

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>5</b>
<b>PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>7</b>
<b>I) Du prélèvement à la lame : les différentes étapes de la réalisation des coupes histologiques.....</b>	<b>9</b>
1- Les prélèvements .....	9
1.1- Biopsies .....	9
1.2- Les pièces opératoires.....	10
1.3- La nécropsie.....	10
2- Fixation .....	10
3- Description macroscopique et recoupe des prélèvements .....	11
3.1- Principe .....	11
3.2- Déroulement pratique.....	12
4- Inclusion.....	15
5- Enrobage .....	16
6- Coupes et coloration .....	17
<b>II) La recoupe : objectifs, exigences et contraintes.....</b>	<b>19</b>
1- Objectifs.....	19
2- Exigences et contraintes :.....	19
2.1- Représentativité.....	19
2.2- Traçabilité .....	20
2.3- Standardisation.....	20
<b>III) La recoupe en pathologie humaine.....</b>	<b>21</b>
1- Données générales, réglementation .....	21
2- La recoupe : une activité considérée comme « à risque ».....	22

2.1- Les risques .....	22
2.2- Mesures préventives pour les risques biologiques.....	22
3- L'assurance qualité .....	22
4- Recoupe et codage .....	23
<b>III) Conclusion de la partie bibliographique.....</b>	<b>25</b>
<b>DEUXIEME PARTIE: MISE EN PLACE D'UN PROTOCOLE DE RECOUPE STANDARDISE ET CODIFIE.....</b>	<b>27</b>
<b>I) Objectifs et intérêts .....</b>	<b>29</b>
<b>II) La recoupe à l'ENVA au démarrage de ce travail .....</b>	<b>31</b>
1- Méthodologie de la recoupe.....	31
2- Documents de la recoupe .....	31
3- Compte rendu de la recoupe .....	32
<b>III) Données actuelles dans d'autres laboratoires .....</b>	<b>33</b>
1- Elaboration d'un questionnaire .....	33
2- Résultats.....	33
<b>IV) Mise en place du codage .....</b>	<b>35</b>
1- Etude préalablement effectuée.....	35
2- Problématiques.....	35
2.1-Assurance qualité .....	35
2.2- Forme .....	36
2.3-Difficultés liées au codage .....	36
3- Présentation du protocole.....	37
3.1- Feuille de recoupe .....	37
3.2- Feuille de codage (annexe 4) .....	37
4- Précisions concernant la description macroscopique des prélèvements .....	40
5- Evaluation du codage.....	40
5.1- Evaluation à court terme .....	40
5.2- Evaluation à long terme .....	40

<b>CONCLUSION.....</b>	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>43</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>45</b>
<b>INDEX.....</b>	<b>51</b>



# INTRODUCTION

L'histopathologie est une discipline médicale qui étudie les lésions tissulaires, les interprète et les confronte aux données cliniques, biologiques et d'imagerie. Elle permet d'effectuer ou de préciser des diagnostics, d'évaluer un pronostic et éventuellement de juger des effets thérapeutiques.

L'analyse histologique regroupe un ensemble de procédés et de techniques que subit le prélèvement avant de pouvoir être examiné en microscopie. L'une de ces étapes est la description macroscopique et l'échantillonnage des prélèvements. Celle-ci est capitale pour la suite de l'analyse. C'est le point de départ de toutes les opérations qui sont réalisées par la suite pour aboutir à la lame observable en microscopie. Cette étape nécessite un grand sens de l'observation, la mise en pratique de connaissances anatomiques rigoureuses et une grande précision. C'est une étape charnière, le résultat de l'analyse histologique et donc le diagnostic en dépendent.

De plus, la recoupe, appelée « macroscopie » en médecine humaine, obéit à certaines règles et requiert une méthodologie précise. A l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, le protocole de recoupe n'est pas entièrement écrit, excepté pour certains organes. Le but de cette thèse est de réaliser un protocole codifié qui permettrait une standardisation des données et faciliterait ainsi une meilleure communication entre le responsable de la recoupe et les pathologistes, une meilleure traçabilité et une homogénéisation des comptes-rendus histologiques.

Dans cette optique, la première partie de cette thèse consiste en une étude des données bibliographiques qui rappellera les différentes étapes de l'analyse histologique et précisera la place de la description macroscopique et de la recoupe au sein de ce processus, ses exigences et ainsi que ses contraintes. La deuxième partie concernera l'élaboration du protocole standardisé et codifié, ses objectifs, sa mise en place et son évaluation.



# PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE





# I) Du prélèvement à la lame : les différentes étapes de la réalisation des coupes histologiques

L'analyse histologique est un processus long, comprenant de nombreuses étapes permettant d'aboutir à la lame qui est analysée par le pathologiste. Chacune d'elle est importante et la qualité de leur réalisation est primordiale. La recoupe est un moment clé dans ce processus et a donc une place essentielle.

## 1-Les prélèvements

### 1.1- Biopsies

Faire une biopsie consiste à prélever de petits fragments d'organes, sous anesthésie locale ou générale. Elle est donc pratiquée chez l'animal vivant en vue de la réalisation d'un diagnostic et d'une orientation thérapeutique<sup>13,14,18,22</sup>.

Divers types de biopsies sont réalisables :

- Biopsie directe sous contrôle de la vue : elle concerne essentiellement la peau et les muqueuses et peut se faire à l'aide de bistouri, pince ou trocart. Elle se fait soit par contrôle visuel direct (peau), soit par endoscopie (muqueuses digestive, utérines, respiratoires) à l'aide de pinces endoscopiques adaptées.
- Biopsie-exérèse (ou biopsie excisionnelle) : elle consiste à retirer au bistouri une portion d'organe ou de lésion.
- Ponction-biopsie ou biopsie transcutanée : il s'agit d'effectuer un forage, à l'aide d'un trocart monté sur un manche et contenu dans une canule, afin de prélever une carotte de l'organe à analyser. Cette technique requiert un guidage par imagerie, généralement un guidage échographique. Elle est notamment utilisée pour prélever des fragments de tissus osseux. Pour d'autres organes (foie, rein), ce type de biopsie peut également être réalisé à l'aiguille à biopsie.

Dans tous les cas, les biopsies doivent répondre à plusieurs critères afin de faciliter l'examen histologique. D'une part, elles doivent être **représentatives**, elles nécessitent ainsi d'être centrées sur la lésion, suffisamment nombreuses et orientées si cela est possible. De plus, elles doivent être correctement **prélevées**, de façon atraumatique c'est-à-dire en conservant au maximum l'intégrité des tissus, **fixées** et **identifiées**.

## 1.2- Les pièces opératoires

Une pièce opératoire est le **produit de l'exérèse d'une lésion dans sa totalité**, souvent à titre thérapeutique, par ablation partielle ou totale d'un organe. Ce sont souvent des prélèvements de gros volume, nécessitant plusieurs recoups. Ils doivent être mesurés, et/ou pesés et, dans la mesure du possible, disséqués.

L'étude des pièces opératoires s'accompagne d'une **description macroscopique** : type de pièce, aspect, taille, extensions des lésions, autres lésions associées, limites de résection, et elles peuvent également faire l'objet de photographies<sup>13,14,18,22</sup>.

## 1.3- La nécropsie

L'examen nécropsique présente l'intérêt d'établir les causes médicales de la mort de l'animal, de préciser les lésions responsables des symptômes observés et, éventuellement, de juger de l'effet des traitements appliqués.

Les prélèvements sont souvent nombreux et de gros volume, il s'agit d'un examen très complet<sup>13,18</sup>.

## **2-Fixation**

La fixation permet de préserver les tissus de l'autolyse et du dessèchement qui se mettent en place très rapidement après le prélèvement. Plusieurs liquides de fixation peuvent être utilisés ; ils présentent tous la propriété d'inactiver les enzymes autolytiques contenues dans les lysosomes cellulaires. Il existe de nombreux fixateurs, les principaux seront présentés ici.

Le fixateur le plus commun, notamment à l'ENVA, est le **formol** à 10%. Il est employé pour l'histologie de routine et permet de fixer les grosses pièces. Malgré ses propriétés irritantes pour les muqueuses nasales et oculaires et un effet cancérigène démontré nécessitant de grandes précautions d'emploi, le formol est actuellement le fixateur le plus couramment utilisé. Il présente les avantages d'être bon marché, incolore, il permet l'utilisation de techniques de marquage in situ comme l'immunohistologie. Il pénètre très bien dans les tissus, ce qui est un avantage pour les grosses pièces. En revanche la fixation est relativement lente, sa durée est généralement au **minimum de 24 heures**. En dessous de cette durée, on risque d'observer une importante hétérogénéité de la fixation au sein d'un même prélèvement.

L'autre grand groupe de fixateur est constitué par les mélanges contenant de l'acide picrique et du formol. Un des plus utilisés est le **liquide de Bouin**. Il est bien pénétrant et fixe les tissus très rapidement. Il possède également un léger pouvoir de décalcification. Sont également rencontrés le liquide de Hollande, de Halmi et bien d'autres encore. Cependant l'importante toxicité de ces produits ainsi que les inconvénients qu'ils possèdent (altération de la conformation macromoléculaire du prélèvement et incompatibilité avec les automates à inclusion sous vide) en font des fixateurs moins utilisés que le formol aujourd'hui.

Un autre mélange est fréquemment utilisé : le mélange « **AFA** » (Alcool-Formol-Acide acétique). Il fixe tous types de tissus, agit très rapidement et provoque peu d'altérations morphologiques. En revanche il possède une pénétrance tissulaire moyenne ; de ce fait il est utilisé pour les biopsies plutôt que pour les grosses pièces<sup>5,8,20,21,22</sup>.

La majorité des fixateurs comporte du formol. De ce fait, la manipulation des prélèvements lors de l'étape de macroscopie doit se faire dans les règles de sécurité et avec de grandes précautions<sup>3,5,8</sup>. Des substituts au formol sont proposés par différents fabricants mais n'ont pas encore été validés pour l'immunohistochimie ou l'hybridation in situ.

La fixation doit répondre à plusieurs exigences : elle doit être **rapide**, le volume de fixateur doit être égal au moins à **10 fois le volume du prélèvement**, et la **durée de fixation doit être suffisante**. Cette dernière dépend de la diffusion du fixateur, de sa concentration et de la densité du tissu. Généralement 24 heures suffisent pour une fixation au formol<sup>5,8,18</sup> sur les prélèvements de faible épaisseur (quelques millimètres).

