

TISCEL 13

Convention d'utilisation de la plateforme d'histologie

Présentation :

La plate-forme d'histologie est située sur le site SMBH de l'Université Paris 13.

Son activité est coordonnée par la responsable de la plateforme, le Pr. Valérie Besnard, membre de l'unité Inserm UMR 1272. Une ingénieure d'études participe à l'activité de la plateforme d'histologie : Mme Odile Sainte-Catherine.

Cette plateforme est en mesure de proposer aux chercheurs la réalisation des différentes étapes techniques lors de l'étude anatomo-pathologique de prélèvements cellulaires et tissulaires humains et issus d'animaux de laboratoire.

Ces différentes étapes pourront être réalisées par le chercheur lui-même ou confiées au personnel de la plate-forme, après présentation de son protocole de recherche à la responsable de la plateforme. Le chercheur précisera les demandes techniques et les modalités de réalisation souhaitées sur la feuille de demande d'examen mise à disposition par la plate-forme.

L'étude anatomo-pathologique comprend différentes étapes qui sont : **la fixation et l'inclusion** de l'échantillon en paraffine, la réalisation de **lames blanches** standards ou spécifiques, la réalisation de **colorations standards ou spéciales** et toutes autres techniques spécialisées énoncées dans la présentation de la plate-forme de morphologie.

L'utilisation de **l'automate de déshydratation et de la station d'enrobage** fait partie des étapes de fixation et inclusion de l'échantillon en paraffine, étapes qui ne peuvent être dissociées.

I. Gestion du matériel

1.1 Matériel

- Une imprimante de cassettes histologiques Leica IPC
- Un automate de déshydratation STP 120 « Spin Tissue Processor ».
- Une station d'enrobage type EC 350 (Microm Microtech France).
- Deux microtomes à rotation manuelle Leica RM 2135, équipés d'un porte-rasoir à lames jetables.
- Un microtome à rotation semi-automatique Leica MultiCut, équipé d'un porte-rasoir à lames jetables.
- Un bain histologique.
- Deux platines chauffantes.
- Deux stations manuelles Tissue-Tek Sakura® Finetek de traitement des lames (déparaffinage, réhydratation, coloration, déshydratation et montage)
- Micro-onde et 2100 Antigen Retriever device (R2100-EU, Proteogenix) pour le démasquage
- Sorbonne et hotte chimique

- Un Cytospin 4
- Un **Four à hybridation** Technologie **RNAscope**

II. Règlements de l'accès

2.1 Conditions d'accès

Ce service est accessible à toutes les équipes de recherche INSERM, universitaires et EPST de l'UFR-SMBH et de l'Hôpital Avicenne ainsi qu'aux équipes extérieures.

2.2 Modalités d'accès

Comme pour toutes les activités, le chercheur présentera son protocole de recherche (résumé de quelques lignes) accompagné de la fiche d'implication remplie à la plateforme d'histologie.

Après validation du projet, le chercheur préviendra le technicien du plateau de l'échéancier des prélèvements. Ceux-ci seront obligatoirement accompagnés d'une demande d'examen à raison d'une fiche par prélèvement, ou par animal.

III. Aspects organisationnels

3.1 Respect du matériel

Comme pour tout équipement collectif, son bon fonctionnement dépend du soin que les utilisateurs en prennent. Tout dommage dû à une mauvaise manipulation devra donc être réparé aux frais de l'équipe de l'utilisateur.

Le milieu d'enrobage (paraffine ou paraplax) devra être le même que celui utilisé par le plateau de morphologie afin d'éviter toute incompatibilité de réactif. Les réactifs de l'automate seront changés exclusivement par le technicien de la plateforme.

3.2 Hygiène et sécurité

Les consignes usuelles de laboratoires doivent être respectées (port de blouse, gants...). Il est fortement recommandé que l'utilisateur se renseigne auprès du responsable pour les consignes particulières (utilisation du cryostat). Le laboratoire n'étant pas équipé, aucune manipulation d'échantillon contenant des radio-isotopes ne pourra être acceptée.

3.3 Utilisation des appareils

Les appareils destinés à la déshydratation seront utilisés exclusivement par le personnel du plateau de morphologie.

Le cryostat et les microtomes peuvent, à la demande du chercheur, être utilisés directement par ce dernier, sous réserve du respect des règles d'hygiène et sécurité.

