



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2021

Thèse N° 137

Elaboration d'affiches synthétiques et guide de bonne pratique de conditionnement des prélèvements anatomopathologiques mammaires pour le personnel du bloc opératoire.

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 13/07/2021

PAR

Mr **Redouane MOUFLIH**

Né Le 10 Aout 1995 à Marrakech

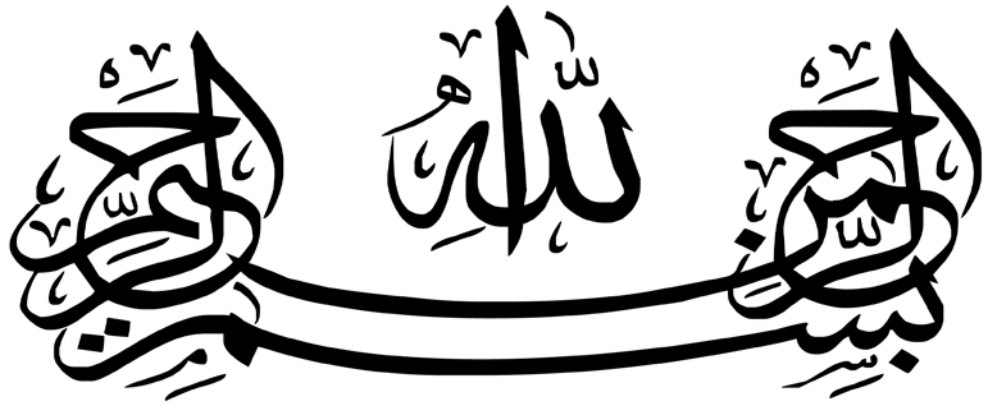
POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Prélèvements mammaires – Conditionnement – Guide de bonne pratique –
Affiches synthétiques

JURY

M.	H. ASMOUKI	PRESIDENT
	Professeur de Gynécologie-Obstétrique	
M ^{me} .	H. RAIS	} RAPPORTEURS
	Professeur d'Anatomie Pathologique	
M.	A. BELBACHIR	} Juges
	Professeur agrégé d'Anatomie Pathologique	
M ^{me} .	B. FAKHIR	} Juges
	Professeur de Gynécologie-Obstétrique	
M ^{me} .	F. Z. HAZMIRI	} Juges
	Professeur agrégée d'Histologie -embryologie Cytogénétique	



"اللَّهُمَّ إِنِّي أَسْتَخِيرُكَ بِعِلْمِكَ، وَأَسْتَقْدِرُكَ
بِقُدْرَتِكَ، وَأَسْأَلُكَ مِنْ فَضْلِكَ الْعَظِيمِ فَإِنَّكَ
تَقْدِرُ وَلَا أَقْدِرُ، وَتَعْلَمُ وَلَا أَعْلَمُ، وَأَنْتَ عَلَامُ
الْغُيُوبِ"



Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948

*LISTE DES
PROFESSEURS*

UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUY YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADALI Imane	Psychiatrie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
ADMOU Brahim	Immunologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMAL Said	Dermatologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KISSANI Najib	Neurologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino- laryngologie	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie - Virologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LAOUAD Inass	Néphrologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale

BASRAOUI Dounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELKHOUE Ahlam	Rhumatologie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Néonatalogie)
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie – générale	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie – reanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie – orthopédie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie – chimie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- vasculaire	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOURRAHOUE Aicha	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anesthésie- reanimation
BOURROUS Monir	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QACIF Hassan	Médecine interne
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- reanimation
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	ROCHDI Youssef	Oto-rhino laryngologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- reanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Urologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SORAA Nabila	Microbiologie – Virologie

EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie–obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato– orthopédie	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie– clinique
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	YOUNOUS Said	Anesthésie–réanimation
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie – virologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZIADI Amra	Anesthésie – réanimation
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	ZYANI Mohammed	Médecine interne

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie
AIT BATAHAR Salma	Pneumo– phtisiologie	FAKHRI Anass	Histologie– embryologie cytogénétique
ALJ Soumaya	Radiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	KADDOURI Said	Médecine interne
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
BELBACHIR Anass	Anatomie– pathologique	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MARGAD Omar	Traumatologie – orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie –Réanimation	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto–rhino–laryngologie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo– phtisiologie	NADER Youssef	Traumatologie – orthopédie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	SAJIAI Hafsa	Pneumo– phtisiologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
DAROUASSI Youssef	Oto–rhino – Laryngologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie – Réanimation

EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SERGHINI Issam	Anesthésie – Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio– vasculaire	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie – Réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFTTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	ELOUARDI Youssef	Anesthésie reanimation
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio–vasculaire	EL–QADIRY Rabi	Pédiatrie
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio– organique
AIT ERRAMI Adil	Gastro–entérologie	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
AKKA Rachid	Gastro – entérologie	HAIHOUJI Farouk	Neurochirurgie
ALAOUI Hassan	Anesthésie – Réanimation	HAIJI Fouad	Urologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	Hammoune Nabil	Radiologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JALLAL Hamid	Cardiologie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	JANAH Hicham	Pneumo– phtisiologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie Clinique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LAHMINI Widad	Pédiatrie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	LALYA Issam	Radiothérapie
BELLASRI Salah	Radiologie	LAMRANI HANCH Asmae	Microbiologie–virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MAOUJOURD Omar	Néphrologie
BENZALIM Meriam	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie – Virologie
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	NASSIH Houda	Pédiatrie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
CHETTATI Mariam	Néphrologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie

DAMI Abdallah	Médecine Légale	RAGGABI Amine	Neurologie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
DOUIREK Fouzia	Anesthésie- réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie – Réanimation
EL- AKHIRI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie	RHARRASSI Isam	Anatomie-pathologique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio-organique	ROUKHSI Redouane	Radiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SALLAHI Hicham	Traumatologie- orthopédie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL HAMZAOUI Hamza	Anesthésie réanimation	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	WARDA Karima	Microbiologie
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie		

LISTE ARRETEE LE 01/02/2021



DÉDICACES





*LOUANGE A ALLAH TOUT PUISSANT, QUI M'A PERMIS
DE VOIR CE JOUR TANT ATTENDU.*

*A cœur vaillant rien d'impossible
A conscience tranquille tout est accessible
Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre
Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins
Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent
Les études sont avant tout Notre unique et seul atout
Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance
Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal
Espérant des lendemains épiques
Un avenir glorieux et magique
Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,
Nous prions dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance
Et que nous serions enchantés
Par notre travail honoré MC*



Je dédie cette thèse à

A l'âme de mon père Belkacem MOUFLIH,

J'aurai tellement aimé que tu sois présent aujourd'hui, tu seras fier de moi comme tu l'as toujours été, ces quelques mots ne suffiront pas pour décrire le grand homme que tu étais. Mon travail n'est que le fruit de ton dévouement, ton affection et tes conseils précieux, tu resteras à jamais dans mes pensées. Que Dieu ait ton Ame, et que nous trouvions le courage d'avancer sans toi.

A ma très chère mère Zahra HAMAMA, honorable, aimable :

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace n'aurait été assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes chers frères Amine MOUFLIH et Imane MOUFLIH,

les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Vous étiez toujours là dans les moments les plus délicats. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma très chère Afaf Choukhmane,

Ton soutien et ta gentillesse me donnent la force de continuer et d'avancer, tu m'as toujours encouragé à donner le meilleur de moi même, je te dédie donc ce travail et je prie Dieu de te protéger et t'accorder santé et réussite.

A mes chers amis Reda, Nizar, Mehdi, Haitham et Othmane .

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. « A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer »

A Dr Sellami , Dr Boujguenna et Dr El Yadili

Un remerciement spécial à vous pour les efforts immenses que vous avez fournis pour la réalisation de ce travail. Vous étiez toujours disponibles et présents depuis le premier jour de l'élaboration de ce travail. Je vous exprime ma haute considération et mon profond respect.

*A TOUTE L'EQUIPE DU SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE DU
CHU MED VI MARRAKECH :*

*Je suis reconnaissant de l'aide apportée tout au long de ce travail.
Veuillez trouver ici l'expression de mes sentiments les plus distingués*

A mes chers amis et collègues

Merci, pour les bons moments que nous avons passés ensemble. Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments de considération et de reconnaissance envers votre soutien et vos encouragements le long de nos études. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance et de mon respect.

Spéciales dédicaces à Pr Raïs, Pr Asmouki, Pr Fakhir, Pr Hazmiri,

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer

A tous mes enseignants depuis la maternelle jusqu'à la faculté

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

REMERCIEMENTS

A Notre Maître et président Professeur Asmouki

Vous nous avez accordé un grand honneur en acceptant de présider le jury de ce travail. Nous avons bénéficié, au cours de nos études, de votre enseignement clair et précis. Votre gentillesse, vos qualités humaines, votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez trouver ici, cher Maître, le témoignage de ma haute considération, de ma profonde reconnaissance et de mon sincère respect.

A Nos Maître et rapporteur Professeur Raïs et Professeur Belbachir

Nous sommes très touchés par l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous confier ce travail. Vos qualités scientifiques et humaines ainsi que votre modestie nous ont profondément marqué et nous servent d'exemple. Vous nous avez à chaque fois réservée un accueil aimable et bienveillant malgré vos engagements. Veuillez accepter, chers maîtres, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profond respect.

A Notre Maître et Juge de thèse Professeur Hazmíri

C'est pour nous un grand honneur que vous accepter de siéger parmi cet honorable jury. Nous avons toujours admiré vos qualités humaines et professionnelles ainsi que votre modestie qui restent exemplaires. Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance et notre grand respect.

A Notre Maître et Juge de thèse Professeur Fakhír

Nous vous remercions de nous avoir honorés par votre présence. Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance. Veuillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profond respect.

ABRÉVIATIONS

Liste des abréviations

CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
Ki -67	: Cell cyclereLATED nuclear protein
ASCO	: American Society of Clinical Oncology
CAP	: Collège Américain des Pathologistes
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARN	: Acide Ribonucléique
AFAQ	: Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie et Cytologie pathologique
GEFPICS	: Groupe d'Etude des Facteurs Pronostiques Immunohistochimiques dans le cancer du sein
Her 2	: Human epidermal growth factor receptor 2
RE /ER	: Estrogen Receptor/ Récepteur de l'Estrogène
IHC	: Immunohistochimie
FISH	: Fluorescent In Situ Hybridization
PR	: Progesteron Receptor
SEAP	: Société Espagnole d'Anatomie Pathologique
SEOM	: Spanish Society of Medical Oncology



INTRODUCTION	1
MATERIEL ET MÉTHODES	4
I. Type et durée de l'étude	5
II. Population cible	5
III. Modalités de collecte des données	6
IV. Modalités de traitement des données	6
V. Considérations éthiques	6
RESULTATS	7
I. Participation	8
II. Caractéristiques générales du personnel interrogé	8
1. Age	8
2. Sexe	8
3. Titre	9
III. Nature des prélèvements	9
1. Biopsie	9
2. Pièce opératoire	10
3. Eléments d'identification des prélèvements	10
IV. Fixation du prélèvement	11
1. Fixateur	11
2. Le temps nécessaire pour la fixation d'un prélèvement	14
3. Contenants utilisé pour les pièces opératoires	15
4. Paramètres influençant la fixation	16
5. Anomalies liées à une mauvaise fixation	16
V. Transport du prélèvement	18
VI. Connaissances concernant le temps d'ischémie froide	19
DISCUSSION	20
I. Eléments d'identification des prélèvements	21
II. Fixation du prélèvement	25
1. Fixateur	25
III. Le temps nécessaire pour la fixation d'un prélèvement	33
1. Pièce de mastectomie	33
2. Biopsie mammaire	34
IV. Les contenants les plus utilisés	35
1. Sacs en plastiques	35
2. Flacons adaptés	36
V. Paramètres influençant la fixation	38
VI. Les Erreurs de fixation	40
1. Hypofixation	40
2. La fixation prolongée (Hyperfixation)	42
VII. Acheminement du prélèvement	45
1. Personnel	45

2. Délai de transport	46
3. Réception	46
VIII. LE TEMPS D'ISCHEMIE FROIDE	48
CONCLUSION	85
ANNEXES	87
RESUMES	93
BIBLIOGRAPHIE	97



INTRODUCTION



La pathologie mammaire constitue une grande partie des consultations de routine en gynécologie.