### **3-Description macroscopique et recoupe des prélèvements**

#### **3.1- Principe**

Cette étape est fondamentale dans l'analyse histologique puisque la lecture et l'interprétation microscopique des lames en dépendent. Elle permet souvent d'ores et déjà d'orienter le diagnostic et la qualité de la réalisation de cette étape permettra le bon déroulement de la suite de l'analyse.

L'analyse macroscopique est une observation soigneuse, à l'œil nu, des altérations tissulaires. Elle permet de vérifier les indications données par le clinicien et de décrire la ou les lésions observées. Cet examen nécessite une bonne connaissance de l'anatomie et une mise en relation avec les données transmises par le clinicien.

La recoupe consiste à faire un **échantillonnage** des lésions de telle sorte que les coupes finales qui sont observées au microscope soient représentatives des lésions.

Ainsi, la technique de recoupe doit assurer la conservation des règles de qualité de fixation, de traçabilité, et la qualité de réalisation des échantillons<sup>2,3,10,11,14,15,22,23</sup>.

Il est important de noter que « recoupe » est un terme purement vétérinaire. En médecine humaine, la terminologie est différente, on parle de « macroscopie » et de « section ».

## 3.2- Déroulement pratique

### *3.2.1- Identification du prélèvement : importance de la traçabilité*

En premier lieu, l'identification du prélèvement ainsi que la feuille de commémoratifs permettent de vérifier la **conformité** du prélèvement aux règles techniques et aux informations transmises sur la fiche d'analyse. Les renseignements fournis par le clinicien demandeur sont :

- La date du prélèvement,
- L'identité du vétérinaire qui adresse le prélèvement,
- L'identité de l'animal (nom, espèce, race, âge, élevage si nécessaire, ses autres références éventuelles (n° de dossier clinique)),
- Le motif de consultation et les raisons de l'intervention,
- Les signes cliniques, les traitements administrés, les éventuels antécédents s'il est pertinent de les mentionner,
- Le lieu de prélèvement, l'aspect macroscopique de la lésion, les hypothèses diagnostiques.

Ces informations sont complétées par les données spécifiques de l'enregistrement du prélèvement au laboratoire. Elles permettent, non seulement de veiller à une bonne **traçabilité** des prélèvements mais également de mettre en relation la clinique avec les analyses de laboratoire<sup>3,18</sup>. Le document de travail est la feuille de recoupe.

Après cette vérification, les cassettes utilisées pour mettre les prélèvements recoupés, sont préparées et identifiées. Pour ce faire, on utilise pour le marquage, soit un marqueur spécifique soit un crayon à papier, afin de résister aux solvants. Sur la face de la cassette est noté un numéro d'identification.

### *3.2.2- Technique de recoupe*

#### *3.2.2.1- Matériel :*

La recoupe doit être réalisée sous une hotte en fonctionnement ou sur une table aspirante performantes, qui permettent d'aspirer les vapeurs de formol. Les manipulations s'effectuent avec des gants.

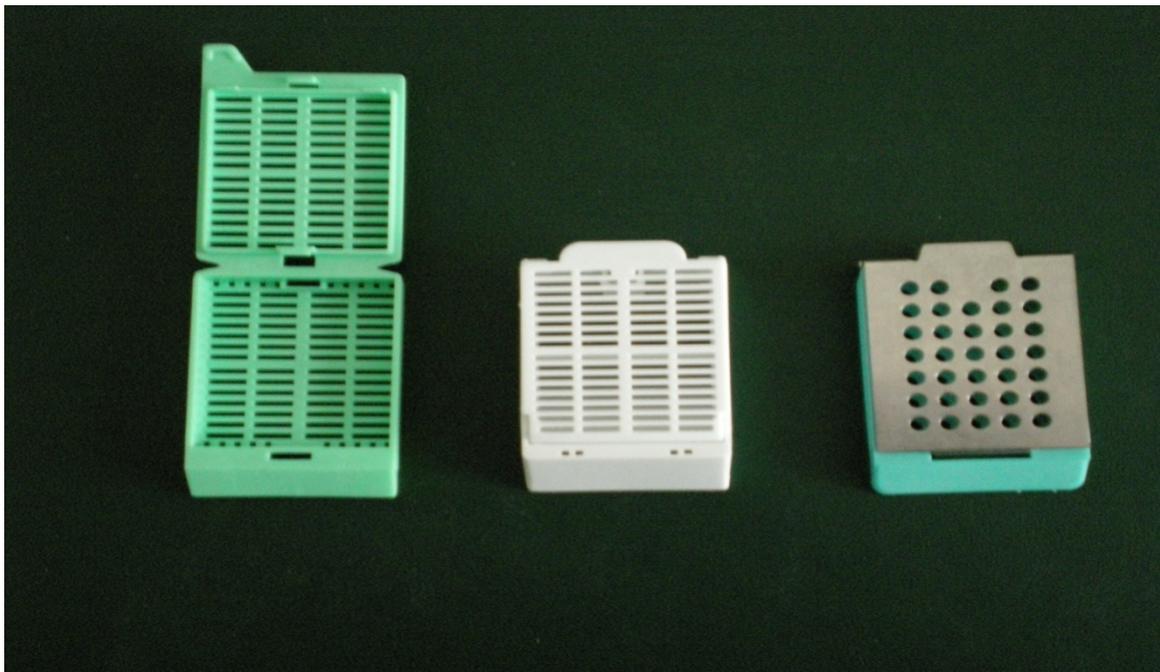
Peu d'instruments sont utilisés : un bistouri et quelques pinces, éventuellement un couteau pour les grosses pièces et une scie pour les prélèvements ossifiés. Les sections se font sur une planchette en liège<sup>3</sup>.

Les échantillons sont placés dans des cassettes dont les principaux types sont présentés sur le schéma ci dessous. Il existe 2 types de cassettes couramment utilisés selon leur épaisseur. Il y a d'une part les cassettes d'1 cm d'épaisseur qui sont utilisées essentiellement

pour les yeux et le système nerveux central, mais elles présentent l'inconvénient d'engendrer une fixation de moindre qualité.

D'autre part, on trouve des cassettes de 0,5 cm d'épaisseur. Celles-ci sont disponibles dans différentes couleurs et peuvent être utilisées pour distinguer divers types de prélèvements. Certaines sont munies d'un couvercle en plastique, d'autres doivent être fermées par un grille métallique.

*Photo 1 : De gauche à droite, cassette de 0,5 cm, de 1 cm, de 0,5 cm avec grille.*



#### 3.2.2.2- Encrage des marges:

L'**encrage** permet d'identifier, avant recoupe, les **marges** des lésions prolifératives. Cette technique est systématiquement réalisée en pathologie humaine pour les suspicions de tumeurs ; en revanche elle est peu utilisée en pathologie vétérinaire du fait de son coût en main d'oeuvre. Elle est tout de même employée à l'école vétérinaire d'Alfort.

L'encrage des marges consiste à badigeonner le prélèvement à l'aide d'un pinceau imbibé d'encre de chine ou de pâte à tatouage, excepté au niveau des marges naturelles (par exemple la peau), puis le tremper quelques secondes dans de l'alcool pur qui a un effet déshydratant. L'encre adhère aux tissus mous mais pas aux tissus calcifiés. La recoupe peut s'effectuer tout de suite.

L'encrage est réalisé pour toute **lésion proliférative** qui est recoupée (pas d'encrage si la pièce est incluse en totalité dans la cassette)<sup>14</sup>.

### 3.2.2.3- Méthode :

Le **repérage macroscopique** est une étape essentielle et conditionne la suite de l'analyse histologique.

Il convient d'observer :

- Le type d'organe, de l'orienter, de repérer les lésions,
- Le type d'atteinte : lésion focale, multifocale, diffuse,
- La lésion en elle-même : taille, hypertrophie/atrophie de l'organe en cas de lésions diffuse, délimitations, marges, couleur, aspect, structure, consistance.

Le nombre de coupes et les plans de coupe dépendent en effet de la taille du prélèvement, de sa nature, du type de lésion observée, des observations macroscopiques. La recoupe revient à faire un échantillonnage de la lésion, et, comme tout échantillon, il se doit d'être **représentatif**, d'où la difficulté de cette étape.

La taille et la forme du prélèvement conditionnent la recoupe ; c'est pourquoi le prélèvement est attentivement observé et mesuré. Il faut, en effet, que les prélèvements tiennent dans une cassette. Les petits prélèvements qui ne peuvent pas être recoupés, tels que les biopsies à l'aiguille ou au true-cut, sont **inclus en totalité**. Si le prélèvement est très fin ou plat (nerf), une grille ou une mousse est rajoutée à la cassette pour éviter de perdre le prélèvement à travers les trous de la cassette et mieux le visualiser lors de l'enrobage<sup>2,3,6,7,10,11,15,21,22</sup>.

Dans le cas d'un prélèvement plus gros, il y a au moins une recoupe, et plusieurs cassettes sont souvent nécessaires. Les fragments de prélèvements restant sont stockés et constituent les « **réserves humides** ». Ils peuvent éventuellement servir si une difficulté technique au diagnostic nécessite de préparer de nouveaux blocs.

Les sections doivent être fines et précises, **à la limite de la lésion avec le tissu sain**. Elles doivent également tenir compte des marqueurs, s'il y en a, qui orientent la lésion. Par exemple, si la marge crâniale de la lésion a été repérée par le préleveur (par exemple une aiguille ou un fil de suture), une des sections doit passer par cette marge et les autres sections peuvent être orientées.

### 3.2.2.4- Cas particuliers

#### Fixation longue durée:

Les gros prélèvements nécessitent une durée de fixation de plus de 24 heures. Cette durée est proportionnelle à la taille et au volume du prélèvement. Par exemple, un encéphale doit être fixé pendant une semaine environ. Le formol est renouvelé pendant la durée de fixation. Les flacons sont alors placés dans une balancelle le temps nécessaire et la recoupe est différée<sup>8</sup>.

### Décalcification :

Dans le cas de prélèvements de tissus osseux ou lors de masse calcifiée, une décalcification est nécessaire pour effectuer des coupes de qualité. Pour cela, les agents décalcifiants les plus utilisés sont les acides anorganiques comme l'acide nitrique ou organiques comme l'acide formique mais on peut également utiliser d'autres molécules comme l'EDTA. La taille du matériel à décalcifier et la densité de sa structure influencent le temps de décalcification<sup>16</sup>.

