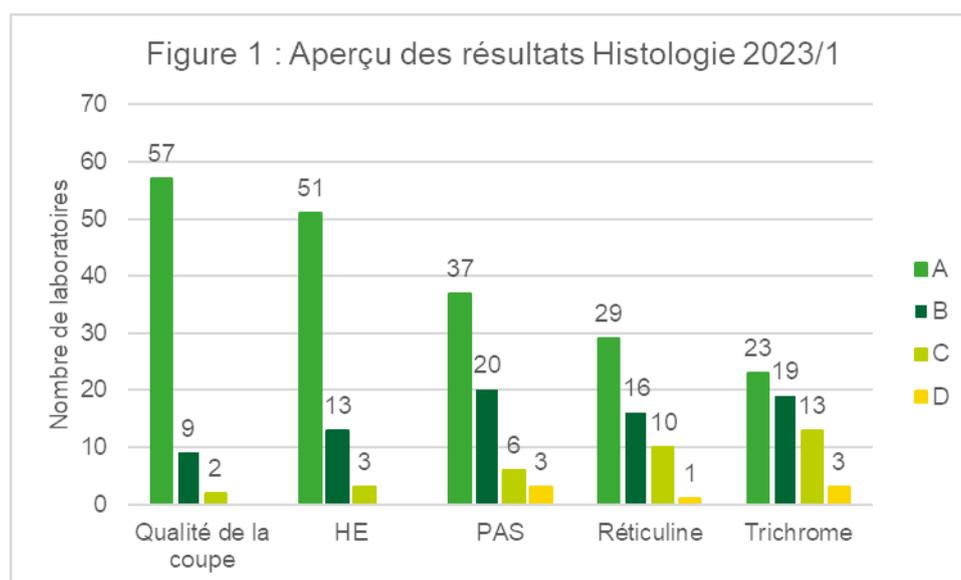
Région	Nombre de laboratoires ayant renvoyé des lames/ nombre de laboratoires inscrits
Région Flamande	39
Région Bruxelloise	10
Région Wallonne	19
Total	68

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	57 (84%)	51 (76%)	37 (56%)	29 (52%)	23 (40%)
B – 4/5	9 (13%)	13 (19.5%)	20 (30%)	16 (28.5%)	19 (33%)
C – 2/5	2 (3%)	3 (4.5%)	6 (9%)	10 (18%)	13 (22%)
D – 1/5	0	0	3 (5%)	1 (1.5%)	3 (5%)
Total	68	67*	66	56	58

(*) Une préparation HE (HESA, voir également le point 4.3) ne répondait pas aux critères et n'a pas été évaluée.



3.3. RÉPARTITION DES NOTES

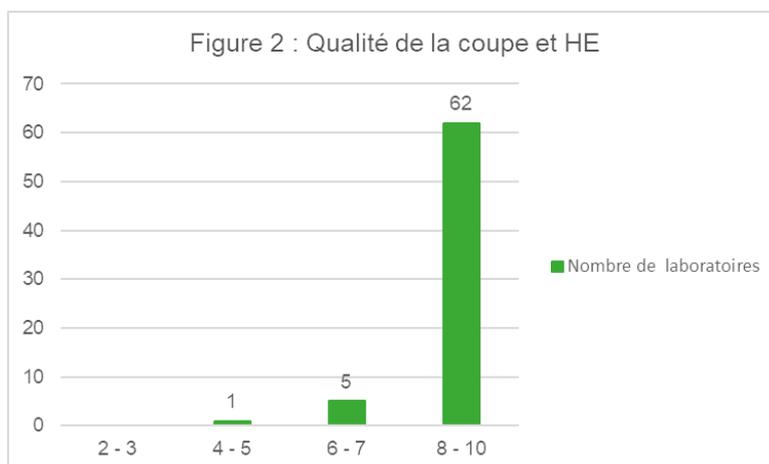
3.3.1. Notes globales (qualité de la coupe et HE)

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	0	0
4 – 5	1	1.5
6 – 7	5	7.5
8 – 10	62	91
Total	68	100

Note globale	
Moyenne	9.4
Médiane	10.0

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.