Le cancer du sein reste le plus redouté à cause de son caractère agressif qui engage le pronostic vital et sa fréquence qui ne cesse d'augmenter, rien que sur l'année 2020, un total de 2,3 millions de cas ont été confirmés, dépassant le nombre de nouveaux cas de cancer du poumon le cancer du sein représentait 11,7 % de tous les nouveaux cas de cancer dans le monde. D'où la nécessité d'améliorer les programmes de dépistage et diagnostic précoce du cancer du sein.

Dans ce sens l'étude anatomo-pathologie des prélèvements tissulaires est une démarche primordiale qui a pour but de fournir un diagnostic de certitude, de déterminer le traitement adjuvant adéquat et le pronostic de la maladie.

Malgré les progrès des examens complémentaires en matière de dépistage, diagnostic et pronostic en pathologie tumorale (ex : L'expression de certains récepteurs récepteur des œstrogènes (ER), du récepteur de la progestérone (PR) et du récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) et leur importance en matière de prédiction de la réponse aux thérapies cibles en matière de cancer de sein)

D'autres marqueurs sont actuellement utilisés, mais avec des niveaux de preuve inférieurs, comme Ki-67, témoin de prolifération, et plus récemment les signatures génomiques Oncotype DX, MammaPrint, Prosigna et EndoPredict qui se différencient par le périmètre de validation clinique, les populations étudiées et les types d'études afin d'être applicables pour le plus grand nombre de patientes et dans les situations les plus équivoques. L'objectif de ces tests génomiques est de faire la dichotomie entre des cellules bonnes répondeuses ou pas à la chimiothérapie pour éviter une « dépotentialisation » de nos choix de traitement sur des cellules non répondeuses [1].

La précision l'uniformité et la reproductibilité de ces tests est un élément clé dans la démarche diagnostique et thérapeutique et relève d'une responsabilité partagée entre le pathologiste et le personnel du bloc opératoire qui joue un rôle capital dans la phase pré

analytique, commençant au moment de l'excision du prélèvement jusqu'à sa réception au niveau du laboratoire d'ACP.

Et implique un engagement sur toute la démarche à savoir :

- L'orientation les prélèvements.
- L'étiqueter les prélèvements.
- La fixation et la Conservation les prélèvements.
- L'acheminement au laboratoire dans les délais requis.
- La rédaction d'une demande d'examen anatomopathologique comportant des éléments cliniques et para cliniques très important pour orienter le pathologiste et avoir par la suite un diagnostic précis et cohérent.

Le but de notre travail est :

- Evaluer les connaissances du personnel du bloc opératoire de gynécologie-obstétrique sur le conditionnement des prélèvements anatomo-pathologique mammaire.
- Elaborer des fiches synthétiques et de guide de bonne pratique afin de faciliter et préciser les bases d'une bonne prise en charge des prélèvements mammaires a l'ensemble du personnel du bloc opératoire de gynécologie-obstétrique.

*MATERIEL
ET MÉTHODES*

I. Type et durée de l'étude :

C'est une étude transversale descriptive menée par le service d'ACP entre Février et juin 2021, auprès du personnel du bloc opératoire du service de gynéco-obstétrique du CHU

Mohammed VI de Marrakech. Une enquête a été réalisée afin d'approcher leurs connaissances, attitudes et pratiques vis-à-vis de la phase pré analytique et mise en condition des prélèvements tissulaires en pathologie mammaire. L'usage du questionnaire a été privilégié puisqu'il permet de travailler à plus grande échelle.

En effet, le nombre de participants n'est pas limité par le temps puisque le questionnaire à diffuser est rapide et que le participant répond à son rythme. Cet outil permet également de s'adapter au rythme et à l'emploi du temps du participant.

II. Population cible :

Ce travail a porté sur un groupe représentatif de 72 personnes constitué essentiellement du personnel du bloc opératoire de gynécologie obstétrique du CHU Mohammed VI impliqué dans le processus pré analytique et le conditionnement des prélèvements mammaires.

Critères d'inclusions : Personnels médical et paramédical pratiquant au bloc opératoire du service de gynéco-obstétrique du CHU Mohammed VI de Marrakech, impliqué dans le conditionnement des pièces opératoires mammaires : Professeurs, Médecins spécialistes, résidents, internes, anesthésistes, infirmiers et FFI.

Critères d'exclusion : Les personnes non impliquées dans le processus pré analytique et conditionnement des pièces opératoires mammaires au sein du bloc opératoire ont été exclues de cette étude.

III. Modalités de collecte des données :

Nous avons élaboré un questionnaire numérique simple et anonyme (Annexe 1).

Ce dernier a été créé en utilisant le logiciel Google Forms, il comprend 23 questions fermées à choix multiples visant essentiellement à répondre aux objectifs de notre travail.

Afin de toucher un grand nombre de personnel et de limiter le temps de réponse tout en facilitant la collecte des données, le questionnaire a été diffusé via l'application WhatsApp après avoir récupéré les contacts respectifs de l'ensemble du personnel intervenant dans le conditionnement des prélèvements mammaires au sein du bloc opératoire de gynécologie obstétrique.

IV. Modalités de traitement des données :

Nous avons considéré comme exploitables les questionnaires pour lesquels plus des deux tiers des questions étaient remplis. L'analyse statistique des réponses fermées a fait appel à de simples pourcentages à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007®.

V. Considérations éthiques

L'aspect éthique a été pris en considération tout au long du déroulement de notre étude.

Les personnes impliquées dans l'étude ont bénéficié d'une présentation claire et détaillée traitant les objectifs de l'enquête, les modalités de recueil des informations et des utilisations possibles des résultats. Les mesures assurant la confidentialité des informations, l'anonymat des participants et le renoncement de porter des jugements de valeur sur les personnes enquêtées ont été respectées.



RESULTATS



I. Participation :

A l'issue de la période déterminée, on a pu rassembler 72 questionnaires.

II. Caractéristiques générales du personnel interrogé :

1. Age :

L'âge des répondeurs varie entre 21 et 59 ans. Avec une médiane d'âge de 40 ans.

La tranche d'âge prédominante était comprise entre 25 et 45 ans

2. Sexe :

Dans notre enquête les femmes représentaient 55,9% contre 44,1% des hommes.

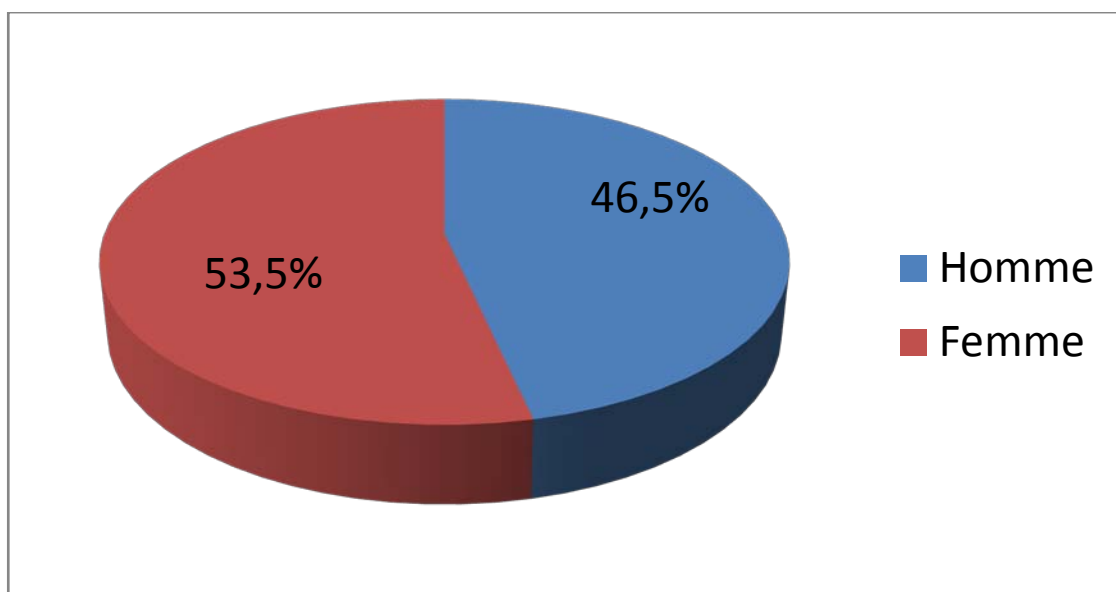


Figure 1 : Répartition du personnel participant selon leur sexe.

3. Titre :

Les postes occupés par les participant étaient majoritairement constitués par les résidents et internes (29) suivis par les infirmiers (15), les FFI et les anesthésistes à des parts égaux (8), les professeurs Agrégés /PES (4), les médecins spécialistes (2) et finalement 6 étudiants en 5ème année de Médecine.

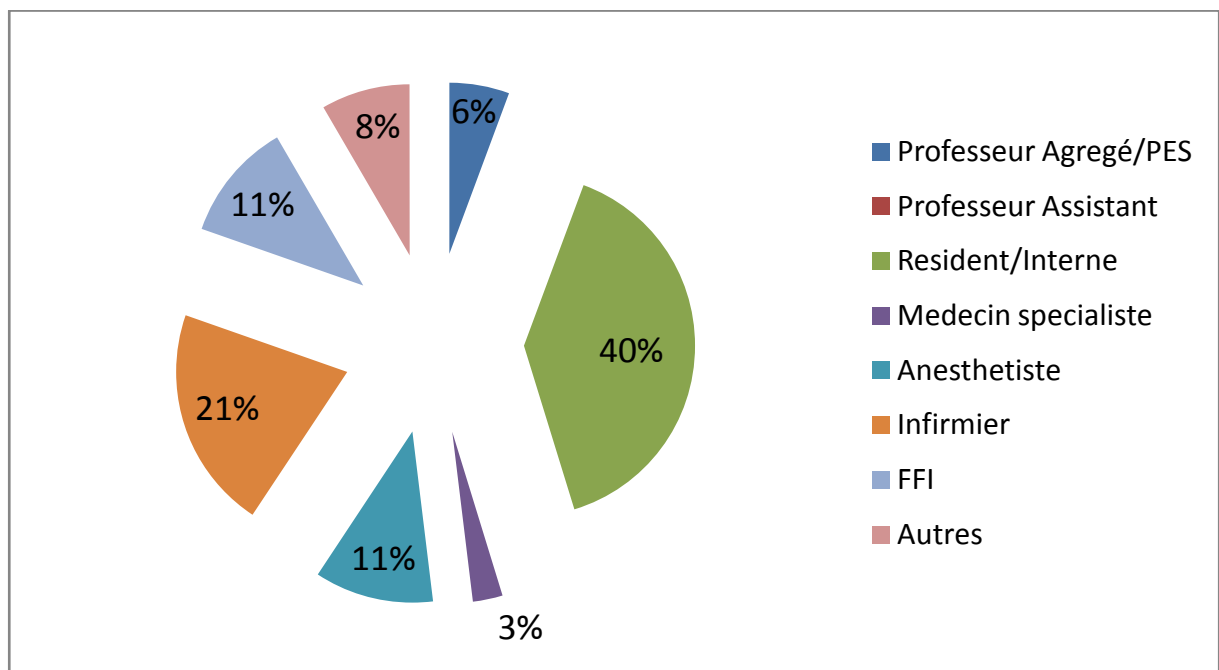


Figure 2 : Répartition du personnel participant selon leur statut.