### Protocoles particuliers :

Certains protocoles sont très spécifiques et doivent être appliqués avec précision. C'est le cas pour l'œil ou le système nerveux central. De même, certains prélèvements d'autopsie obéissent à un protocole particulier lorsqu'ils entrent dans un cadre expérimental.

## **4- Inclusion**

Cette étape permet d'imprégner les tissus par un matériau inerte qui durcit pour obtenir des blocs homogènes, renfermant des organes ou fragments d'organes. La machine utilisée est un **automate à inclusion**. Il en existe de différents types mais tous suivent la même démarche : renforcement de la fixation, déshydratation, solvant, imprégnation<sup>12</sup>.

L'automate de l'ENVA est un appareil autorisant l'emploi de 14 solutions différentes sur 24 heures. La fixation est renforcée à l'aide de 2 bains de formol à 4%.

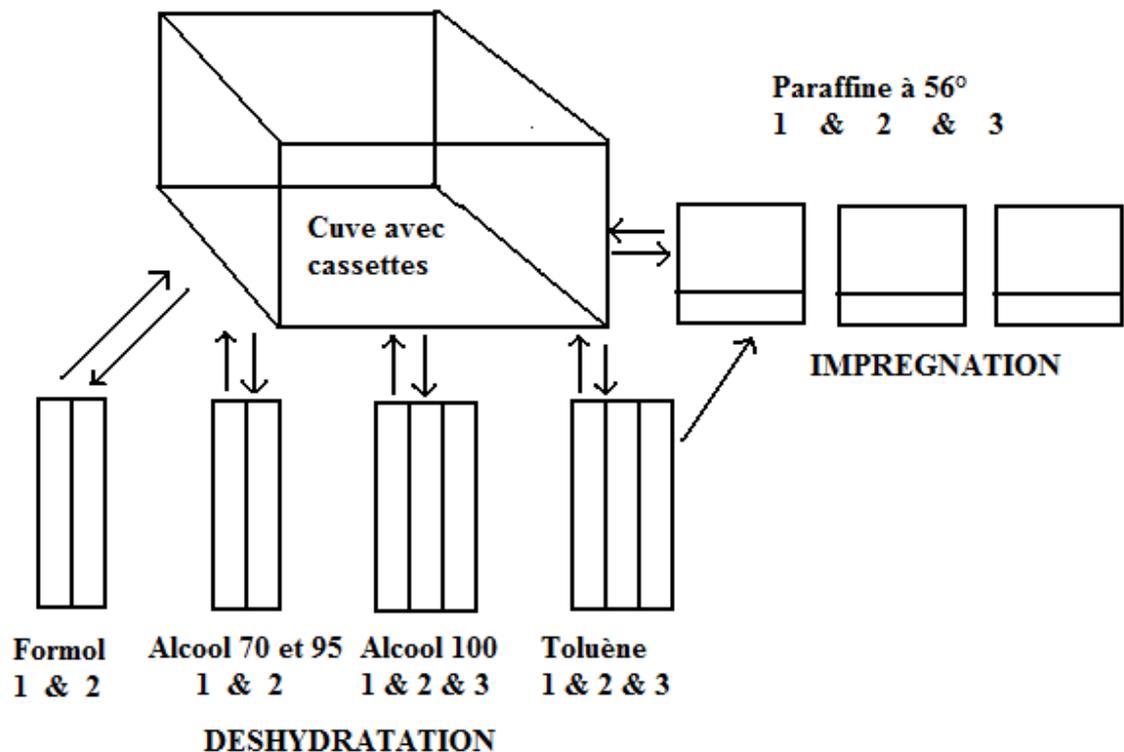
Puis les cassettes sont immergées dans des solvants alcooliques. Cela permet d'effectuer une déshydratation. Plusieurs solvants peuvent être employés : éthanol, butanol. Dans la plupart des cas, sont utilisés 5 bains d'éthanol successifs, le premier à 70°, le deuxième à 95° puis trois à 100°.

Les cassettes sont ensuite plongées dans des bains contenant du xylène ou du toluène. L'objectif est de remplacer l'alcool contenu dans les organes par un agent miscible à la paraffine et de rendre les organes plus transparents. Les deux composés cités précédemment sont miscibles à la fois au déshydratant et à l'agent d'inclusion, on parle d'agents « éclaircissants ». Trois solutions de toluène successives sont utilisées à l'école dans l'automate à inclusion<sup>12</sup>.

La dernière partie du processus est l'inclusion en paraffine qui permet d'imprégner les tissus. Cette étape se fait à chaud, environ 56°C, étant donnée la température de fusion de la paraffine et compte plusieurs bains. Le temps de séjour dans la paraffine peut évoluer suivant les prélèvements<sup>12</sup>.

Le schéma suivant résume l'ensemble des étapes :

Figure 1 : Mécanisme global d'un automate à inclusion



## 5- Enrobage

Cette opération est réalisée au moyen d'un **appareil d'enrobage** et a pour but d'orienter comme il le faut les organes dans un bloc de paraffine refroidi.

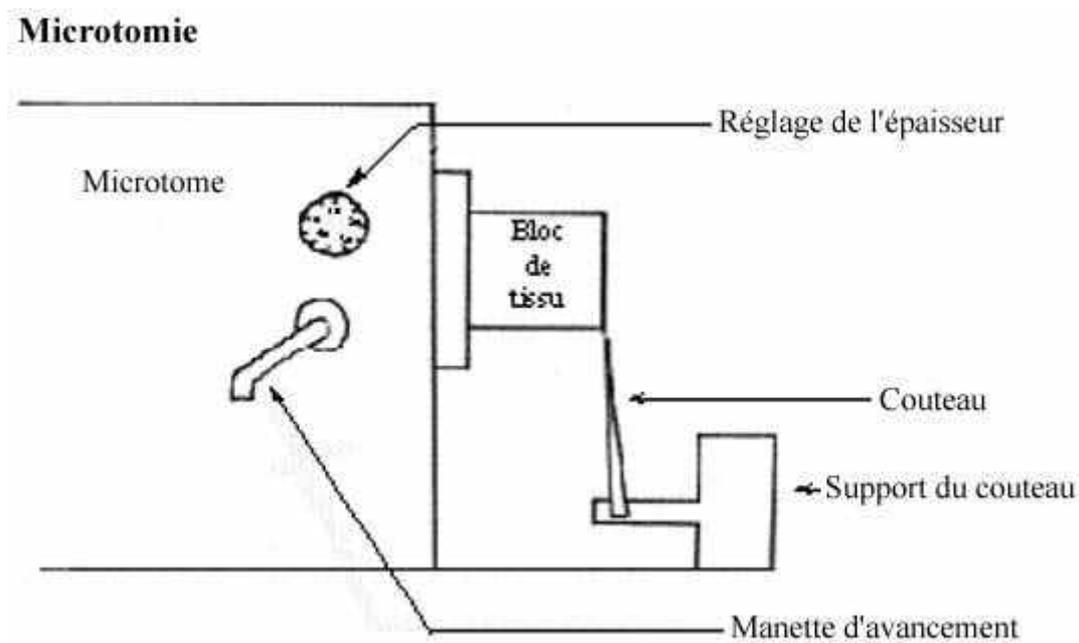
Pour ce faire, chaque échantillon est placé à l'aide d'une pince dans un moule en acier inoxydable de taille adaptée et préalablement rempli à moitié de paraffine liquide. L'ensemble est refroidi afin de fixer le prélèvement suivant l'orientation choisie puis le moule est totalement rempli de paraffine en recouvrant l'échantillon. La cassette qui contenait le prélèvement est fixée à l'ensemble ; son numéro permet de garantir sa traçabilité. Le tout est refroidi de nouveau sur une plaque à  $-5^{\circ}\text{C}$ , puis le bloc froid est démoulé<sup>7,12</sup>.

Un bloc de tissu très homogène en consistance et élasticité est ainsi obtenu : ce caractère est d'une grande importance pour la confection des coupes.

## 6-Coupes et coloration

Les coupes sont réalisées à l'aide d'un **microtome** avec réglage de l'épaisseur. Elles doivent être assez fines, généralement 3 à 5  $\mu\text{m}$ . Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser les prélèvements et d'éviter les superpositions tissulaires. Cette étape étant manuelle, elle nécessite une grande habileté et une grande précision. On obtient ainsi un ruban de coupes. Un microtome à rotation manuelle est présenté sur le schéma suivant<sup>12,14,15,20,22</sup>.

Figure 2 : Principe du microtome à rotation manuelle



Les coupes sont ensuite dépliées à la surface d'un bain marie tiède et recueillies sur une lame de verre où se trouve de la colle.

Vient ensuite l'étape de la **coloration**. Le fait de colorer les coupes permet de mettre en évidence les structures tissulaires et cellulaires. Les colorations utilisées dépendent du type d'analyse, du type d'organe, de ce qui est recherché. La coloration standard la plus utilisée est la coloration **HES** (Hématoxyline, Eosine, Safran). Le but de cette coloration trichromique est d'associer un colorant nucléaire, un colorant cytoplasmique et un colorant du tissu conjonctif.

Il existe de nombreuses autres techniques de coloration plus ou moins spécifiques (MGG, Ziehl...)<sup>13,14</sup>.

Quand cette étape est terminée, on peut procéder au montage. Les coupes colorées, qui sont déshydratées, et montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique ; elles peuvent être observées en microscopie.

## II) La recoupe : objectifs, exigences et contraintes

### 1-Objectifs

Les objectifs de la recoupe sont les suivants :

- **S'assurer de la conformité du prélèvement** avec les informations présentes dans le dossier de demande d'analyse,
- Repérer et **orienter les lésions**,
- Fournir une **description détaillée** des lésions et de juger de leur **extension**,
- Réaliser si nécessaire des photographies en vue d'une documentation,
- Orienter vers un **diagnostic**,
- Faire des **prélèvements adaptés** et orientés en vue de l'examen microscopique.

### 2-Exigences et contraintes :

#### 2.1- Représentativité

L'idéal serait que la recoupe soit réalisée par le pathologiste lui-même et que ce soit lui qui lise les lames par la suite car c'est une étape clé.

Les coupes doivent représenter de façon la plus fiable possible les lésions. Cela permet d'avoir un diagnostic plus précis.

Pour cela la macroscopie se veut être rigoureuse, les prélèvements orientés dans la mesure du possible et les coupes précises et fines.