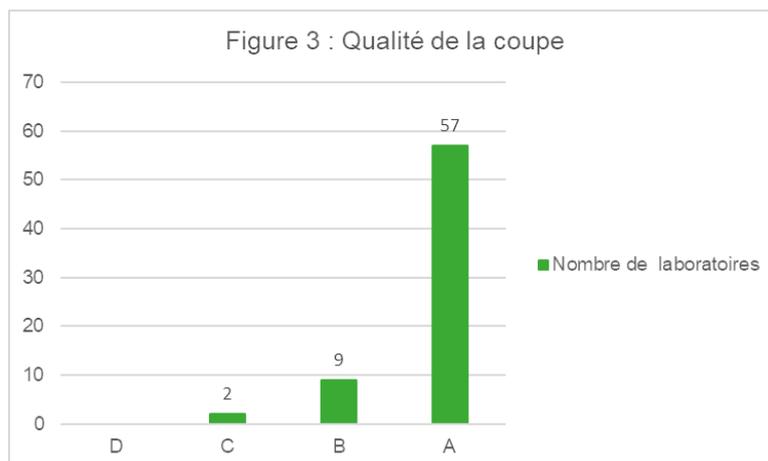


3.3.2. Qualité de la coupe

La qualité de la coupe est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	0	0
C – 2/5	2	3
B – 4/5	9	13
A – 5/5	57	84
Total	68	100

Note coupe	
Moyenne	4.8
Médiane	5.0

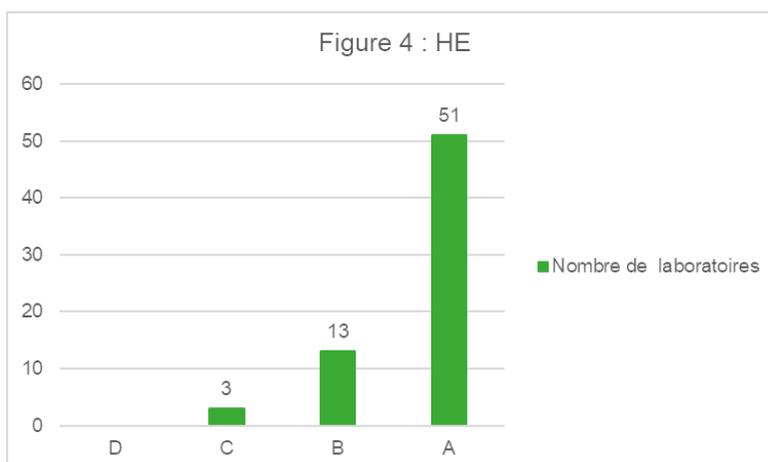


3.3.3. Notes HE(S)

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

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	0	0
C – 2/5	3	4.5
B – 4/5	13	19.5
A – 5/5	51	76
Total	67	100

Note HE(S)	
Moyenne	4.7
Médiane	5.0

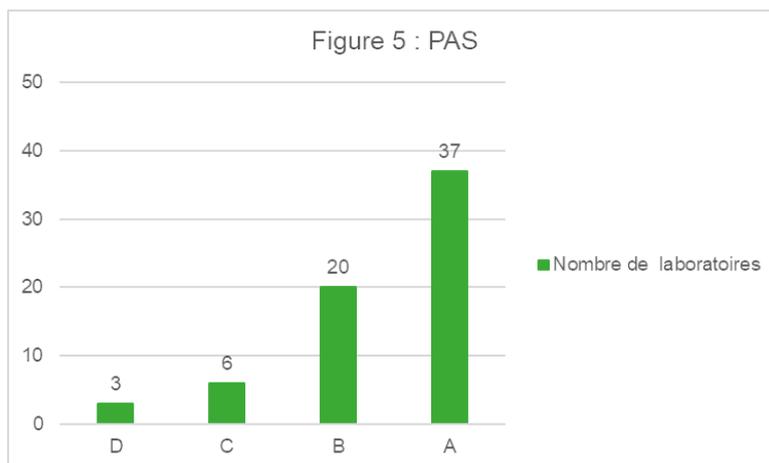


3.3.4. Notes PAS

La coloration PAS est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	3	5
C – 2/5	6	9
B – 4/5	20	30
A – 5/5	37	56
Total	66	100