III. Nature des prélèvements :

1. Biopsie :

1.1. Nombre de biopsie par jour :

Dans notre étude 91,7% des réponders déclarent avoir intervenu en moyenne dans une biopsie par jour, seulement 8,3% de l'ensemble du personnel affirment leur intervention dans 2 biopsies mammaires par jour.

2. Pièce opératoire :

2.1. Nombre de mastectomie par jour :

La majorité du personnel interrogé ont déclaré avoir intervenu dans 1 mastectomie par jour au bloc opératoire(55) ,12 dans 2 mastectomies et 5 dans 3 mastectomies par jour.

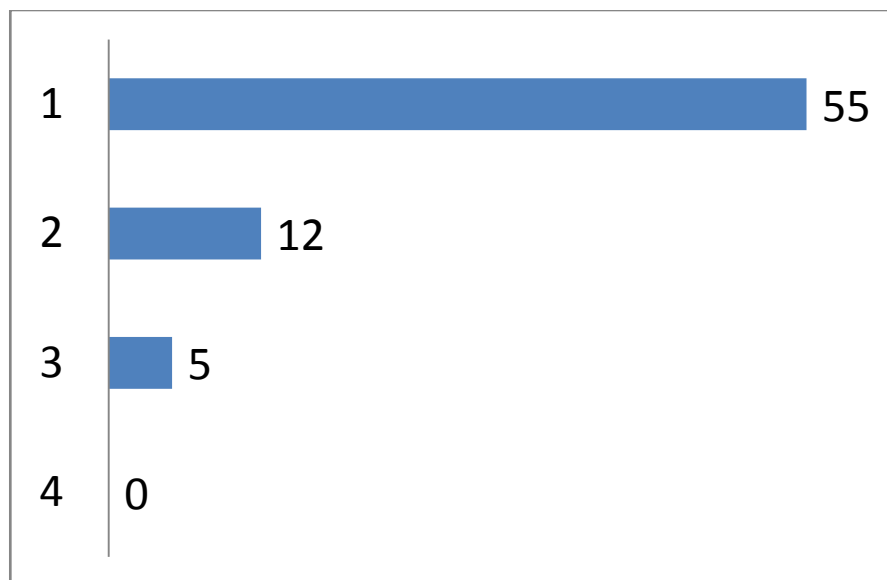


Figure 3 : Répartition des réponses relatives au nombre de mastectomies par jour.

3. Éléments d'identification des prélèvements :

Pratiquement les répondants ont été unanimes sur l'importance de préciser l'identité du patient sur la demande d'examen anatomopathologiste (98,6%) ,le numéro d'identification du patient est retrouvé dans 94,4%.Concernant les autres éléments d'identification des prélèvements : Le siège du prélèvement est cité dans 77,5% , la date et l'heure du prélèvement dans 78,9%, alors que la date de naissance 49,3% ,le nom et coordonnées du médecin traitant ,les hypothèses diagnostiques , les circonstances cliniques et para cliniques sont marqués respectivement dans 54,9% , 53,5% , 63,4% .

Tableau I : Répartition des données devant figurer sur le prélèvement selon le personnel participant

Données	Nombre de réponses positives	Pourcentage
L'identité du patient	70	98,6%
Le numéro d'identification du patient	67	94,4%
La date de naissance	35	49,3%
Le nom et les coordonnées du médecin traitant	39	54,9%
Le siège du prélèvement	55	77,5%
La date et l'heure du prélèvement	56	78,9%
Les circonstances cliniques et para cliniques	45	63,4%
Les hypothèses diagnostiques	38	53,5%

IV. Fixation du prélèvement :

1. Fixateur :

1.1. Disponibilité :

Dans la présente étude, 64 personnes ont affirmé que le fixateur est disponible au bloc opératoire, seulement 8 ont déclaré la non disponibilité du formol.



Figure 4 : Répartition des réponses relatives à la disponibilité du formol au bloc opératoire.

1.2. Fixateur optimal :

La majorité des participants affirme que le formaldéhyde est le fixateur de choix pour les prélèvements mammaires(65), le liquide de Bouin est cité par 5 personnes, l'alcool et les autres fixateurs par une personne.

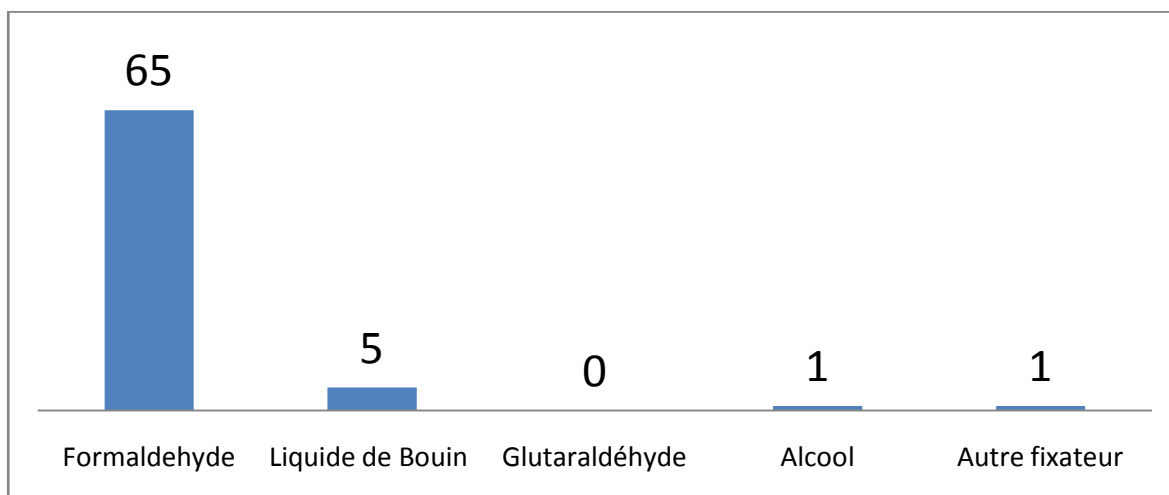


Figure 5 : Répartition des réponses relatives au fixateur optimal.

1.3. Pourcentage et dilution :

Environ 43 participants affirment que le pourcentage de dilution du formol est de 10%, d'autre part 11 personnes ont choisis un pourcentage de 4% et 15 pensent que le formol devrait être dilué à 5%, seulement 3 répondent indiquent un pourcentage de 8%.

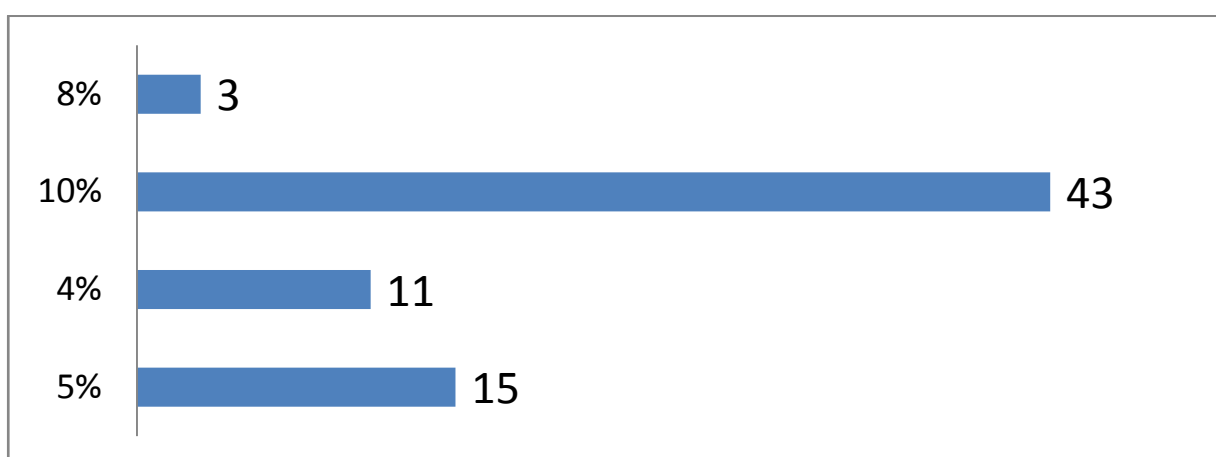


Figure 6 : Répartition des réponses relatives au pourcentage de dilution du formol.

1.4. Proportion :

Concernant la proportion du formol par rapport au volume de la pièce opératoire, un grand nombre du personnel questionné déclare que la quantité du formol doit être 10 fois celle de la pièce (42) ,25 répondants ont choisi une proportion égale a 3 fois le volume de la pièce et seulement 5 pensent que le volume du formol doit être égale au volume de la pièce opératoire.

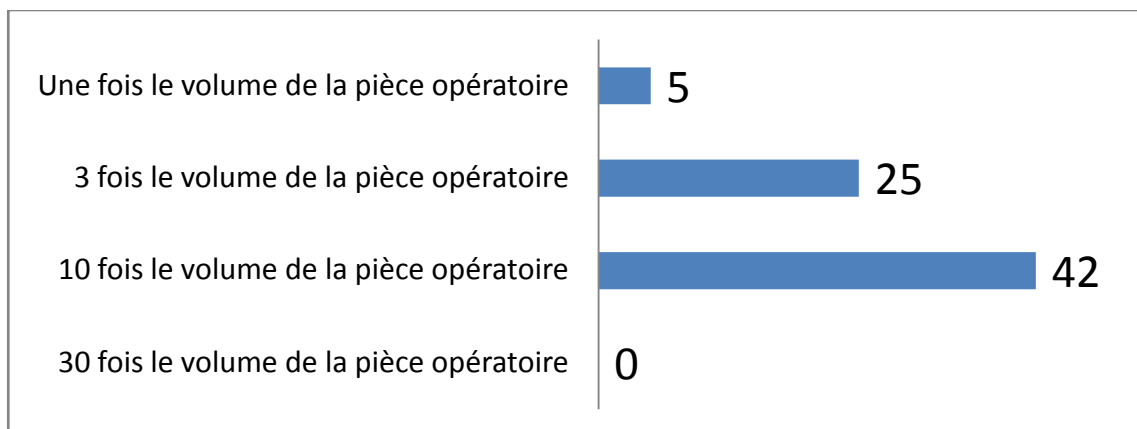


Figure 7 : Répartition des réponses relatives à la proportion appropriée du fixateur.

1.5. Vitesse de pénétration :

La plus grande part des réponses concernant la vitesse de pénétration du formol dans les tissus était de 1mm/h avec 43 répondants ,17 personnes ont cité une vitesse de 1cm/heure, 8 personnes pensent que le formol pénètre les tissus à une vitesse de 10 cm /heure et seulement 4 des répondants ont cité une vitesse de 1mm /24h.