Pour que la **représentativité** des échantillons soit la meilleure possible, c'est-à-dire que ces échantillons doivent posséder les mêmes caractéristiques que l'ensemble de la lésion, plusieurs éléments doivent nécessairement être réunis.

D'une part, la **rigueur des prélèvements** est là encore une qualité indéniable. Le prélèvement chirurgical doit contenir toute la lésion, si celle-ci n'est pas trop grosse, et les marges doivent être orientées. Le prélèvement doit être pertinent si la taille de la lésion est importante. Il est en effet inutile de prélever des zones de nécrose. En revanche le prélèvement de tissus profonds ou de nœuds lymphatiques peut s'avérer intéressant pour le diagnostic et surtout le pronostic.

De plus, la taille des prélèvements est importante à considérer. Les biopsies à l'aiguille doivent être multiples pour faciliter le diagnostic et les gros prélèvements ne devraient pas dépasser 2cm (diamètre d'un flacon standard en histologie) afin de permettre une bonne fixation.

D'autre part, les **commémoratifs** ainsi que les hypothèses diagnostiques doivent être renseignés précisément sur la fiche de demande d'analyse. Cela peut influencer les différentes coupes qui seront réalisées par la suite.

Ces deux éléments dont peut dépendre la qualité de l'échantillonnage sont des étapes qui se déroulent bien sûr **en amont** de l'étape de recoupe et qui, par conséquent, ne dépendent pas du pathologiste. De ce fait il est très important de bien réaliser les prélèvements chirurgicaux qui sont moins bien standardisés en pathologie animale qu'en pathologie humaine<sup>2,3,18</sup>.

## 2.2- Traçabilité

La **traçabilité** est une des règles de base de toute analyse. Elle réside en l'aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou la localisation d'une entité au moyen d'identifications enregistrées.

Ainsi, l'identification du prélèvement est très importante<sup>2,3</sup>. Sa conformité est la première chose qui est vérifiée. Comme mentionné plus haut, les cassettes sont identifiées à l'aide d'un numéro unique. Toutes les données nécessaires sont reportées manuellement sur la feuille de recoupe.

## 2.3- Standardisation

En pratique humaine, tous les protocoles sont standardisés. Pour une pathologie donnée, il y a des prélèvements standards à effectuer, et à chaque pathologie est associée une feuille de macroscopie. En pratique vétérinaire, les exigences n'étant pas les mêmes, il n'y a pas de standard pour les prélèvements. Ceux-ci sont donc extrêmement diversifiés. Le pathologiste ou le technicien chargé de la recoupe doit s'adapter à tous ces types de prélèvements<sup>9</sup>.

Ce travail s'inscrit donc dans cette volonté de **standardisation**. Le but est de rassembler ces multiples cas dans un protocole **simple et uniforme** pour faciliter le travail à la recoupe et mieux transmettre les informations.

La recoupe est donc une étape charnière dont dépend le résultat de l'analyse histologique. Elle doit répondre à de nombreuses exigences et s'inscrire dans la démarche de traçabilité. L'analyse histologique se démocratise dans le milieu vétérinaire depuis quelques années seulement ; elle est en revanche d'une très grande importance en pathologie humaine. La partie suivante permet de faire le point sur la recoupe et ses différents aspects règlementaires chez l'homme.

### III) La recoupe en pathologie humaine

#### 1- Données générales, réglementation

Le mode de fonctionnement d'une structure d'anatomie pathologique humaine diffère très peu de celui en milieu vétérinaire. En revanche, les exigences n'étant pas les mêmes, elle est soumise à beaucoup plus de contraintes, et est **très réglementée**. **L'assurance qualité** est une notion très présente. Elle implique le souci de la meilleure exécution des actes à chaque étape de leur déroulement afin d'aboutir à la meilleure sécurité, à la meilleure rapidité et à la meilleure transmission des résultats. Elle permet donc un exercice optimal de la discipline et suscite la confiance.

Les différentes mesures visent essentiellement l'hygiène et la sécurité, ainsi que la qualité de la réalisation des différents actes<sup>2,3,4</sup>.

En effet, le pathologiste assure la responsabilité d'actes de biologie médicale qui s'inscrivent dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique. C'est pourquoi la recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle et constante du pathologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire. Deux documents de références s'adressent à toutes les personnes participant à la réalisation des analyses de biologie médicale : « Recommandations de bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologique » et « Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale ». Ce sont tous deux des instruments importants au service de la **qualité** en anatomie pathologique humaine<sup>3</sup>.

Cette discipline doit également répondre à des **normes** européennes, françaises et normes ISO (Organisation internationale de normalisation).

Les normes européennes ont le statut de norme française, elles sont éditées et diffusées par l'association française de normalisation (**AFNOR**).

Trois normes ISO sont importantes :

- NF EN ISO 9001 :2000,
- NF EN ISO 17025 :2005,
- NF EN ISO 15189 :2007.

La première spécifie les exigences pour un système de **management de la qualité** qui peut être utilisé par l'organisme en interne ou à des fins de certification. Elle porte sur l'efficacité du système de management de la qualité. Elle a le statut d'une norme française. La deuxième spécifie les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais et elle est principalement axée sur la métrologie. La dernière spécifie les **exigences de qualité** et de compétence propres aux laboratoires d'analyses biologiques. Toutes les étapes de la prise en charge d'un prélèvement y sont décrites et analysées<sup>3</sup>.

## **2- La recoupe : une activité considérée comme « à risque »**

### **2.1- Les risques**

La macroscopie et la recoupe sont considérées comme activités à risque pour le manipulateur. Deux risques principaux sont à noter.

D'une part le **risque infectieux** lié aux prélèvements hémorragiques et une activité exposant aux risques de coupure et de projection. Bien évidemment, ce risque est moindre dans le milieu vétérinaire mais il n'est pas nul. Il ne concerne toutefois que les prélèvements non fixés (et ceux susceptibles de contenir un prion).

D'autre part, il y a un **risque chimique** non négligeable, et il concerne autant la pathologie humaine que vétérinaire. Dans un communiqué du 15 juin 2004, le CIRC (Centre International de recherche sur le Cancer) précise que le formol est **cancérigène** pour l'homme. Cet aspect est très règlementé et très surveillé, d'autant plus que le formol demeure le fixateur de référence international, ses substituts n'ayant pas encore trouvé la garantie d'une qualité identique.

Du fait de ces risques, les salles de recoupe doivent répondre à de nombreuses mesures préventives et obligatoires<sup>3,5,8</sup>.

### **2.2- Mesures préventives pour les risques biologiques**

Les mesures préventives sont les suivantes<sup>3</sup> :

- L'arrêté du 16 juillet 2007 impose l'utilisation d'un **Poste de Sécurité Microbiologique** (PSM) pour la dissection des pièces fraîches. Cela permet une protection de l'utilisateur contre la contamination aéroportée ainsi que, selon la catégorie du PSM, un confinement dynamique des produits manipulés. Trois classes de PSM sont distinguées.

- Utilisation de moyens de protection des mains et du visage
- Hygiène rigoureuse du plan de travail et du matériel
- Réduction et inactivation des effluents

## **3- L'assurance qualité**

Les procédures d'assurance qualité sont des **instructions écrites**, propres à chaque structure d'anatomie pathologique, décrivant les opérations à effectuer, les précautions à prendre, les mesures à appliquer. Les modes opératoires sont des instructions, associées à une procédure, détaillant l'exécution d'une tâche précise.

En macroscopie, l'ensemble des protocoles d'étude macroscopique doit être rassemblé dans un document qui contient les instructions de base pour les dissections, le nombre habituel de prélèvements à effectuer pour une pathologie donnée, les informations requises pour les comptes rendus de routine, les instructions sur la façon d'échantillonner et enfin les techniques et colorations spéciales à utiliser<sup>2,3</sup>.

L'**AFAQAP** (Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie et Cytologie Pathologique) est une association très importante en pathologie humaine. Les buts de cette association sont :

- Rédiger des protocoles méthodologiques et de références sur les bonnes pratiques, visant à améliorer et fiabiliser l'acte en anatomie pathologique.
- S'assurer de la bonne application de ces protocoles
- Collaborer à l'organisation d'actions de formation permanente
- Favoriser l'évaluation de la pratique et toute initiative visant à améliorer l'assurance qualité.

En 1998, cette association a édités les « Recommandations de bonnes pratiques en ACP » pour permettre une meilleure qualité de la prise en charge des actes ACP (Anatomie et Cytologie Pathologiques). En 2007, ce document a été revu et est en cours de validation au sein de l'AFAQAP et auprès des différentes instances de la discipline. Cette deuxième version devrait être suivie en 2009 par une troisième qui sera accompagnée d'un référentiel de pratiques élaborées avec l'AFNOR (Association Française de Normalisation)<sup>3</sup>.

La démarche d'évaluation des actes fait également partie de cette notion d'assurance qualité. Il existe pour cela des référentiels d'auto-évaluation qui ont été formalisés par l'AFAQAP, qui dispose, depuis avril 2006, d'un **agrément d'EPP** (Evaluation des Pratiques Professionnelles).

Un premier test est « organisationnel » et concerne la transmission, la réception et l'enregistrement des prélèvements dans une structure d'ACP. Les deux autres tests concernent la prise en charge des prélèvements tissulaires et la gestion du « dossier-patient ». Ces tests sont présentés sous forme de grilles à remplir et permettent aux structures d'ACP de mettre en évidence les points à améliorer.

Deux autres organismes ont une place très importante dans la démarche d'assurance qualité ; il s'agit de l'HAS (Haute Autorité de Santé) et de l'ANAES (Agence nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé). Ils mettent en place de nombreux guides méthodologiques, des recommandations de bonnes pratiques, et organisent des conférences avec les professionnels de la santé<sup>3</sup>.

#### **4- Recoupe et codage**

La recoupe en pathologie humaine est assez semblable à celle réalisée en milieu vétérinaire. Elle est souvent effectuée par un technicien.

Chaque compte rendu de macroscopie est spécifique d'une maladie. Dans certains CHU ou grands laboratoires, cette étape est entièrement informatisée et codifiée. Elle a comme support un logiciel complexe et onéreux qui n'est pas encore accessible à tous.

Il existe en revanche une codification nationale qui est la classification **ADICAP** (Association pour le Développement de l'Informatique en Cytologie et Anatomie Pathologique). Elle repose sur un codage très complexe et informatisé et prend en compte tous les éléments de l'analyse histologique : le mode de prélèvement, le type de technique utilisé, l'origine précise du prélèvement, les lésions. Cette classification est un répertoire exhaustif des lésions rencontrées, elle est une incroyable banque de données. Elle répertorie également tous les types de tumeurs.