3.4 Modalités de réalisation technique des actes

Toute demande d'examen doit être discutée avec la responsable du plateau.
 Tout examen réalisé par le plateau de morphologie est enregistré pour assurer la traçabilité des actes.

a-Techniques partielles

1. inclusion seule
2. coupe seule, sans inclusion : réalisation de lames blanches
3. coupe seule sans inclusion : réalisation de lames blanches et coloration standard HE/HES

b-Techniques complètes

Inclusion, coupe, coloration

c-Autres techniques

1. colorations complémentaires
2. coupe au cryostat

3.5 Techniques de colorations

Les colorations proposées par la plateforme d'histologie sont réalisées manuellement.

3.6 Tarification

<i>Prestations proposées (coût à l'unité)</i>	SMBH	Externes	Industriels
Cassette histologique Leica sans gravure	0,20 €	0,25 €	0,35 €
Cassette histologique Leica avec gravure	0,40 €	0,45 €	0,50 €
Gravure seule	0,20 €	0,25 €	0,30 €
Déshydratation et inclusion en paraffine	2,50 €	3,20 €	4,80 €
Coupe histologique en paraffine sur lame SuperFrost+	1,60 €	1,00 €	2,50 €
Coupe histologique congelée sur lame SuperFrost+ au cryostat	1,60 €	1,00 €	2,50 €
Coloration Hématoxyline& Eosine	1,00 €	2,00 €	3,00 €
Autres colorations	1,70 €	2,30 €	4,50 €

Immunohistochimie (révélation DAB, Ac primaire non inclus)	5,00 €	6,10 €	7,50 €
Immunohistochimie (révélation fluorescence, Ac primaire non inclus)	4,00 €	5,00 €	6,20 €
Utilisation du Cytospin 4 avec consommables (lame Superfrost Plus, funnel, papier Shandon)	6,00 €	7,00 €	9,00 €
Formation (microtome, cryostat)	40 €	50 €	60 €

3.7 Gestion des résultats

Dans un souci de valorisation, il est convenu que les utilisateurs mentionneront dans les remerciements, le personnel affecté au plateau de morphologie, dans toute publication utilisant les données qui y ont été obtenues.

Lorsque la participation d'un membre de la plateforme a été décisive dans la conduite du projet, les utilisateurs le feront figurer dans la liste des signataires de l'article.

3.8 Contacts

Valérie Besnard

Université Paris 13- site SMBH

1, rue de Chably

93000 Bobigny

Tel : 01 48 38 88 77

Mail: valerie.besnard@univ-paris13.fr

IV. Documents associés

- Formulaire de demande d'accès et services de la plateforme d'histologie.

Demande d'accès et services de la plateforme d'Histologie

Demandeur

Date :

N° demande :

Mr, Mme, Melle :

Statut : Stagiaire M2R Thésard Post-doctorant ITA Chercheur

Téléphone :

E-mail :

Nom du responsable :

Téléphone :

E-mail :

Laboratoire :

Adresse de facturation :

Coordonnées de la gestionnaire : Nom

Mail :

Tél :

Projet scientifique

Indiquer en quelques lignes la nature de votre projet :

.....

.....

.....

.....

Nature de la prestation

Réalisation / Expertise par la responsable du plateau

- Impression cassette histologique :
- Traitement des échantillons par automate de déshydratation.....
- Inclusion en paraffine (préciser l'orientation et autres détails souhaités) :
.....
- Coupe histologique sur microtome à partir de blocs de paraffine (préciser le nombre de coupe/lame, coupe/bloc, intervalle entre les coupes, etc)
.....
- Coupe histologique sur cryostat à partir de blocs OCT congelés (préciser le nombre de coupe/lame, coupe/bloc, intervalle entre les coupes, etc)
.....
- Coloration standard H&E
- Autres colorations (à préciser) :.....
- Immunohistologie (à préciser) :.....

- 1- Déclare avoir pris connaissance et accepter les conditions d'accès et d'utilisation de la Plateforme d'Histologie.
- 2- Déclare être assuré à titre individuel ou par mon employeur (garanties responsabilité civile et individuelle d'accident (indemnisation sur dommages corporels).

Date et signature du chef d'équipe

Date et signature de l'utilisateur

Date et signature du responsable de plateforme