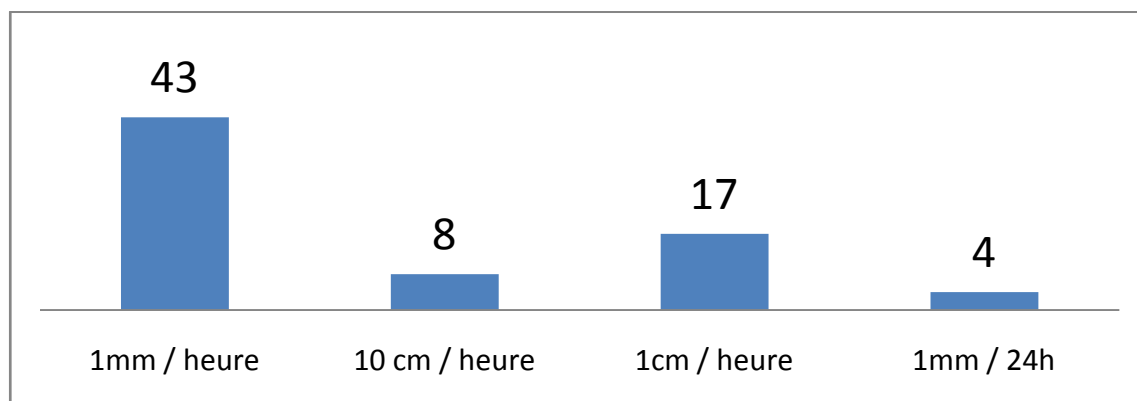


Figure 8 : Répartition des réponses relatives à la vitesse de pénétration du formol dans les tissus.

a. Etiquetage du prélèvement fixé :

Tableau II : réponses relatives aux éléments d'étiquetage du prélèvement fixé au formol.

Données	Nombre de réponses positives	Pourcentage
La nature du fixateur	51	79,7%
La quantité	40	62,5%
La concentration	52	81,3%
Identité et identifiant du patient	41	64,1%
La date de préparation	40	62,5%

2. Le temps nécessaire pour la fixation d'un prélèvement :

2.1. Pièce de mastectomie :

Par rapport au temps nécessaire pour la fixation d'une pièce de mastectomie 59,4% du personnel ont cité un délai entre 24h et 48h, d'autre part 31,9% ont déclaré que le temps optimal pour la fixation d'une mastectomie était moins de 24h .Finalement 10,1% de l'ensemble des répondants pensent que la pièce de mastectomie doit être fixer dans une durée de plus de 48h.

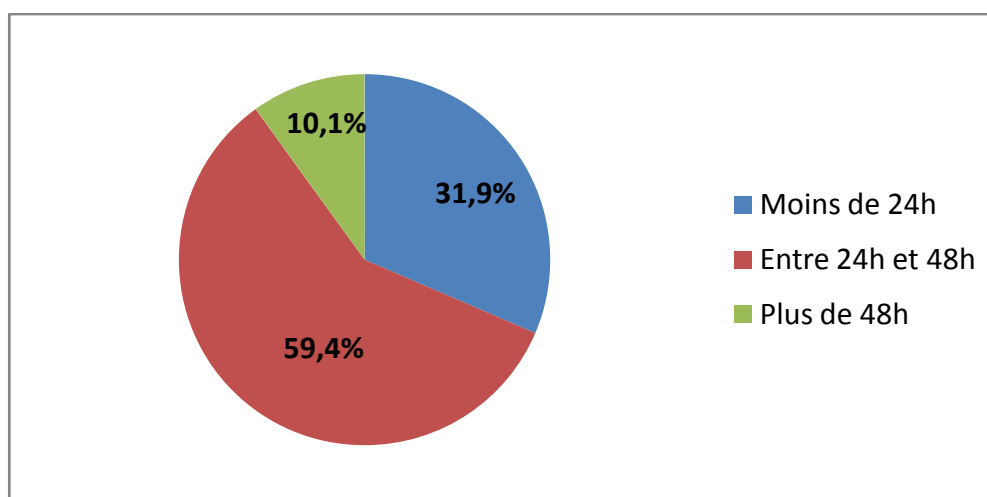


Figure 9 : Répartition des réponses relatives au temps nécessaire pour fixer une pièce de mastectomie.

2.2. Biopsie mammaire :

69,1% des participants déclarent que le temps nécessaire à la fixation d'une biopsie mammaire est de moins de 24heures, un délai de plus de 24h a été désigné par 29,4% et une durée entre 24het 48h a été citer dans 1,5% du personnel interrogé.

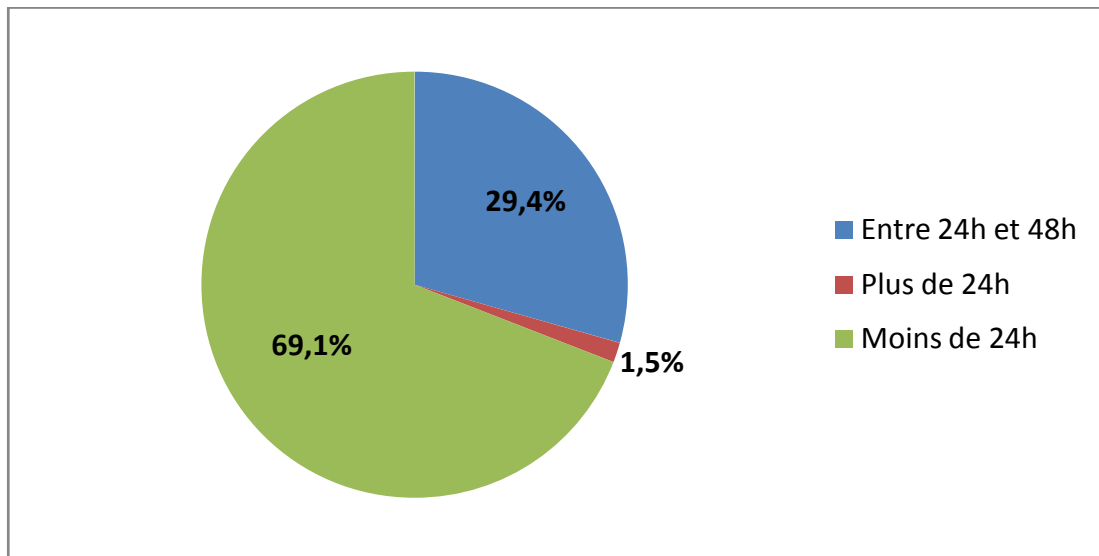


Figure 10 : Répartition des réponses relatives au temps nécessaire pour fixer une biopsie mammaire.

3. Contenants utilisé pour les pièces opératoires :

3.1. Flacons adaptés :

34 personnes du personnel interrogé affirment que les contenants les plus utilisés au bloc opératoire sont les flacons adaptés aux pièces opératoires.

3.2. Sacs en plastique :

L'utilisation de sacs en plastique pour conditionner les pièces opératoires mammaires a été rapportée par 38 participants.

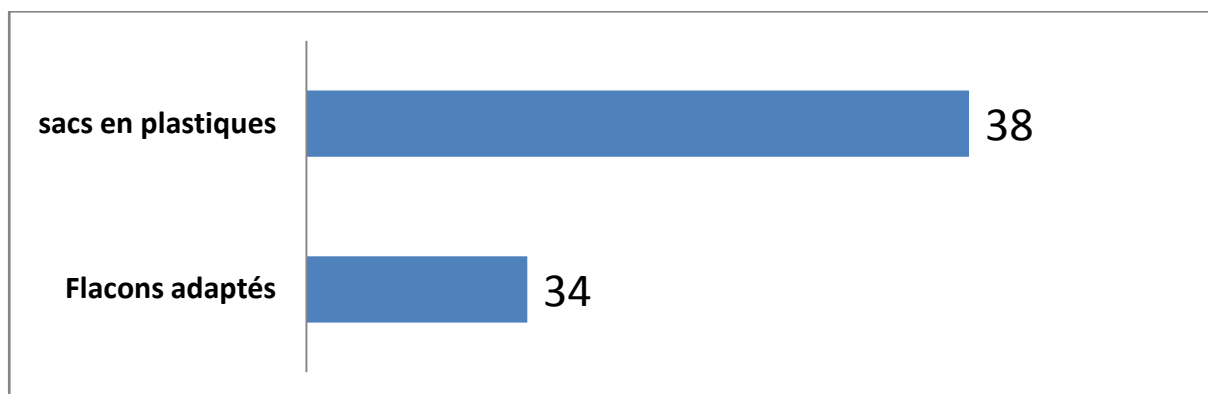


Figure11 : répartition des réponses relatives aux contenants les plus utilisés pour les pièces opératoires.

4. Paramètres influençant la fixation :

Tableau 3 : Répartition des variables qui interviennent dans la fixation selon le personnel participant.

Variables	Nombre de réponses positives	Pourcentage
La taille du tissu	59	86,8 %
Le volume du fixateur	61	89,7 %
Le type du fixateur	60	88,2 %
La température	41	60,3 %
Le temps de fixation	56	82,4%

5. Anomalies liées à une mauvaise fixation :

5.1. Artéfacts liés à une mauvaise fixation:

40,8 % du personnel inclus ont confirmé que les artefacts liés à une mauvaise fixation rendent le diagnostic difficile, D'autre part 59,2% de l'ensemble des répondants ont nié l'effet négatif des artefacts d'une mauvaise fixation sur le diagnostic.

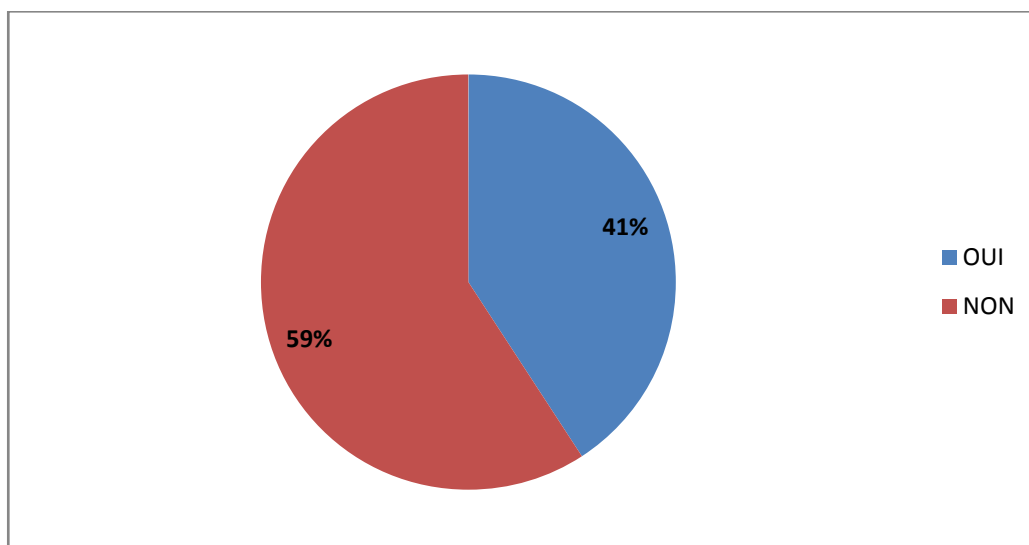


Figure12 : répartition des réponses relatives aux artefacts liés à une mauvaise fixation.

5.2. Sous fixation :

53 participants affirment qu'une sous fixation ne peut être rattrapée, 19 ont mentionné qu'elle est rattrapable par la suite.

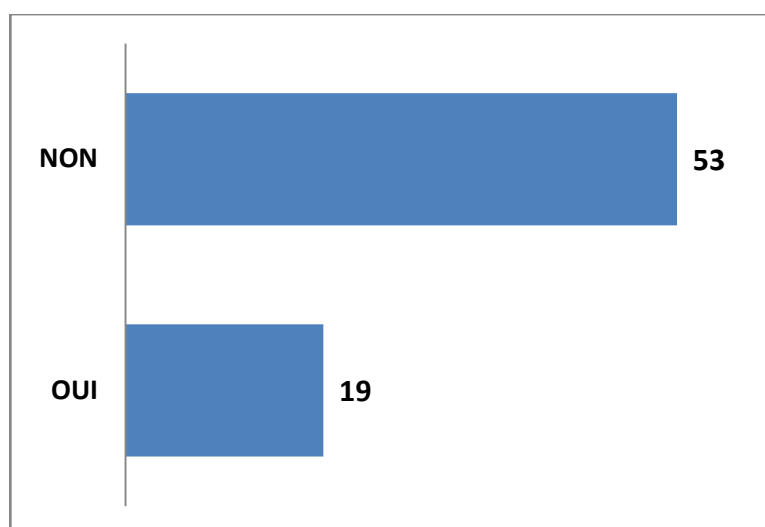


Figure13 : répartition des réponses relatives aux à la sous fixation.