Le premier caractère du code est une lettre de A à X qui correspond au mode de prélèvement. Puis une autre lettre, de A à Z, permet de coder le type de technique. Deux lettres viennent ensuite renseigner sur l'organe d'origine du prélèvement. Il y a ensuite deux codages possibles, un lié aux affections non tumorales et l'autre lié aux affections tumorales. Le premier comporte un chiffre de 0 à 9 concernant la pathologie générale puis une suite de 4 chiffres identifiant la lésion avec précision. Le second comporte une lettre, de A à X, se référant aux grandes familles histogénétiques de tumeurs, puis un chiffre codant pour le type de la tumeur (bénigne, maligne, métastase...), et enfin 2 caractères, une lettre et un chiffre, codant pour le groupe et la variété de la tumeur. L'intégralité de ce code apparaît systématiquement à la fin de chaque compte rendu histologique.

Il n'est pas utilisé dans les structures de diagnostic vétérinaire. A l'ENVA, ce code n'est utilisé, avec quelques adaptations, que pour l'archivage des photographies numériques des lésions.

D'autres codifications officielles existent comme le **CIM 10**, qui est une nomenclature internationale fréquemment utilisée dans les comptes rendus histologiques<sup>1</sup>.

## **IV) Conclusion de la partie bibliographique**

L'analyse histologique est donc une suite d'étapes complexes qui doivent s'enchaîner avec rigueur et précision. La durée moyenne entre l'arrivée du prélèvement et la préparation de la lame est de 2 à 3 jours. Cette durée est variable suivant la taille des prélèvements (plus les prélèvements sont gros, plus la fixation est longue), la nature de ces prélèvements (l'os nécessite une décalcification préalable avant la recoupe), la mise en place de colorations spéciales (plusieurs jours sont parfois requis) et l'urgence de certains diagnostics qui peuvent nécessiter un raccourcissement des différentes étapes.

L'étape de description macroscopique et de recoupe est en revanche constante et réalisée avec la même méthodologie quelles que soient les circonstances. C'est une étape charnière dont découle le bon déroulement de l'analyse microscopique. Si elle est mal réalisée, si la coupe ne passe pas au bon endroit ou qu'elle n'est pas assez représentative, elle peut entraîner des erreurs de diagnostic.

Pour mener à bien cette étape, plusieurs éléments sont nécessaires. D'une part, toutes les opérations effectuées en amont doivent être rigoureusement réalisées : méthode de prélèvement, pertinence du prélèvement, fixation adéquate avec le volume nécessaire, identification précise, commémoratifs et informations suffisantes concernant le statut de l'animal. D'autre part, le pathologiste doit faire appel non seulement à son sens clinique et effectuer la corrélation entre les symptômes et les lésions décrits lors de la macroscopie, mais également à des connaissances anatomiques précises afin de réaliser les meilleures coupes.

De plus, la recoupe s'inscrit dans la démarche de l'assurance qualité en anatomie pathologique et la volonté de standardiser cette étape en découle. Le but de la deuxième partie est donc de mettre en place un protocole codifié, utilisable à l'ENVA, simple et évolutif, qui permettra de standardiser l'échantillonnage des prélèvements.

*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

**DEUXIEME PARTIE : MISE EN PLACE D'UN  
PROTOCOLE DE RECOUPE STANDARDISE ET  
CODIFIE**



## I) Objectifs et intérêts

Le principe du travail est d'élaborer un protocole **détaillé, précis, et simple à utiliser**, reposant sur une **codification facile à associer au diagnostic** et facile à consulter par les pathologistes.

Il doit être également **évolutif** pour pouvoir être complété si nécessaire et pour pouvoir s'adapter à d'éventuels changements. On doit donc pouvoir y apporter des modifications de manière assez aisée.

Les objectifs de cette standardisation sont les suivants :

- Pouvoir regrouper les principales informations cliniques et macroscopiques nécessaires,
- Homogénéiser les fiches techniques de recoupe,
- Permettre un contrôle qualité,
- Faciliter la rédaction des comptes rendus histologiques,
- Faciliter l'échange et la collaboration entre cliniciens et pathologistes,
- Faciliter l'exploitation des données.



## **II) La recoupe à l'ENVA au démarrage de ce travail**

Notre travail a été effectué au 2<sup>ème</sup> semestre de l'année 2008. A l'ENVA, aucun système de codage de la recoupe n'était mis en place. Les données sont écrites manuellement sur les feuilles de recoupe.

Les logiciels informatiques commercialisés pour la macroscopie ne sont pas utilisés, notamment pour des raisons matérielles et financières et du fait d'un manque d'adaptation à la pathologie animale.

Cette partie a pour objectif de rappeler le déroulement de la recoupe et la méthodologie en place à l'ENVA au démarrage de notre travail, afin de pouvoir décrire précisément par la suite les modalités de mise en place du système de codification et ses intérêts.

### **1- Méthodologie de la recoupe**

La recoupe est réalisée à l'ENVA par un pathologiste. Il est aidé par une technicienne qui identifie les cassettes et remplit la feuille de recoupe.

L'identification et la conformité du prélèvement sont vérifiées.

Les cassettes sont ensuite préparées. Sur la face de chacune d'elles est noté au marqueur un **numéro d'ordre séquentiel** associé à une **clé** aléatoire de deux chiffres.

*Par exemple* : 08-0748-48= année 2008, n° d'ordre : 0748, clé : 48

Sur le côté gauche, est noté un code comprenant une lettre et un numéro. La lettre correspond à l'identification du flacon, le numéro à celle de la cassette.

*Par exemple* : A1 = flacon A, 1<sup>ère</sup> cassette

Enfin dans un cas particulier, qui est l'analyse du tissu osseux pour lequel une décalcification préalable est indiquée, la date de cette opération est notée sur le côté droit de la cassette.

Une fois les cassettes préparées, la recoupe se déroule comme décrit dans la première partie.

### **2- Documents de la recoupe**

Le « petit guide de la recoupe » est un document interne au service d'anatomopathologie qui regroupe l'essentiel des bonnes pratiques de la recoupe. Il permet de donner les grandes lignes de cette étape, les principales instructions, et les informations sur certains protocoles particuliers. Toutes les étapes à suivre y sont indiquées ainsi que les recommandations d'hygiène et de sécurité. C'est la référence utilisée au laboratoire.

### **3- Compte rendu de la recoupe**

Dans un souci de traçabilité, une feuille dite « de recoupe » est rédigée. L'ancien modèle utilisé est présenté en annexe 1.

Sur cette feuille doivent être inscrits, le nombre ainsi que la nature des prélèvements reçus par flacon et s'ils subissent un encrage. La **conformité aux commémoratifs** transmis par le clinicien doit être vérifiée.

Une grande plage blanche est ensuite réservée à la description macroscopique. Les dimensions, l'orientation ainsi que l'aspect des lésions sont des informations qui y sont reportées. Tout ce qui peut être utile au pathologiste doit être indiqué et un schéma explicatif peut éventuellement être ajouté. De plus, toujours dans cet espace, l'identification des cassettes réalisées à partir d'un même prélèvement doit être indiquée.

*Par exemple* : prélèvement 1 : cassette A1, A2

Le nombre total de cassettes doit être reporté ainsi que la présence ou l'absence de réserve humide (tissu restant après recoupe).

Quand il n'y a pas de réserve, un « protocole biopsie » est mis en place. Ce dernier consiste à faire 5 lames dont deux, la première et la dernière sont colorées d'emblée avec une coloration HES (Hémalun Eosine Safran), les coupes restantes permettant d'effectuer rapidement des colorations complémentaires sans que le bloc soit épuisé. La réalisation de ce protocole doit également figurer sur le compte rendu de recoupe.

En revanche sur l'ancien modèle de feuille de recoupe, plusieurs informations sont déficientes. L'encrage des marges par exemple est une case globale mais on ne sait pas quel prélèvement est concerné. De même pour la réserve, on ne sait pas de quel prélèvement il s'agit. Enfin la recoupe en elle-même n'est pas toujours expliquée et il y a parfois un manque d'information à ce sujet.

### **III) Données actuelles dans d'autres laboratoires**

#### **1- Elaboration d'un questionnaire**

Un questionnaire a été élaboré afin de connaître les différentes pratiques de recoupe et les éventuels protocoles standardisés existants. Ce questionnaire figure en annexe 2.

Il permet de savoir si le laboratoire possède ou pas un protocole standard pour la recoupe et si oui ce qu'il prend en compte (taille et nombre de prélèvements, type, origine, orientation, etc...). Il permet aussi de connaître certaines pratiques comme l'encrage des marges.

Les questionnaires ont été envoyés à neuf laboratoires privés d'anatomie pathologique vétérinaire dans toutes la France, ainsi que dans les trois autres écoles vétérinaires.

#### **2- Résultats**

Sur toutes les réponses obtenues, qui sont au nombre de dix, seul un laboratoire possède un système de codification pour la recoupe. Ce protocole est, bien évidemment, interne au laboratoire. Il tient compte du nombre de prélèvements reçus dans le flacon, de la taille et du type de prélèvement, de son origine, de la nature de la lésion rencontrée, de son orientation et enfin de l'examen des marges d'exérèse.

En revanche, aucun laboratoire autre que celui de l'ENVA n'effectue d'encrage des marges.

Selon l'avis de tous, un système de codification permet d'obtenir une meilleure traçabilité, une meilleure collaboration entre pathologistes et avec les cliniciens ainsi qu'une meilleure standardisation des comptes rendus.

Notons que cette étude est un peu restreinte du fait du nombre réduit de laboratoires spécialisés en pathologie vétérinaire. De plus, deux laboratoires n'ont pas envoyé de réponse.

Cependant elle reflète une pratique de l'anatomie pathologique animale beaucoup moins évoluée, d'un point de vue de la standardisation, que la pathologie humaine. Il y a donc beaucoup à faire dans ce domaine.

*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

## **IV) Mise en place du codage**

### **1- Etude préalablement effectuée**

Cette démarche de codification s'inscrit dans le prolongement d'une thèse ayant pour but de standardiser les prélèvements chirurgicaux envoyés en histologie et d'améliorer la fiche de demande d'analyse. Cette thèse est actuellement en cours mais le produit de ce travail est déjà utilisé à l'école dans les différents services.