Note PAS	
Moyenne	4.2
Médiane	5.0

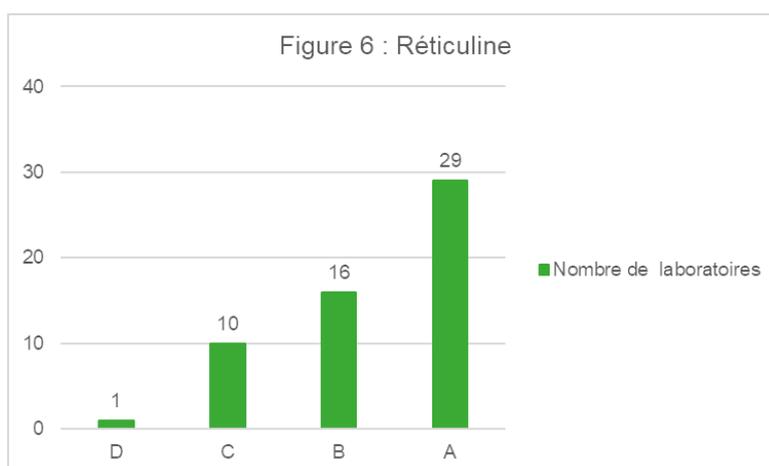


3.3.5. Notes réticuline

La coloration réticuline est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	1	1.5
C – 2/5	10	18
B – 4/5	16	28.5
A – 5/5	29	52
Total	56	100

Note Réticuline	
Moyenne	4.1
Médiane	5.0

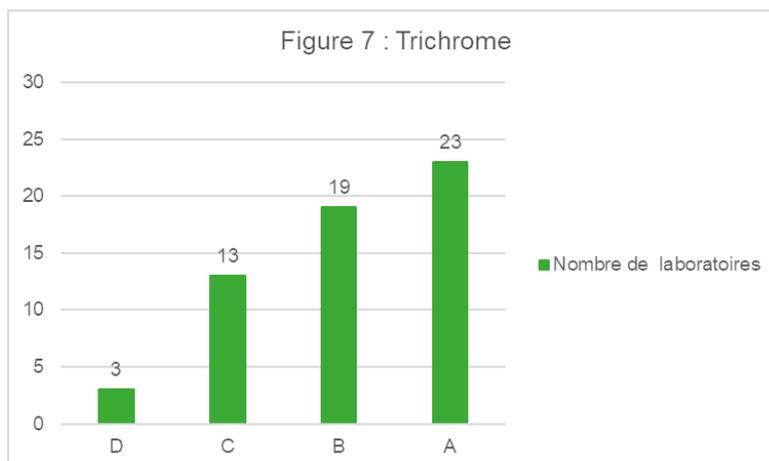


3.3.6. Notes trichrome

La coloration trichrome est notée sur 5 points.

Note	Nombre de laboratoires	%
D – 1/5	3	5
C – 2/5	13	22
B – 4/5	19	33
A – 5/5	23	40
Total	58	100

Note Trichrome	
Moyenne	3.8
Médiane	4.0



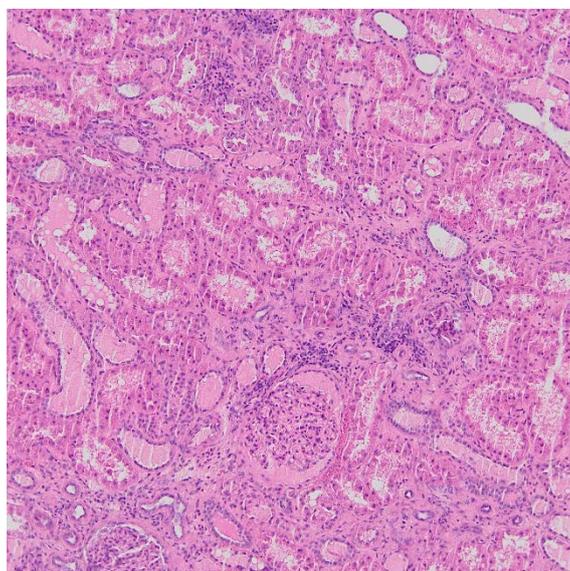
4. Discussion des résultats

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). 62/68 participants (91%) 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 66/68 participants (97%) (voir figures 1 et 3). Deux laboratoires ont obtenu une note C, en raison d'une coupe vibrée et/ou craquelée. La présence de (discrètes) vibrations était également la cause principale d'une note B (au lieu de A) dans la majorité des cas.