5.3. Fixation prolongée :

Dans notre étude, 38 répondent pensent que la sur fixation est irréversible ,34 déclarent que la fixation prolongée peut être rattrapée.

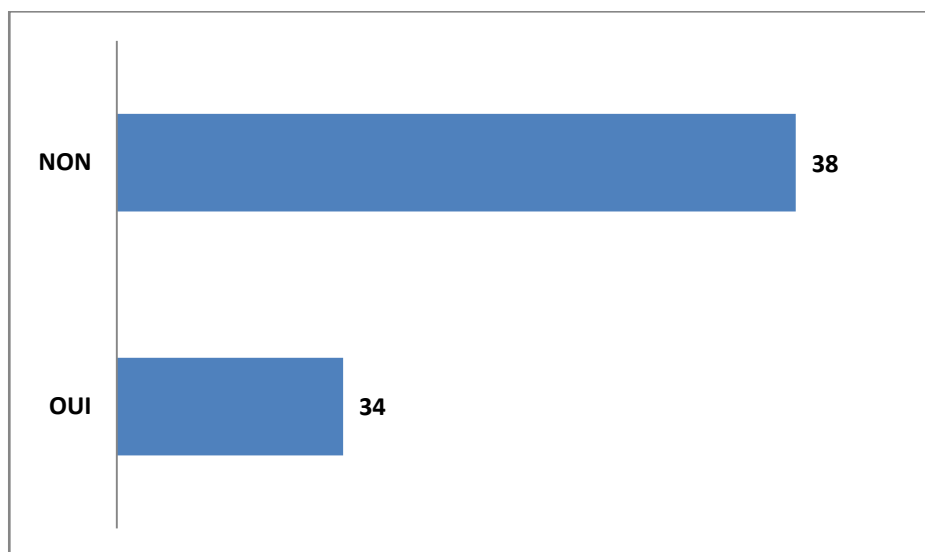


Figure14 : répartition des réponses relative à la sur fixation (Fixation prolongée).

V. Transport du prélèvement :

Dans notre étude 68,1% des répondants ont déclaré que l'acheminement des prélèvements au laboratoire d'anatomie pathologie était assuré par les brancardiers , 49,3% affirment que cette tâche est faite par les proches des patients et 20,3% assurent que les résidents s'occupe du transport au laboratoire .

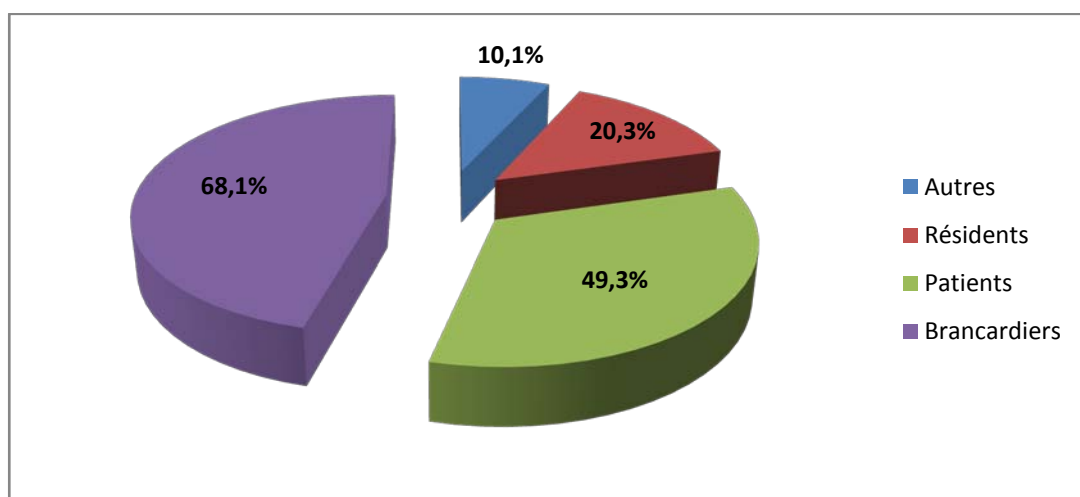


Figure15 : répartition des réponses relatives à l'acheminement des prélèvements au laboratoire d'anatomie pathologique.

VI. Connaissances concernant le temps d'ischémie froide :

Concernant le temps d'ischémie froide ,75% des répondeurs ont jugé que ce dernier ne doit pas dépasser 30min, 20,6 % du personnel ont choisi un temps entre 30min et 1 heure et finalement 5,9% préconisent un délai de plus d'une heure.

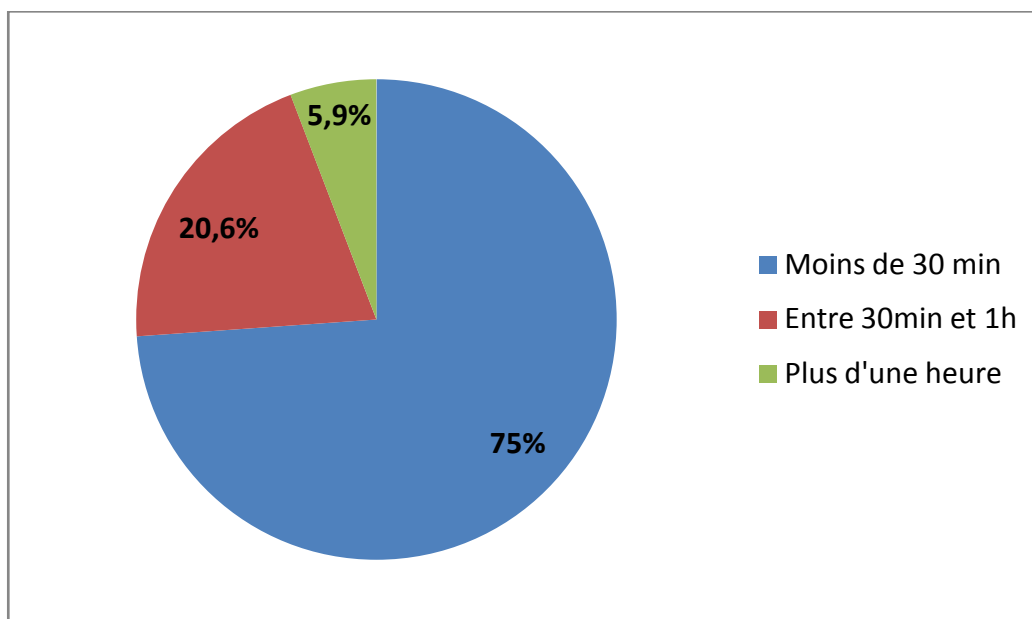


Figure16 : répartition des réponses relatives au temps d'ischémie froide.



DISCUSSION



I. Eléments d'identification des prélèvements :

La présente étude a montré que parmi les éléments qui doivent figurer sur le prélèvement : l'identité retenue par 98,6 du personnel enquêté. Pour les autres renseignements le numéro d'identification du patient est cité dans 94,4% des cas, les circonstances cliniques et para cliniques dans 63,4%, les hypothèses diagnostique dans seulement 53,5%, le nom et les coordonnées du médecin traitant 54,9%, le site du prélèvement dans 77,5%, la date et l'heure du prélèvement dans 50%des cas. Ailleurs, rien que 22 personnes ont confirmé la présence de la date de naissance du patient comme élément essentiel dans l'étiquetage du prélèvement.

L'identification du patient et de l'échantillon est la première étape essentielle de la phase pré analytique [2].

Le taux d'erreur global signalé dans l'identification et la manipulation des échantillons dans le laboratoire de pathologie se situe entre 0,1 % et 9 % [3] [4]. En particulier, les erreurs d'identification des échantillons se situent entre 0,04 % et 0,1 %. Ces données, cependant, sous-estiment probablement le phénomène, car de nombreux incidents pourraient ne pas être détectés ou signalés [5] [6] [7].

Une étude a été faite par le Collège Américain des pathologistes(CAP) au niveau de 417 institutions sur 1 004 115 cas. Les erreurs liées à l'identification des échantillons représentaient 9,6% des problèmes qui rendent l'examen anatomo-pathologique défectueux voir fossé, des éléments d'information discordants ou manquants étaient présents dans 77% et 3,6% concernaient la manipulation des échantillons. La carence la plus courante était « l'absence d'antécédents cliniques ou de diagnostic sur le bordereau de demande », ce qui représentait 40% de toutes les carences. [8]

Une étude similaire a reconnue que des erreurs d'étiquetage se sont produites dans 91 des échantillons ont été mal étiquetés avec le nom de patient incorrect [9].

Meier et al. affirment dans leur étude qu'environ 25 % de toutes les erreurs de pathologie chirurgicale sont dues à une mauvaise interprétation du diagnostic, tandis que l'incidence des

erreurs d'identification et des échantillons défectueux varie de 27 % à 38 % et de 4 % à 10 % respectivement [10].

Morelli et al. Ont identifié l'étiquetage des prélèvements comme l'erreur la plus courante dans la phase pré-analytique et ils ont attribué cette erreur au manque d'automatisation dans la numérotation des conteneurs d'échantillons [11].

L'association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologiques (l'AFAQAP) exige dans la deuxième version de ses recommandations de bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologique en 2010[12] que l'Identification du prélèvement comporte:

- nom, prénom, sexe, date de naissance
- Le numéro d'identification du patient, adresse du patient ou service de consultation ou d'hospitalisation
- nom du médecin ayant fait le prélèvement et ses coordonnées.

Au-delà des identifiants du patient, plusieurs éléments/informations sont aussi indispensables (caractère urgent ou non de la demande, nature du prélèvement, renseignements cliniques, siège des échantillons pour les petites biopsies et les prélèvements cytologiques, recherches particulières à réaliser, date et heure du prélèvement, nom des correspondants et leurs coordonnées).

En résumé tout prélèvement et envoi en pathologie présuppose une identification adéquate des prélèvements. Tel que recommandé par les diverses instances notamment Le programme québécois d'assurance qualité en Anatomopathologie, le collège américain de pathologistes et L' AFAQAP : l'identification du spécimen et de la requête doit contenir les éléments suivants : le nom et le prénom du patient, le sexe, la date de naissance, un deuxième identifiant unique du patient (numéro de dossier) l'adresse du patient ou le service hospitalier, le nom du médecin requérant, le site et la nature du prélèvement. [12][13] [14]

La requête doit également contenir la date et l'heure du prélèvement, l'adresse du médecin prescripteur pour le retour des résultats, le nom des médecins requérant une copie du

rapport final, les renseignements cliniques pertinents, et un diagnostic macroscopique *in vivo* ou postopératoire. Le caractère «urgent» de l'analyse, s'il y a lieu, doit être spécifié de façon évidente sur la requête d'analyse .

Lors de prélèvements multiples, chaque spécimen doit être identifié tel que recommandé et accompagné d'une information clinique pertinente pour chacun des spécimens, sur une ou plusieurs requêtes. Tous les sites biopsiques doivent être identifiés de façon spécifique et soumis dans des contenants différents adéquatement identifiés [13]

1. L'identification du spécimen et de la requête doit contenir les éléments suivants :

- a. nom et prénom du patient ;
- b. date et heure du prélèvement ;
- c. sexe;
- d. date de naissance ;
- e. deuxième identifiant unique du patient (numéro de dossier) ;
- f. adresse du patient ou service hospitalier ;
- g. nom du médecin prescripteur ;
- h. site et nature du prélèvement ;
- i. initiales de la personne ayant effectué le prélèvement.