Le protocole codifié tient donc compte des données de ce travail afin de permettre une suite logique ainsi que la réutilisation des termes employés.

### **2- Problématiques**

#### **2.1-Assurance qualité**

L'amélioration de la **traçabilité de la technique de l'échantillonnage**, la **standardisation** et la **qualité du compte rendu** font partie de **l'assurance qualité**. L'élaboration d'un protocole standardisé s'inscrit donc dans cette démarche. La traçabilité et la bonne coopération entre cliniciens et pathologistes permettent en effet d'améliorer la qualité du service médical rendu et l'amélioration de la prise en charge ultérieure de l'animal. La qualité des temps techniques que constituent la macroscopie et l'échantillonnage des prélèvements est une condition nécessaire à la réalisation du compte rendu histologique. La codification permet ainsi un suivi des données macroscopiques et des manipulations effectuées, ainsi qu'un suivi de la technique de recoupe. Tout cela contribue à améliorer la **qualité du compte rendu d'analyse**.

Selon les recommandations des bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologiques, l'étape de macroscopie doit répondre à plusieurs exigences. L'ensemble des protocoles doit être rassemblé dans un document. Celui-ci doit contenir les instructions de base pour la réalisation des échantillons, le nombre d'échantillons à réaliser habituellement pour une pathologie donnée, les informations requises pour la rédaction des comptes rendus. Les blocs doivent être identifiés, numérotés. Il est aussi recommandé de conserver les résidus macroscopiques. Le but de mon travail est de rassembler un maximum de données à prendre en compte sous la forme d'un code.

Il en découle que le protocole doit, bien évidemment, être évolutif et doit pouvoir s'adapter aux progrès et aux modifications techniques, ainsi qu'aux nouvelles exigences. Il pourra alors faire partie intégrante des règles de bonnes pratiques et être appliqué à l'ENVA.

## 2.2- Forme

Le protocole doit être un document écrit. En effet, l'informatisation complexifie fortement les choses. Dans le souci de s'adapter aux conditions actuelles du laboratoire de l'ENVA, le document consistera en une double page imprimable, qui sera affichée dans le poste de recoupe et à proximité des postes de lecture microscopiques.

Pour une plus grande simplicité d'utilisation, le protocole sera essentiellement basé sur des tableaux format excel, ainsi que des schémas, le tout dans un fichier word. Il est ainsi facile à modifier.

## 2.3-Difficultés liées au codage

### Identification :

Le problème d'identification des prélèvements réside dans le fait qu'un flacon peut contenir plusieurs prélèvements différents. Chaque prélèvement peut donner lieu à **une ou plusieurs cassettes** selon sa taille mais il peut y avoir également plusieurs prélèvements dans une cassette. Il faut donc **identifier précisément** chaque prélèvement et chaque cassette, en accord avec les commémoratifs, pour éviter toute confusion.

### Exhaustivité :

Pour faire un protocole le plus complet possible, il faut qu'il soit compatible avec un maximum de prélèvements. Tous les types de prélèvements doivent donc être listés. Ils sont répertoriés dans des registres d'histopathologie classés par année à l'ENVA. La consultation de ces registres permet de dresser une liste de l'ensemble des cas de figures rencontrés, mais le protocole ne peut, bien évidemment, pas être utilisé dans 100% des cas.

Il doit tenir compte de **toutes les données macroscopiques**, de la **technique de recoupe** et de l'**orientation**, et doit surtout être **applicable à une très grande majorité de cas**. Une alternative doit être prévue pour les cas ne rentrant pas dans la codification.

### Orientation :

Les prélèvements reçus au laboratoire ne sont pas toujours identifiés et orientés, et lorsqu'ils le sont, c'est de manière très variée. Des fils de suture de diverses couleurs peuvent être utilisés, ainsi que des aiguilles de toute taille et couleur. Parfois une seule marge est indiquée, parfois plusieurs. Dans certains cas, il n'y a aucun repère sur le prélèvement mais celui-ci est orienté sur la feuille de commémoratifs par quelques notes écrites. Suivant l'existence d'un marquage et sa localisation, la recoupe sera différente. Le protocole doit tenir compte de cette orientation et doit prévoir tous les cas de figure.

### Ordre des opérations :

**L'ordre des coupes** réalisées doit figurer dans le code. Il faut savoir quelle coupe a été placée dans quelle cassette. Cela dépend de la taille et de l'orientation du prélèvement. Il convient donc d'établir un ordre des opérations à effectuer qui soit universel.

### Simplicité :

Un descriptif trop complexe risquant d'être inapplicable en première intention, il a été décidé de prévoir un système simple qui s'applique à un infini de cas. Il reste possible de sortir de ce protocole et d'enregistrer la recoupe de façon libre, comme c'était le cas auparavant.

## **3-Présentation du protocole**

### 3.1- Feuille de recoupe

La nouvelle feuille de recoupe, présentée en annexe 3, se présente globalement comme l'ancienne et conserve l'ordre des tableaux à remplir. A la place de la grande plage blanche réservée à la description macroscopique, a été inséré un tableau dans lequel les informations à remplir sont sous forme de code.

Une dizaine de lignes a été prévue ainsi qu'un espace réservé à des annotations particulières ou à un schéma s'il est nécessaire.

La case « encrage » a été insérée dans le tableau. Cette modification permet de savoir précisément quel prélèvement a été encre, ce qui n'était pas le cas avant, où la case était globale pour tout le flacon. De plus, une colonne « taille » a été ajoutée. **Celle-ci n'est pas codée.** Il est effectivement très compliqué de coder arbitrairement les dimensions d'un prélèvement. De plus cela serait une perte d'information, et la taille précise d'une pièce est un renseignement important.

Enfin la **case de réserve a été supprimée.** Comme il le sera expliqué ci-dessous dans le détail du codage, cette case n'est plus nécessaire.

Une feuille de recoupe est attribuée par flacon. Cette feuille est placée dans le dossier.

La personne en charge de la recoupe peut remplir la fiche assez aisément et rapidement. A l'ENVA, une technicienne assiste cette personne et remplit la fiche de recoupe. Avec ce nouveau protocole il peut être envisagé que le pathologiste en charge de la recoupe soit seul.

### 3.2- Feuille de codage (annexe 4)

#### *3.2.1- Identification du prélèvement*

Le prélèvement est identifié par la lettre **P** suivie d'un numéro d'ordre au sein du flacon. S'il y a plusieurs prélèvements par flacon, ils sont classés par **ordre croissant de taille** car il est plus sûr, pour éviter de perdre les petits échantillons de commencer par eux. Dans le cas de plusieurs fragments de même taille, comme par exemple des biopsies fines, et particulièrement dans le cas où ils sont tous **inclus dans la même cassette**, on ne fait qu'une seule ligne pour tous.

*Exemple :* un prélèvement : P1

trois prélèvements de même taille dans la même cassette : P1-3

### 3.2.2- Type de prélèvement

Le type de prélèvement correspond à la manière dont a été réalisé le prélèvement. Chaque type est codé par une lettre majuscule.

Par exemple, une biopsie à l'aiguille fine sera notée **A**, une biopsie à la pince **P**, etc...

### 3.2.3- Repère

Le repère est en général une aiguille ou un fil de suture qui est localisé sur une des marges du prélèvement et qui permet de l'orienter. Ce repère est codé par une lettre majuscule indiquant sa nature (A pour aiguille, F pour fil de suture), associée à une lettre minuscule codant la couleur. Dans le cas de plusieurs repères, les codes sont ajoutés les uns à côté des autres.

### 3.2.4- Organe

Le tableau qui figure sur la feuille de codage n'est pas exhaustif. Il prend en compte les prélèvements les plus fréquemment rencontrés, mais le code a été conçu pour que des lignes supplémentaires puissent être rajoutées si besoin.

Le principe est le même, une lettre majuscule indique le nom de l'appareil, et lors de subdivisions, les différentes parties sont indiquées par une lettre minuscule.

### 3.2.5- Recoupe

Le codage comprend trois parties qui dépendent de la taille du prélèvement.

#### Lésions inférieures à 5mm :

Le principe du codage est de noter **le nombre de fragments mis en cassette sur le nombre de fragments totaux**. Dans le cas de très petits prélèvements, trois cas de figure sont possibles.

- Prélèvement **inclus en totalité** : *code 1/1*
- Prélèvement recoupé en 2, **inclusion d'une moitié** : *code 1 /2*
- Prélèvement recoupé en 2, **inclusion des 2 moitiés** : *code 2/2*

De cette manière, la case indiquant la présence ou l'absence de réserve a pu être supprimée, le code suffit en effet à donner cette information.

#### Lésions comprises entre 5 et 20mm :

Le principe du codage est toujours le même : nombre de coupes réalisées sur le nombre de fragments totaux.

Dans le cas d'une lésion **non orientée**, le pathologiste réalise différentes coupes selon l'aspect macroscopique. Tout d'abord il peut réaliser une tranche centrale unique.

Celle-ci est communément réalisée dans le sens du **plus grand axe** afin d'avoir le plus de matériel possible. Si elle est trop grande pour tenir dans une cassette elle peut éventuellement être recoupée en deux. A cette tranche, peuvent être rajoutées une ou deux tranches

orthogonales à la première. Un ordre arbitraire a été choisi. La tranche centrale est toujours la première mise en cassette, les autres suivent comme indiquées sur le schéma.

Dans le cas d'un prélèvement **orienté par un repère**, la première tranche passe par ce repère et les éventuelles autres tranches réalisées sont orthogonales à la première, et toujours dans le même ordre.

Dans tous les cas, il y a une ligne **de code par prélèvement**, et **autant de cassettes que de fragments**.

#### Lésions supérieures à 20mm ou entre 5 et 20mm avec plus d'un marqueur :

Le principe du codage est ici complètement différent car il doit faire apparaître **l'orientation** de manière plus précise. C'est pourquoi il sera également appliqué pour des lésions de taille moyenne mais avec plusieurs repères.