Note C : coupe vibrée et craquelée

4.3. COLORATION HE(S)

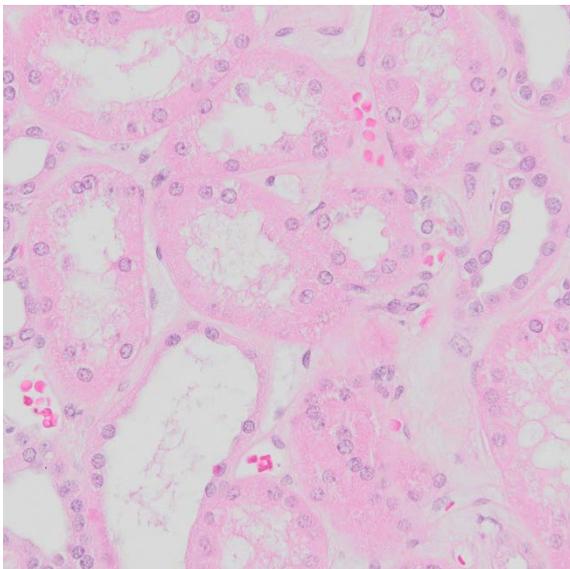
La coloration a été réalisée selon plusieurs méthodes :

Coloration	Nombre de laboratoires	%
HE	65	95.5
HES	2	3
HESA*	1	1.5
Total	68	100

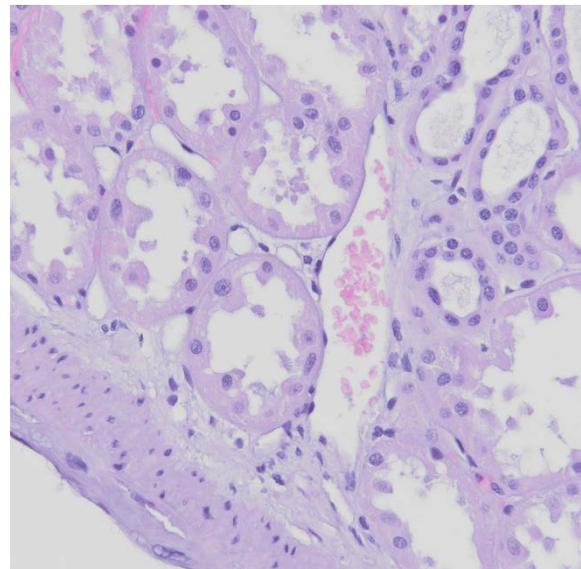
(*) Hématoxyline – Eosine – Safran – Bleu Astra

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

La coloration standard a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 64/67 participants (96%) (voir figures 1 et 4). La coloration standard (HESA) d'un laboratoire ne répondait pas aux critères et n'a pas été évaluée. 3 laboratoires ont obtenu une note C, en raison d'une intensité insuffisante de l'éosine.