2. La requête doit également contenir :

- a. l'adresse du médecin prescripteur pour le retour des résultats ;
- b. le nom des médecins requérant une copie du rapport final ;
- c. les renseignements cliniques et para cliniques pertinents ;
- d. un diagnostic macroscopique *in vivo* ou postopératoire.

3. Le caractère « urgent » de l'analyse doit être spécifié de façon évidente sur la requête d'analyse.

4. Lors de prélèvements multiples, une information clinique pertinente est requise pour chacun des spécimens, sur une ou plusieurs requêtes.

5. Tous les sites biopsiques doivent être identifiés de façon spécifique et être soumis dans des contenants différents adéquatement identifiés.

Figure 17 : Synthèse des éléments d'identification d'un prélèvement destiné au laboratoire d'anatomie pathologique selon [15]

Centre Hospitalier Universitaire
Mohammed VI
Marrakech

C H U Mohammed VI de Marrakech
Hôpital Arrazi
Demande d'examen anatomo-pathologique

المركز الإستشفائي الجامعي
محمد السادس
مراكش

SERVICE DEMANDEUR DE L'EXAMEN :

MEDECIN PRESCRIPTEUR : (nom, cachet et signature)

Identification :

Nom et Prénom du patient : _____

N° IP Du patient: _____

Sexe : _____ Date de Naissance : _____

Téléphone : _____

Date et heure du prélèvement: _____

Type de prélèvement

- Cytologie
 - Conventionnelle ☐ – Nombre de lames : _____
 - Milieu liquide ☐ – Nombre de flacons : _____
 - Pour FCV : _____ DDR _____ Parité _____
- Histologie
 - Biopsie ☐ – Biopsie exérèse ☐ – Pièce opératoire ☐
 - Nombre de flacons : _____
 - Fixateur : _____

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

EXAMEN COMPLEMENTAIRE:

Immunohistochimie ☐ Immunofluorescence ☐ Biologie moléculaire ☐

Important

L'imagerie est obligatoire pour les tumeurs du système nerveux central, tissu mou et tissus osseux

Figure 18 : Fiche de demande d'examen anatomo-pathologique propre au service d'anatomie pathologique du CHU MOHAMMED VI Marrakech.

II. Fixation du prélèvement :

La fixation est un traitement qui a pour effet d'immobiliser les composantes cellulaires d'un tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, tout en assurant d'abord sa conservation et en facilitant ensuite la confection de préparations permanentes en vue de l'examen microscopique de ce tissu. La fixation est la seule étape de la technique histologique qui soit **définitive et irréversible**.

1. Fixateur :

1.1. Le fixateur optimal :

Les résultats de notre étude montre que 65 des répondants affirment que le fixateur optimal est le formaldéhyde et seulement 5 personnes ont privilégié le liquide de Bouin.

En effet, le formol neutre tamponné est le fixateur tissulaire de référence depuis plus de 100 ans [16]

Il est actuellement recommandé pour tous les prélèvements tissulaires destinés à un diagnostic anatomopathologique et contient principalement un agent actif, le formaldéhyde, qui est partiellement hydraté en méthylène glycol en solution aqueuse. Un équilibre existe entre ces deux réactifs dans la solution.

La fixation formolée s'effectue en deux étapes :

- D'abord une pénétration tissulaire par le formaldéhyde et le méthylène glycol, à la vitesse approximative de 1 mm par heure.
- Ensuite la production par le formaldéhyde de groupement hydrox méthyle sur les protéines, formant des ponts méthyléniques entre ces protéines et leur réticulisation pour aboutir à la stabilisation cellulaire et tissulaire [16].

Les avantages de la fixation formolée sont nombreux :

- Maintien d’une excellente morphologie.
- Faible coût, pénétration rapide dans les tissus.
- Reproductibilité des résultats obtenus.
- Immuno-histochimie déjà standardisée pour la plupart des anticorps [17].
- Le Bouin est abandonné progressivement, à cause de la toxicité notamment de l’acide picrique. De plus, il dénature les protéines en les coupant en très petits fragments, ce qui rend impossible toute étude de biologie moléculaire [18][19] .

L’ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) a publié en juillet 2010, en collaboration avec le CAP, un guide de pratique pour l’analyse immunohistochimique des récepteurs de l’œstrogène et de la progestérone dans le cancer du sein et recommande que les prélèvements mammaires devraient être fixés dans du formol tamponné [20].

Le même fixateur a été cité par **Albanell *et al.*** dans les lignes directrices de la (SEAP) et de la (SEOM) pour la détermination du statut HER-2 dans le cancer du sein publiées en 2009[21]

1.2. Disponibilité :

Dans notre étude 64 personnes ont affirmé que le fixateur est disponible au bloc opératoire, alors que 8 répondants ont déclaré que le formol n’était pas disponible.

Le service d’anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech a mis en place un planning de distribution du formol [Fig.19] avec des dates bien définies et une quantité relative au besoin et à l’activité de chaque service, afin d’assurer la disponibilité du formol prêt à l’utilisation dans tous les blocs opératoires de l’hôpital.

Ministère de la Santé CHU Mohammed VI Hôpital ARAZI Service d'Anatomie Pathologique MARRAKECH  وزارة الصحة المركز الوطني للأمن وإدارة الأزمات مصلحة التشريح المرضي غرانتش		
Planning de distribution du Formol dilué		
Service	Date	Qtté demandée/Mois
* Exploration Fonctionnelle * Radiologie * Bloc des urgences	24/05/2021	5L Sauf le Bloc des urgences 20L
	21/06/2021	
	26/07/2021	
	23/08/2021	
	27/09/2021	
	25/10/2021	
	22/11/2021	
* Pneumologie * Chirurgie Plastique * Chirurgie Cardio Vasculaire * Bloc Central	27/12/2021	5L Sauf le Bloc Central 20L
	25/05/2021	
	22/06/2021	
	27/07/2021	
	24/08/2021	
	28/09/2021	
	26/10/2021	
* Rhumatologie * Traumatologie orthopédie * Chirurgie Viscérale * Urologie * Néphrologie	23/11/2021	5L
	28/12/2021	
	26/05/2021	
	23/06/2021	
	28/07/2021	
	25/08/2021	
	29/09/2021	
* Ophtalmologie * ORL * Chirurgie Thoracique * Neurologie * Neurochirurgie * Bloc gynco	27/10/2021	5L Sauf le Bloc Gynéco 20L
	24/11/2021	
	29/12/2021	
	27/05/2021	
	24/06/2021	
	29/07/2021	
	26/08/2021	
* Médecine Interne * Maladie infectieuse * Gastrologie enterologie * Dermatologie * Endocrinologie * Bloc Pédiatrie	30/09/2021	5L Sauf le Bloc Pédiatrie 20L
	28/10/2021	
	25/11/2021	
	30/12/2021	
	28/05/2021	
	26/06/2021	
	30/07/2021	
	26/08/2021	
	01/10/2021	
	29/10/2021	
	26/11/2021	
	31/12/2021	

Figure 19 : Planing de distribution du formol dilué du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

1.3. Pourcentage et Dilution :

Environ 43 participants affirment que le pourcentage de dilution du formol est de 10%, d'autre part 11 personnes ont choisis un pourcentage de 4% et 15 pensent que le formol devrait être dilué à 5%, seulement 3 répondants indique un pourcentage de 8%.

- En effet, pour la fixation, on utilise une solution de formaldéhyde concentré en le diluant dans de l'eau ou du tampon (généralement au 1/10), on parle alors de solution de formol 10%, qui contient en fait 4% de formaldéhyde.
- Les différentes instances, notamment l'ASCO, l'ACP ont mentionnés dans leurs directives un pourcentage de 10% ,s'ajoute à cela le Groupe d'étude des facteurs pronostiques immunohistochimiques dans le cancer du sein (GEFPICS) qui recommande une fixation exclusivement au formol neutre tamponné à 10% pour les différents prélèvement mammaires.[22]
- Dans notre service la dilution du formol se fait par le FORMADOSE [Fig20], un automate qui permet de réduire les erreurs éventuelles de dosage et de garantir une qualité de fixation optimale, il permet aussi d'éviter de respirer ou de manipuler du formol qui est une substance cancérigène avec une possibilité de connecter plusieurs tables de macroscopie sur un même système.

Le FORMADOSE permet aussi :

- Le contrôle du niveau, du pH et de la concentration du formol à l'écran.
- L'agitation automatique ou manuelle pour éviter la sédimentation en cas de stockage prolongé
- L'alarme visuelle et sonore quand le niveau de formol est bas ou trop élevé
- L'affichage de la date de l'heure de préparation



Figure 20 : Automate FORMADOSE du service d'anatomie pathologique de Marrakech .

Après dilution par le FORMADOSE à raison de (1 : 10) la solution formolée est mise en bidon de plastique de 5L prêt à l'utilisation, étiqueté et propre a chaque service .



Figure 21 : Bidon en plastique de 5 Litres de formol dilué à 4% fourni par le service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

1.4. Proportion :

Un grand nombre du personnel questionné déclare que la quantité du formol doit être 10 fois celle de la pièce (42) ,25 répondants ont choisi une proportion égale a 3 fois le volume de la

pièce et seulement 5 pensent que le volume du formol doit être égale au volume de la pièce opératoire.

En général le liquide fixant doit être en quantité suffisante de manière à ce que le prélèvement soit totalement submergé dans le formol tamponné pour que la fixation soit homogène est complète et pour permettre la pénétration adéquate du tissu, habituellement une proportion de dix fois le volume du prélèvement est recommandée [Fig22] [23]. Nous rappelons que la taille et la forme du contenant doivent être adaptées à la pièce à fixer. Pour les pièces de grande taille, la pénétration du fixateur sera facilitée par des sections ou ouvertures préalables [24]

Albanell *et al.* Ont mentionné l'utilisation d'un volume de fixateur équivalent à au moins quatre fois le volume du spécimen pour les biopsies mammaires. D'autre part Fortier et Hould affirment que pour obtenir des résultats optimaux en matière de biologie moléculaire, le tissu devrait idéalement être plongé dans une quantité de fixateur équivalent à 15 à 20 fois son volume [21].

Yaziji *et al.* Ont publié en décembre 2008 un consensus d'experts pour la détermination du statut des récepteurs hormonaux par immunohistochimie dans le cancer du sein ,ils recommandent alors que les sections de tissu doivent être immergées dans un volume adéquat de fixateur avec un ratio de (1 : 20)[25] .

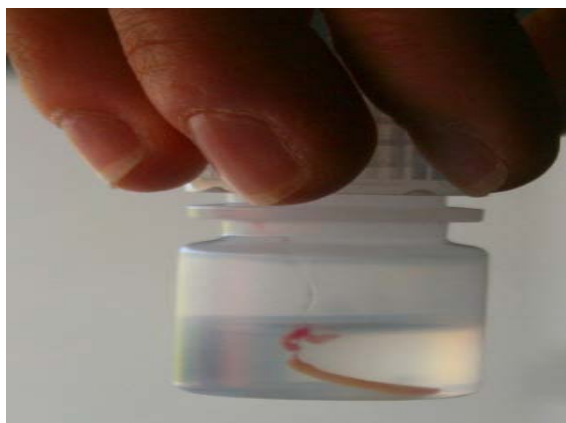


Figure 22 : Photo d'une biopsie mammaire fixée avec une quantité suffisante de formol, prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech .

1.5. Vitesse de pénétration :

La plus grande part des réponses concernant la vitesse de pénétration du formol dans les tissus était de 1mm/h avec 43 répondants ,17 personnes ont cité une vitesse de 1cm/heure, 8 personnes pensent que le formol pénètre les tissus a une vitesse de 10 cm /heure et seulement 4 des répondants ont cité une vitesse de 1mm /24h.