Les schémas de la feuille de codage sont présentés vue de dessus. Très souvent, les chirurgiens orientent les pièces par des fils de suture ou des aiguilles aux extrémités distale ou proximale ou sur les différentes faces. Une lettre majuscule correspond à une orientation : la lettre **A** pour la face antérieure ou crâniale, la lettre **P** pour la face postérieure ou caudale, la lettre **G** ou **V** pour le côté gauche ou la face ventrale, la lettre **D** pour la face dorsale ou la droite et enfin la lettre **C** pour les coupes réalisées au cœur de la lésion. Mise à part la dernière lettre (C), toutes les autres correspondent à des coupes réalisées au niveau de la **jonction entre le tissu sain et la lésion** et passent par les repères. Les numéros sur les schémas indiquent l'ordre dans lequel elles sont faites et les cassettes seront mises dans le même ordre sur la feuille de recoupe.

Un autre code a été ajouté concernant les lésions avec de la peau. Dans ce cas les notions de face superficielle, codée par la lettre **S**, et de face profonde, codée par les lettres **Pr**, apparaissent. L'intérêt réside notamment dans le pronostic des tumeurs ; le plan profond est alors très souvent analysé pour juger de l'extension de la masse.

Dans le cas de gros prélèvements **non orientés**, comme très souvent des fragments d'exérèse de masse mammaire, le principe du codage est conservé. Les lettres **S** et **Pr** persistent car l'orientation d'une lésion avec peau est très aisée. De même, la limite entre les plans superficiel et profond d'une tumeur sous-cutanée est possible en repérant une aponévrose. La lettre **C** persiste pour indiquer les coupes réalisées au cœur de la lésion. En revanche, à la place des lettres indiquant l'orientation précise des coupes des marges, on notera la lettre **M** suivie du nombre de coupes.

Dans tous les cas, il y aura **une ligne de codage recoupe par cassette** afin d'identifier précisément quelle coupe est dans quelle cassette.

#### *3.2.6- Identification des cassettes*

Les cassettes sont identifiées selon la lettre du flacon. A cette lettre, sont rajoutés le ou les numéros des cassettes. Ce numéro est reporté sur la fiche de demande d'analyse.

## **4- Précisions concernant la description macroscopique des prélèvements**

La description macroscopique n'a pas été standardisée. En effet, certaines données ne peuvent pas faire l'objet d'une codification. Elles ont donc été conservées sous la forme de case à remplir.

Ainsi, les informations concernant la vérification de la conformité avec la description de la fiche de demande d'analyse et la taille doivent être renseignées de manière précise.

Par ailleurs, un espace libre a été conservé. Il permet de faire des schémas pour les cas qui ne peuvent pas être codifiés ou d'apporter des informations complémentaires si les indications fournies par le clinicien ne suffisent pas.

Ces données sont donc purement qualitatives et descriptives.

## **5- Evaluation du codage**

### **5.1- Evaluation à court terme**

Le codage a été évalué sur une semaine avec l'aide du pathologiste en charge de la recoupe. Nous avons, pour cela, réalisé les comptes rendus de recoupe en double : le pathologiste remplissait l'ancienne feuille de recoupe et je remplissais la nouvelle qui était également incluse dans le dossier.

Nous avons ainsi évalué les difficultés rencontrées et modifié le codage dont la version définitive est celle présentée dans ce document.

### **5.2- Evaluation à long terme**

L'évaluation à long terme se fait sur plusieurs mois. Le but est de faire un récapitulatif des cas rencontrés sur une période donnée. C'est également le moyen de faire le point sur les difficultés rencontrées ainsi que les cas ne rentrant pas dans le codage.

Pour ce faire, des annotations en rouge seront notées sur la feuille par les personnes en charge de la recoupe et seront rassemblées à la fin de la période de test pour faire un bilan.

Quelques modifications seront alors susceptibles d'être apportées au document.

# CONCLUSION

La phase de recoupe est une étape clé dans le processus d'analyse histologique. Si elle est, en pathologie humaine, extrêmement règlementée et codifiée, ce n'est pas encore le cas en pathologie vétérinaire.

Ce travail a permis de réaliser un protocole efficace et facilement utilisable, dans l'objectif de standardisation de l'échantillonnage. Ce protocole est actuellement utilisé et facilite nettement le travail des pathologistes.

Plusieurs points ont été soulevés et méritent d'être mentionnés.

D'une part, il doit y avoir une prise de conscience de la part des chirurgiens et des cliniciens de l'importance de la qualité des prélèvements et que, de cette qualité, découle un bon diagnostic.

D'autre part, l'étape de recoupe devrait être systématiquement réalisée par un pathologiste car elle doit répondre à des exigences telles que la rigueur des connaissances anatomiques, une bonne connaissance des lésions et un esprit critique et analytique pour s'adapter à chaque prélèvement, qui constitue souvent un cas particulier.

Enfin la volonté de qualité, de traçabilité, de communication au sein d'une structure d'anatomie pathologique sont des priorités et permettent d'améliorer significativement la précision et la qualité des résultats et des services attendus.



# BIBLIOGRAPHIE

- (1) **ADICAP**, *Thésaurus de la codification ADICAP*, [en-ligne]. Editions 2003, version 5-2003.pdf, mise à jour dec 2003, [<http://www.adicap.asso.fr>], (consulté le 3 octobre 2008).
- (2) **AFAQAP**. Prise en charge d'un prélèvement tissulaire. In : *Démarche de qualité en ACP*, [en-ligne], mars 2005, [[www.afaqap.org](http://www.afaqap.org)], (consulté le 3 octobre 2008).
- (3) **AFAQAP**. Recommandations de bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologiques. *Ann Pathol*, 1998, **18**, 227-256.
- (4) **AFECAP**. *Polycopié de pathologie générale des études médicales*. [en-ligne], mai 2005, actualisation sept 2005 [<http://meidacte.timone.univ-mrs.fr/webcours/umvf/anapath/corpus.htm>], (consulté le 17 septembre 2008).
- (5) **BANCROFT J.D, COOK H.C**, *Manual of histological techniques and their diagnostic application*. New-York, Churchill Livingstone, 1994, 4-11.
- (6) **BANKS W.J**, *Applied veterinary histology*, 3<sup>rd</sup> edition. New-York, Mosby Year Book, 1993, 12-20.
- (7) **BERGER F**. Objectifs, matériel et méthode en ACP. In : *Anatomie et cytologie pathologiques*, [en-ligne], sept 2007, Faculté de médecine Lyon sud [[www.chu.lyon.fr/chls\\_soins\\_laboratoire\\_anatomie\\_cytologie.htm](http://www.chu.lyon.fr/chls_soins_laboratoire_anatomie_cytologie.htm)], (consulté le 18 septembre 2008).
- (8) **BONNET C**. *De la variabilité de la fixation et des fixateurs*. Service d'anatomie pathologique, CHU de Nancy-Brabois, mai 2007.
- (9) **CHATEAU M.C**, Compte rendu standardisé des prélèvements des tissus mous, [en-ligne], dec 2004, Montpellier [<http://sirca.canceraquitaine.org>], (consulté le 22 septembre 2008).
- (10) **DELLMANN H., BROWN E.M**, *Textbook of veterinary histology*, 3<sup>rd</sup> ed, Philadelphia, Lea & Febiger, 1987, 416-433.
- (11) **DELLMANN H., EURELL J.**, *Veterinary histology*, 5<sup>th</sup> ed, Baltimore, Williams and Wilkins, 1998, 333-335.
- (12) **DUCUP DE SAINT PAUL C.**, *Anatomie et histologie de l'œil du chien, constitution d'un document pour l'enseignement sur support multimédia*. Thèse de Med Vet. ENVA, 2006, 23p.
- (13) **GABE M.**, *Techniques histologiques*, Paris, Masson et Cie, 1968, 855-857.
- (14) **HENIN D.**, Anatomie et cytologie pathologiques : buts, techniques et résultats. In : *Site de l'UMVF*, [en-ligne], Faculté de médecine paris 7, 2006, [<http://anapath-paris7.aphp.fr>], (consulté le 4 novembre 2008).
- (15) **KUHNEL W.**, *Atlas de poche d'histologie*, Paris, Médecine science Flammarion, 428-444.
- (16) **MAWHINNEY WH et al**. Control of rapid nitric acid decalcification. *J Clin Pathol*, 1984, **37** : 1409-1413.
- (17) **MICHIELS J.F**, *Classification des tumeurs malignes*, Polycopié d'anatomie pathologique, Faculté de médecine de Nice, Unité d'anatomie pathologique, 2000, 150p.

- (18) **NAKHLEH R.E et al.** Necessity of clinical information in surgical pathology. *Arc pathol Lab Med*, **123**, 1999, 615-619.
- (19) **OUABDELKADER C., CARRON F.**, *Qualité et traçabilité de la macroscopie; l'informatisation, un outil de gestion des protocoles*. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Groupe hospitalier Pitié salpêtrière-Assistance Publique- Hôpitaux de Paris, 2004.
- (20) **STEVENS A., LOWE J.**, *Histology*, Paris, Pradel, 1992, 193-205.
- (21) **ROSS M.H, ROMRELL L.J, KAYE G.I**, *Histology: a text and atlas*. Baltimore: Williams et Wilkins, 1995, 823p.
- (22) **VACHER-LAVENU M.C.** Buts et méthodes de l'anatomie pathologique. *In : Cours d'anatomie pathologique*, [en-ligne], 2004, Cours de le Faculté de médecine paris 5 [www.urlm-idf.org], (consulté le 6 octobre 2008).
- (23) **VERDENIUS HHW and ALMA L.** A quantitative study of decalcification methods in histology. *J. Clin. Pathol*, 1958, **11** (3), 229-236.
- (24) **WEISS L., GREEP R.O**, *Histology*, New-york, Mc Graw\_Hill. Book company, 1977, 1158-1160

## ANNEXE 1 : ANCIENNE FEUILLE DE RECOUPE

### RECOUPE : FLACON A

Nombre de prélèvements reçus dans le flacon	Nature des prélèvements reçus	Encrage des marges (+ -)	Remarques sur la conformité aux commémoratifs	
Aspect macroscopique			Dimensions des lésions	
Nombre de cassettes à inclure	Décalcification en cours (+ -)*	Fin (+ -)	Réserves (+ -)	Protocole biopsies ** (+ -)

\* : Faire une fiche séparée pour le suivi    \*\* : 5 lames avec coloration HES des lames 1 et 5

### INCLUSION ET ENROBAGE

Date	Nombre de blocs	Conformité (+ -) Commentaires	Signature



## **ANNEXE 2 : QUESTIONNAIRE « RECOUPE »**

Enquête effectuée par Mlle Valérie Chevet dans le cadre de sa thèse de doctorat vétérinaire.  
L'exploitation des formulaires se fera en respectant l'anonymat des participants.  
Nous vous remercions pour votre aide.