Note A : pas de commentaire

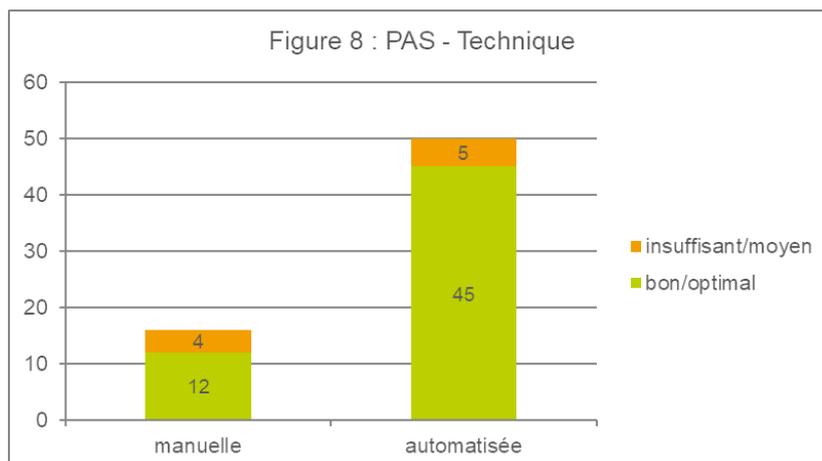


Note C : intensité insuffisante de l'éosine, évaluée sur les hématies

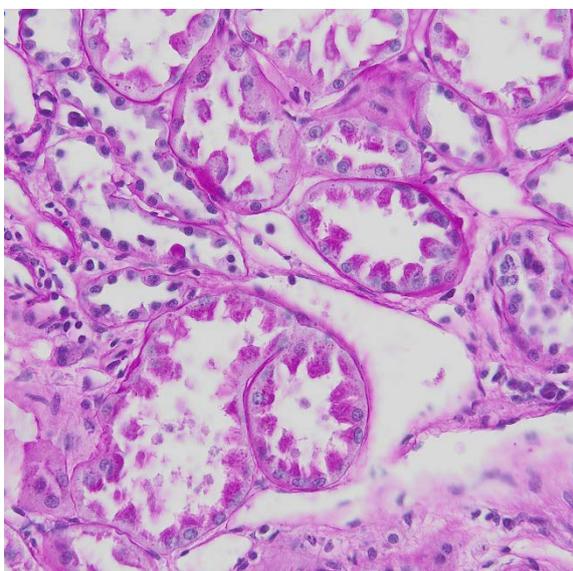
4.4. COLORATION PAS

La coloration PAS a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 57/66 participants (86%) (voir figures 1 et 5).

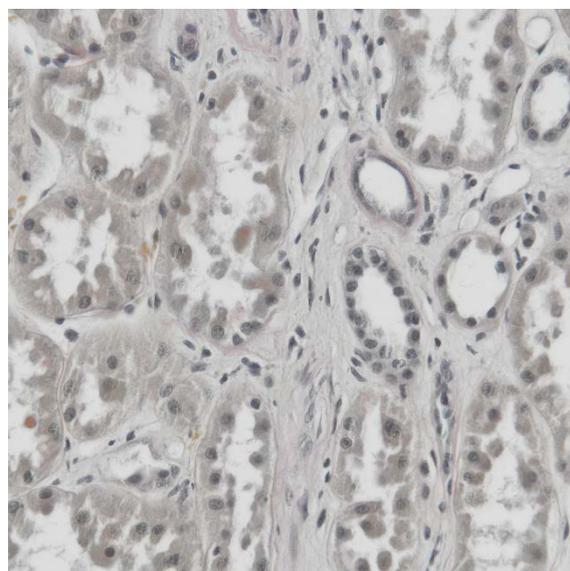
La coloration a été réalisée manuellement dans 16 laboratoires et par automate dans 50 laboratoires. Il est à noter que les résultats obtenus avec une méthode automatisée étaient meilleurs que ceux obtenus avec une méthode manuelle. Cela peut s'expliquer par le fait que la coloration PAS, ainsi que les autres colorations spéciales, sont rarement demandées et réalisées. De ce fait, les réactifs peuvent être moins bien gérés et la procédure moins bien maîtrisée.



9 laboratoires ont été notés C (6 laboratoires) ou D (3 laboratoires) (voir figures 1 et 5). Dans 8 cas sur 9, cela était dû à un marquage trop faible ou insuffisant du glycogène et/ou des membranes basales.