- Le taux de pénétration d'un agent de fixation dépend de ses caractéristiques de diffusion et varie d'agent en agent. Tel que conçu par Medawar, il peut être exprimé par $d = K\sqrt{t}$, la profondeur de pénétration (**d**) en millimètres est égale à la racine carrée du temps de fixation en heures(**t**), multipliée par un coefficient de diffusibilité (**k**) propre a chaque fixateur [26][27][Fig23].
- Le formol pénètre dans les tissus relativement rapidement en raison d'une petite molécule de formaldéhyde, cependant, la liaison (réticulation covalente) le processus entre les protéines par le formaldéhyde est assez lente [28].
- Concernant la diffusion du formol dans les tissus, la littérature fait souvent mention d'une vitesse de diffusion générale de 1 mm / heure [29][30] .
- Les recommandations consensuelles sur le dépistage des récepteurs des œstrogènes dans le cancer du sein par immunohistochimie indiquent qu'un minimum de 25 heures est requis pour la fixation complète d'un échantillon de tissu de 4 mm [31].

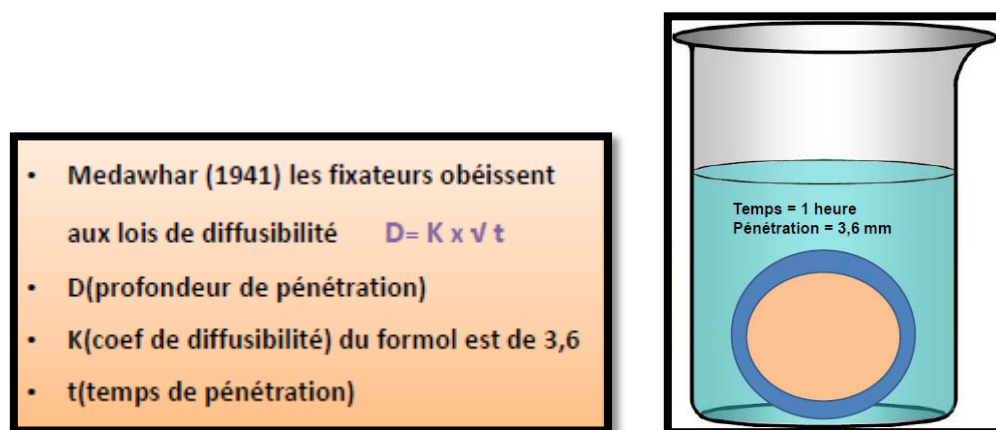


Figure 23 : loi de diffusion des fixateurs conçues par Medawhar selon [32]modifié.

Il faut noter que les tumeurs situées dans des pièces opératoires non immédiatement tranchées seront en ischémie froide tant que le fixateur ne sera pas au contact de la tumeur. Connaissant la vitesse de pénétration tissulaire du formaldéhyde, cette durée peut être de 16 h pour une tumeur située à 14 mm de la berge chirurgicale[Fig26], dans une tumorectomie non tranchée, et jusqu'à 5 jours (120 h) pour une tumeur située à 40 mm de la berge chirurgicale dans une pièce de mastectomie non tranchée [32].



Figure 24 : Photo d'une mastectomie tranchée en feuillet de livre prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

•	1 heure = 3.6 mm
•	4 heures = 7.2 mm (1.8 mm/h)
•	16 heures = 14.4 mm (0.9 mm/h)
•	64 heures = 28.8 mm (0.45 mm/h)
•	256 heures = 57.6 mm (0.225 mm/h)

Figure25 : Vitesse de pénétration du formol dans les tissus en mm par heure selon [32].

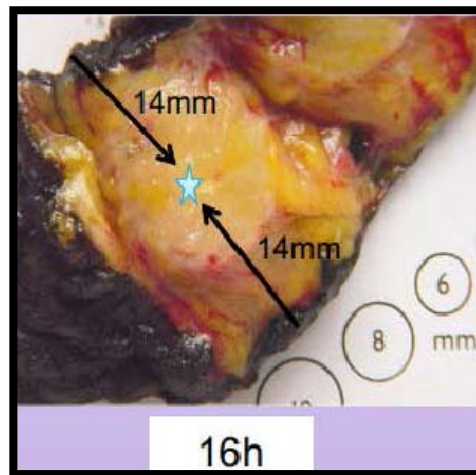


Figure 26 : Profondeur atteinte par le formol après 16h de fixation selon [32]

III. Le temps nécessaire pour la fixation d'un prélèvement :

1. Pièce de mastectomie :

Seulement 59,4% du personnel interrogé ont cité un délai entre 24h et 48h pour fixer une pièce de mastectomie, une partie non négligeable des répondants (31,9%) a déclaré que le temps optimal pour la fixation d'une mastectomie était moins de 24h.

L'ASCO et l'ACP estiment que les échantillons devraient être fixés dans du formol tamponné 10 % pour une durée de 6 à 72 heures [33]. Si la pièce anatomique est de grande taille, il est recommandé de faire des sections à intervalles de 5 à 10mm, parallèles aux plans superficiel et profond en «feuille de livre »et mettre par la suite des compresses entre les tranches (tout en conservant les indices d'orientation initiaux de la pièce anatomique) afin d'optimiser la fixation[Fig27].

Yaziji *et al.* Ont publié en décembre 2008 un consensus d'experts pour la détermination du statut des récepteurs hormonaux par immunohistochimie dans le cancer du sein : Des durées de fixation minimale de 8 heures et maximale de 72 heures doivent être respectées, avec une durée optimale de fixation entre 24 et 48 heures [31].

Cette durée a aussi été mentionnée par **Hanna *et al.*** Dans la mise à jour des recommandations du consensus national canadien pour la détermination du statut HER-2 dans le cancer du sein [34].

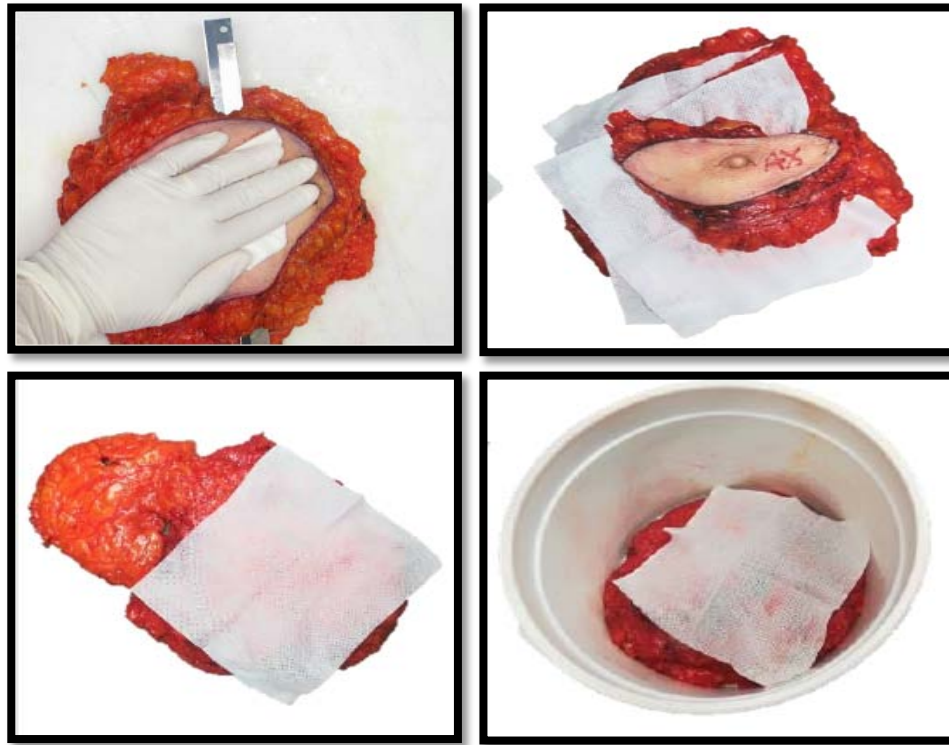


Figure 27 : Etapes de prise en charge d'une pièce de mastectomie selon le GEPICS 2014modifié .

2. Biopsie mammaire :

Dans la présente étude 69,1% des participants affirment que le temps nécessaire à la fixation d'une biopsie mammaire est de moins de 24heures, un délai de plus de 24h a été désigné par 29,4% et une durée entre 24het 48h a été citer seulement dans 1,5% du personnel interrogé.

Dans la littérature il est recommandé que pour les biopsies et les prélèvements mammaires de petite taille, la fixation optimale préconisée est au minimum de six heures (idéalement de 12 à 24 heures)[35].

Tableau 4 : Points critiques, risques afférents et recommandations selon les techniques d'analyse de biologie moléculaire en matière de cancer du sein selon [35] modifié.

Technique d'analyse	Étapes de la prise en charge technique	Points critiques	Recommandations	Risques
IHC/HIS	Fixation des biopsies	Délai avant fixation	Fixation immédiate	Sous-évaluation du marquage
		Durée	≥ 6 h	Sous-évaluation du marquage
		Volume du fixateur	≥ 10 fois le volume du prélèvement	Sous-évaluation du marquage
		Nature du fixateur	Formol comme standard ⁽¹⁾	Sous-évaluation du marquage

IV. Les contenants les plus utilisés :

1. Sacs en plastiques :

L'utilisation de sacs en plastique pour conditionner les pièces opératoires mammaires a été rapportée par 38 participants soit plus de la moitié des réponders, cela est dû essentiellement au manque de flacons adaptés aux pièces opératoires.

L'usage des sacs en plastique est délétère et peut fausser les résultats des analyses moléculaires, un contenant inadéquat favorise l'écrasement de la pièce opératoire, la perte des éléments d'orientation posé par le chirurgien et accélère l'altération des cellules par autolyse.



Figure 28 : Pièce de mastectomie dans un sac en plastique prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI.



Figure 29 : pièce de mastectomie dans un sac en plastique prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI.

2. Flacons adaptés :

34 personnes du personnel interrogé affirment que les contenants les plus utilisés au bloc opératoire sont les flacons adaptés aux pièces opératoires.

Pour les pièces opératoires on recommande des pots ou seaux sécurisés suffisamment larges destinés aux tumorectomie et aux pièces de mastectomie pour éviter les déformations des pièces.

Le préleveur veillera scrupuleusement à l'étanchéité de ses flacons collecteurs, les pots mal fermés constituent une grande part de non-conformités et nuisent à la qualité du prélèvement :

- mauvaise fixation due à la perte du niveau suffisant de formol.
- perte possible de l'échantillon.
- danger chimique pour les utilisateurs.



Figure 30 : Photo d'un Pot destiné aux pièces opératoires de grande taille prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.



Figure 31 : Photo d'un flacon destiné au tumorectomie prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

– Pour les biopsies on préconise flacons transparents vide ou pré dosé à 3,7 – 4,0 % de formaldéhyde[Fig31] dans une solution neutre, tamponnée évite toute oxydation potentielle et améliore la préservation des échantillons. Les flacons possèdent des capuchons en polyéthylène haute densité avec double fermeture de sécurité, un joint intérieur pour prévenir les fuites et une étiquette d'identification qui doit être présente sur chaque flacon.



Figure 32 : Photo d'un flacon destiné aux biopsies et prélèvements de petites taille prise au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

V. Paramètres influençant la fixation :

Les résultats de notre étude concernant les paramètres influençant la fixation étaient presque identiques pour : La taille du tissu, le volume du fixateur et le temps de fixation avec des valeurs entre 89,8 % et 82,4%. D'autre par la température n'a été citée que par 60,3 % des répondants.