Dénomination du laboratoire \_\_\_\_\_

Adresse : \_\_\_\_\_

Nom de la personne qui renseigne le formulaire : \_\_\_\_\_

Fonction : \_\_\_\_\_

Téléphone : \_\_\_\_\_ Adresse électronique : \_\_\_\_\_

1) Avez-vous un protocole standardisé (écrit) pour la macroscopie et l'échantillonnage des prélèvements (« recoupe » ?)

Oui  Non

2) Si oui, tient-il compte de :

La taille du prélèvement ? Oui  Non

Le nombre de prélèvements ? Oui  Non

Du type de prélèvement (biopsie incisionnelle, pièce opératoire...) ? Oui  Non

De l'origine du prélèvement (organe) ? Oui  Non

De la nature de la lésion rencontrée (proliférative, non proliférative...) ? Oui  Non

De l'orientation du prélèvement ? Oui  Non

De l'examen des marges des pièces d'exérèse ? Oui  Non

3) Selon vous un système codifié pour la macroscopie permet-il :

Une meilleure traçabilité ? Oui  Non

Une meilleure collaboration avec les cliniciens ? Oui  Non

Une meilleure standardisation des comptes rendus histologiques ? Oui  Non





*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

## ANNEXE 4 : CODE RECOUPE

### Prélèvements :

Identifier chaque prélèvement par **ordre croissant de taille**, à l'aide d'un chiffre puis reporter la lettre **P** associée au chiffre dans la case correspondante. *Exemple* : P1

### Type de prélèvement :

Type de prélèvement	Code
Biopsie à l'aiguille fine	<b>A</b>
Biopsie au true-cut	<b>C</b>
Biopsie à la pince	<b>P</b>
Biopsie au scalpel	<b>S</b>

Type de prélèvement	Code
Biopsie au trocart	<b>T</b>
Pièce d'exérèse entière	<b>E</b>
Fragment de pièce d'exérèse	<b>F</b>
Nécropsie	<b>N</b>

### Repère :

Type de marqueur	Couleur	Code
Aiguille	bleue	<b>Ab</b>
	jaune	<b>Aj</b>
	rose	<b>Ar</b>
	orange	<b>Ao</b>

Type de marqueur	Couleur	Code
Fil de suture	Noir	<b>Fn</b>
	Violet	<b>Fv</b>

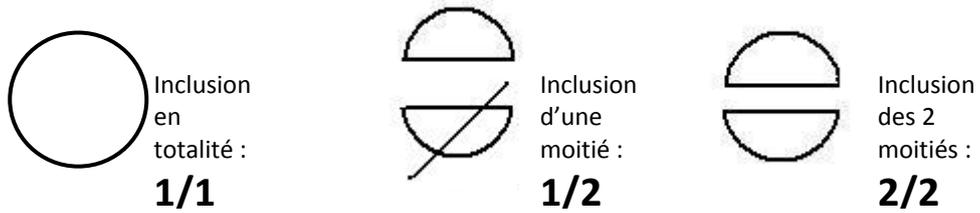
### Organe :

Origine du prélèvement	Code
Peau + Tissu mammaire	<b>P</b>
Lésion sous cutanée sans peau	<b>S</b>
Appareil respiratoire	<b>R</b>
Glandes endocrines	<b>E</b>
- thyroïde	<b>Et</b>
- surrénales	<b>Es</b>
Système nerveux	<b>N</b>
Glandes annexes du tube digestif	<b>A</b>
- foie	<b>Af</b>
- pancreas	<b>Ap</b>
- vésicule biliaire	<b>Av</b>
Organes lymphoïdes	<b>O</b>
- rate	<b>Or</b>
- ganglion	<b>Og</b>

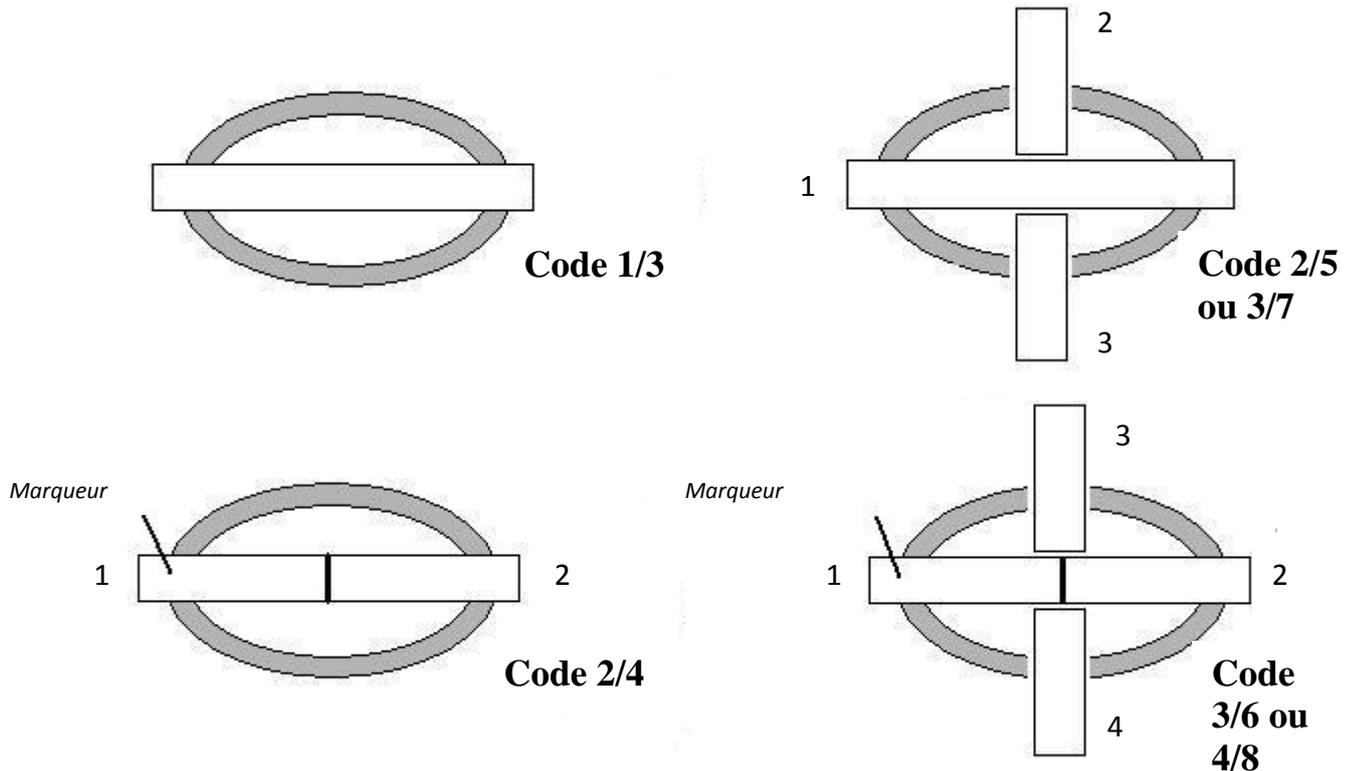
Origine du prélèvement	Code
Tube digestif	<b>D</b>
- estomac	<b>De</b>
- duodénum	<b>Dd</b>
- jéjunum	<b>Dj</b>
- iléon	<b>Di</b>
- caecum	<b>Dc</b>
- gros intestin	<b>Dg</b>
- rectum	<b>Dr</b>
Appareil circulatoire	<b>C</b>
Appareil urinaire	<b>U</b>
- rein	<b>Ur</b>
- vessie	<b>Uv</b>
Inconnu	<b>Z</b>
Autre	<b>X</b>

Code recoupe :

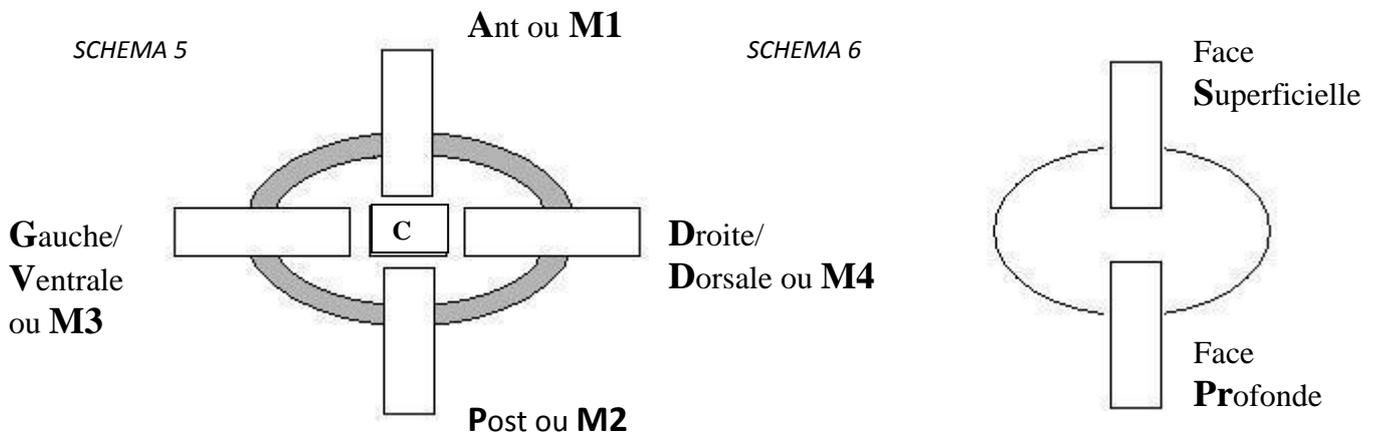
Lésions < 5mm (code A, C, P, S et T) : une seule cassette par prélèvement



Petite exérèse : 1 code par prélèvement – autant de cassettes que de fragments recoupés



Exérèse large ou petite exérèse avec plus d'un marqueur: 1 code par cassette



N° de Cassette :

Reporter dans la case prévue la lettre identifiant le flacon suivi du chiffre correspondant au numéro de la ou des cassettes réalisées pour un prélèvement donné. *Exemple : A1*

# INDEX DES ILLUSTRATIONS ET DES PHOTOGRAPHIES

## ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Principe de l'automate à inclusion

Figure 2 : Fonctionnement d'un microtome à rotation manuelle

## PHOTOGRAPHIE

Photo 1 : De gauche à droite, cassette de 0,5cm, 1cm, 0,5cm avec grille