Note A : marquage des membranes basales et du glycogène

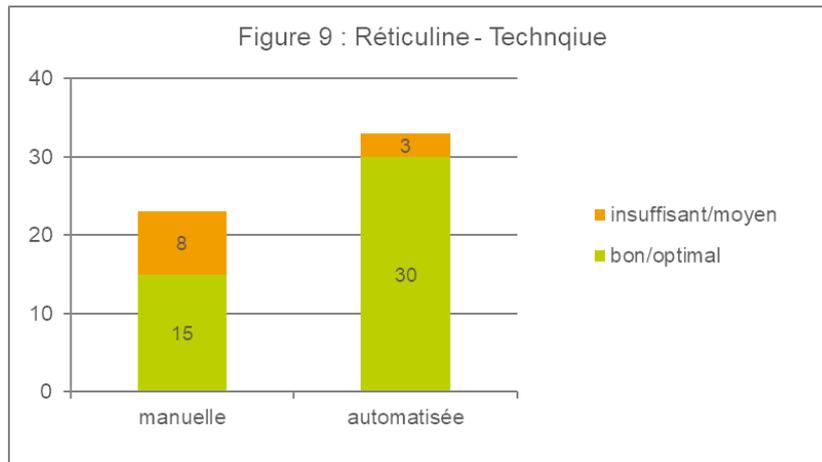


Note C : absence de démonstration des membranes basales et de glycogène

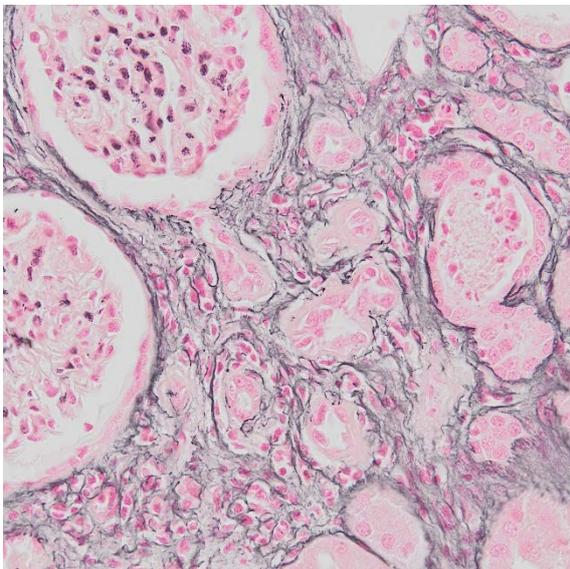
4.5. COLORATION RETICULINE

La coloration réticuline a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 45/56 participants (80%) (voir figures 1 et 6).

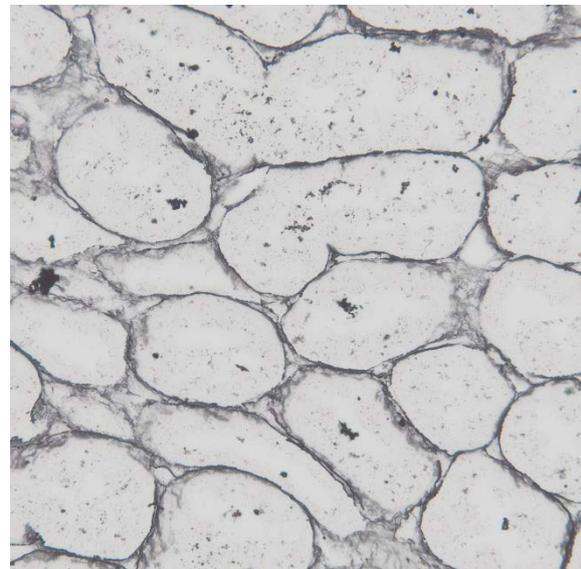
La coloration a été réalisée manuellement dans 23 laboratoires et par automate dans 33 laboratoires.



11 laboratoires ont été notés C (10 laboratoires) ou D (1 laboratoire) (voir figures 1 et 6). Cela était dû à la présence d'un bruit de fond et/ou de dépôts, pour 6 laboratoires, à un marquage trop faible ou incomplet des fibres de réticuline, pour 3 laboratoires et à un marquage non spécifique, pour 2 laboratoires.



Note A : marquage des fibres de réticuline

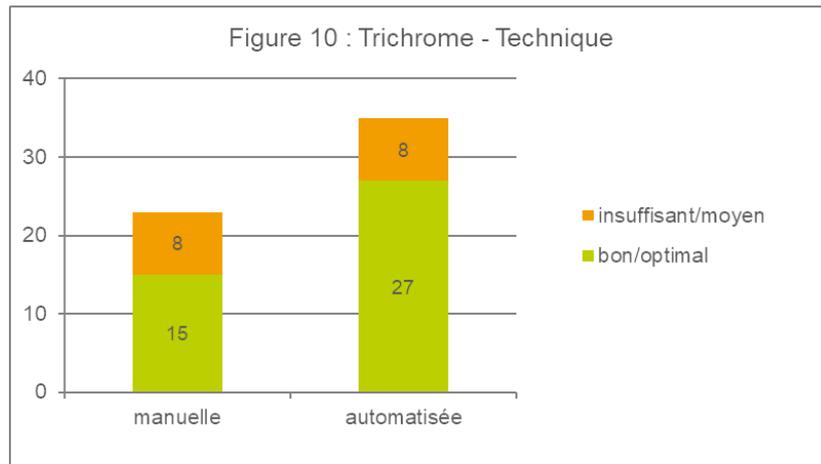


Note C : bruit de fond granuleux (présence de dépôts) ; contre-coloration faible

4.6. COLORATION TRICHROME

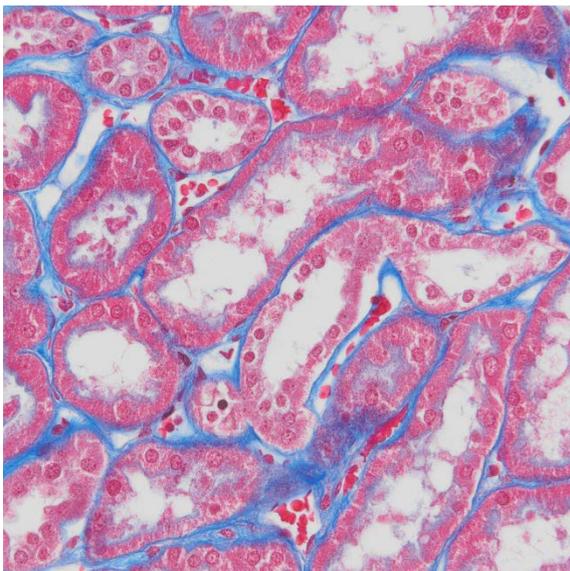
La coloration trichrome a été de qualité optimale (A) ou bonne (B) pour 42/58 participants (72%) (voir figures 1 et 7).

La coloration a été réalisée manuellement dans 23 laboratoires et par automate dans 35 laboratoires.

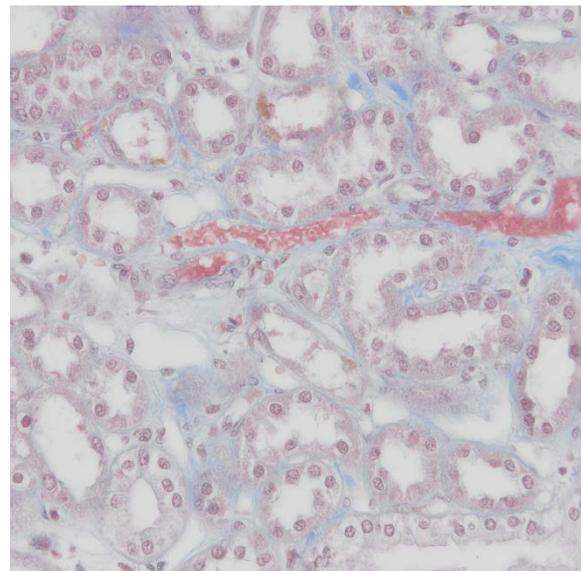


16 laboratoires ont été notés C (13 laboratoires) ou D (3 laboratoires) (voir figures 1 et 7). Cela était dû à :

- un marquage trop faible ou insuffisant du collagène et/ou des fibres musculaires lisses, pour 12 laboratoires ;
- une coloration rouge trop forte, pour 2 laboratoires ;
- les hématies n'ayant pas la couleur attendue (jaune-vert au lieu de rouge), pour 2 laboratoires.



Note A : collagène bleu, hématies rouge vif, beau contraste entre les noyaux et le cytoplasme



Note D : coloration globale insuffisante (trop faible)

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2024.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités des experts ou du groupe de travail EEQ.