En pratique plusieurs éléments peuvent influencer la fixation :

- La vitesse de pénétration : les liquides fixateurs pénètrent les tissus à des vitesses différentes en fonction de l'agent fixateur utilisé. Il doit y avoir concordance entre la vitesse de pénétration du fixateur, le temps de séjour du tissu dans le fixateur et les dimensions de la pièce de tissu. De façon générale, les liquides fixateurs standards ont une vitesse de pénétration approximative de 1,0 mm/h. – vitesse de la réaction de fixation : ce facteur est plus difficile à déterminer, étant donné que la réaction n'a pas nécessairement lieu au moment où le fixateur pénètre le tissu.
- Le volume de fixateur : pour obtenir des résultats optimaux, le tissu devrait idéalement être plongé dans une quantité de fixateur équivalente à 15 à 20 fois son volume.

- L'épaisseur de la pièce de tissu : une épaisseur de 3 à 5 mm est considérée comme idéale pour les tissus à fixer avec les fixateurs usuels.
- La consistance des pièces : plus un tissu est dense, plus il sera difficile pour le fixateur de le pénétrer, et plus il est susceptible de durcir de façon excessive si on le laisse trop longtemps dans certains fixateurs.
- La durée de la fixation : la durée de fixation est capitale, car elle peut être responsable de plusieurs des effets négatifs de la fixation. Elle dépend de l'agent fixateur utilisé, de son volume, de sa concentration, de son pH, de l'épaisseur de la pièce à fixer.
- La concentration : **EXCLUSIVEMENT le formol 10% tamponné** (= formaldéhyde 4% pH neutre)
- La température : La fixation se réalise à la **température ambiante** du local. Il est inutile de déposer un prélèvement fixé au frigo
- PH : il est conseillé d'employer des fixateurs dont le pH se situe entre 6 et 8, les valeurs extrêmes étant plutôt nuisibles et pouvant entraîner des réactions tissulaires indésirables [36].

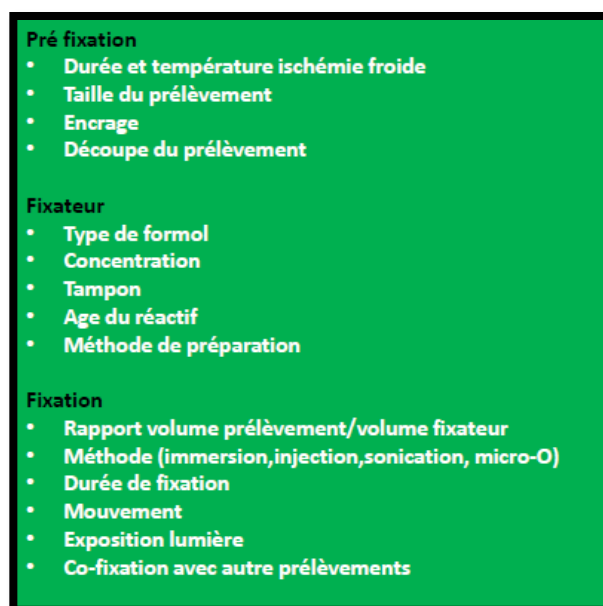


Figure 33 : Sources de variabilité pré analytique selon Engel et Moore Arch Pathol Lab Med 2011 modifié.

VI. Les Erreurs de fixation :

La majorité du personnel inclus ont confirmé que les artefacts liés à une mauvaise fixation rendent le diagnostic difficile 40,8%, 59,2% de l'ensemble des répondants ont nié l'effet négatif des artefacts d'une mauvaise fixation sur le diagnostic.

Nous allons donc détailler les deux problèmes majeurs (la fixation prolongée et la sous fixation) qui peuvent compromettre la qualité fixation et nuire aux résultats de biologie moléculaire pratiqués sur les prélèvements mammaires.

1. Hypofixation :

53 participants affirment qu'une sous fixation ne peut être rattrapée et seulement 19 ont mentionné qu'elle est rattrapable par la suite.

L'Hypofixation ou fixation incomplète est délétère [37]. Elle peut concerner toute la pièce ou seulement la partie centrale car le fixateur ne pénètre que lentement les tissus (vitesse de quelques millimètres par heure) et si la pièce est épaisse et n'a pas été ouverte. La fixation étant incomplète, elle n'a pas pu empêcher les phénomènes d'autolyse spontanée du tissu. L'aspect morphologique est modifié, avec une difficulté à obtenir des coupes fines au microtome et une visibilité des noyaux moins bonne. L'immunomarquage est modifié mais sans correction technique possible [38,39] et la biologie moléculaire souvent impossible par induction des phénomènes d'apoptose.

Pour identifier le temps minimum nécessaire pour obtenir des résultats immunohistochimiques cohérents sur les récepteurs des œstrogènes (ER) une étude a été menée par Goldstein et al en 2003.

Des coupes de tissus de 24 carcinomes mammaires ER-positifs et invasifs ont été fixées pendant 3, 6, 8 et 12 heures et 1J,2J et 7 jours. Les valeurs ER ont été quantifiées à l'aide du score Q (0-7). Dans les blocs de fixation chronométrés, le score Q moyen par bloc était de 2,46

pour les blocs fixés pendant 3 heures, de 5,75 pour les blocs fixés pendant 6 heures et de 6,70 pour les blocs fixés pendant 8 heures [Fig 33.34 .35] . La différence entre les scores Q du bloc maximum et moyen du cas était un plateau de presque 0 à 6 à 8 heures de fixation au formol. Les scores maximum (max) des récepteurs d'œstrogènes (ER) se sont produits à 6–8 heures [40].

L'étude a donc conclu que le temps minimum de fixation au formol pour des résultats d'ER immunohistochimiques fiables est de 6 à 8 heures, quel que soit le type ou la taille de l'échantillon.

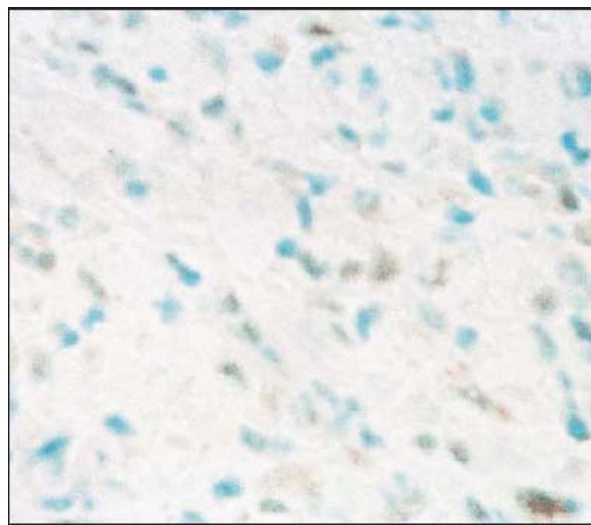


Figure 34 : Fixation à 3 h ; récupération d'antigène, 40 min.[40]

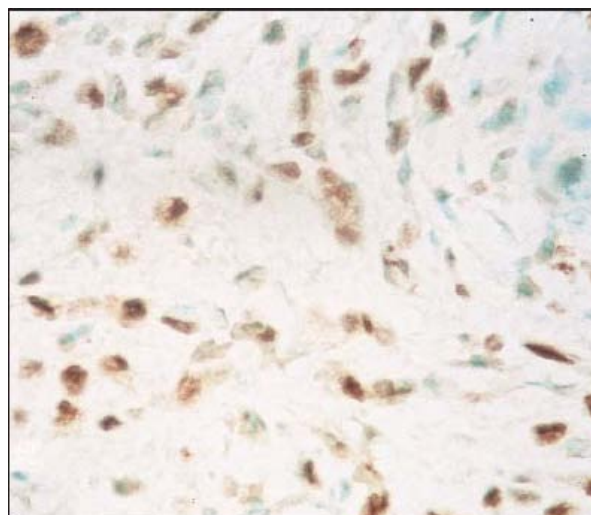


Image 35 : Fixation à 6 h ; récupération d'antigène, 40 min.[40]

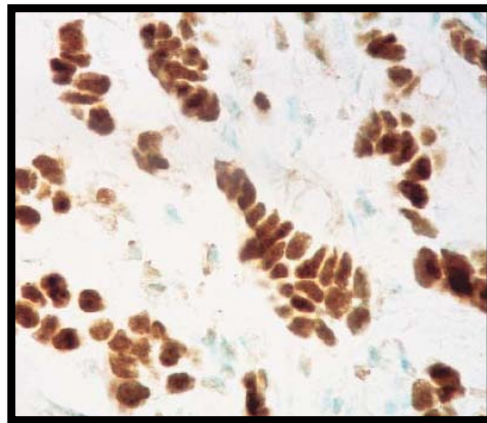


Figure 36 : Fixation à 8 h ; récupération d'antigène, 40 min.[40]

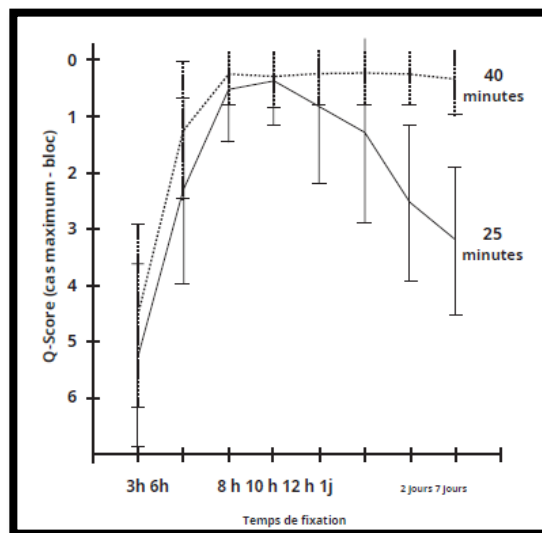


Figure37 : Plateau, les scores maximum (max) des récepteurs d'œstrogènes (ER) se sont produits à 6-8 heures. [40]

Plusieurs des sources jugent une durée de fixation de 72 heures acceptable et la plupart d'entre elles mentionnent qu'une fixation insuffisante est plus délétère qu'une sur fixation (plus de 72 heures)[42][43].

2. La fixation prolongée (Hyperfixation) :

Dans notre étude, 38 répondants pensent que la sur fixation est irréversible ,34 déclarent que la fixation prolongée peut être rattrapée.

L'hyperfixation commence au-delà de 72 heures de fixation. L'aspect morphologique n'est pas modifié et ne peut ainsi servir d'alerte au pathologiste, ce qui explique l'importance de connaître systématiquement les heures d'incision et de fixation. Elle induit une altération progressive des protéines, qui se traduit par une diminution progressive du nombre de cellules marquées et de l'intensité des immunomarquages comme les récepteurs hormonaux [44] [45]. Cette diminution d'immunomarquage peut être limitée en agissant sur les techniques de démasquage antigénique. Elle induit également des cassures de l'ADN et l'ARN en fragments de taille de plus en plus petite qui ne permettent plus une analyse moléculaire fiable.

Une étude menée en 2011 par Leung Chu Tong sur l'effet d'une fixation prolongée sur l'évaluation immunohistochimique du récepteur des œstrogènes, du récepteur de la progestérone et de l'expression HER2 dans les Cancer du sein [46].

Cette étude visait à examiner de manière prospective l'effet de la fixation > 72 heures sur ces tests. Dans 101 échantillons de cancer du sein invasif, le statut HR et HER2 a été comparé entre les blocs tumoraux subissant une courte période de fixation et ceux subissant une période de fixation prolongée cette étude montre que dans le cancer du sein invasif, la fixation tissulaire pendant une période juste au-delà de 72 heures n'entraîne pas une diminution de la sensibilité des dosages ER, PR ou HER2 IHC par rapport aux tissus fixés pendant une période plus courte [Fig37].

En outre, il suggère que la limite supérieure de 48 heures pour la fixation recommandée pour le test HER2 est trop rigide et qu'une période de 72 heures devrait être considérée comme sûre.

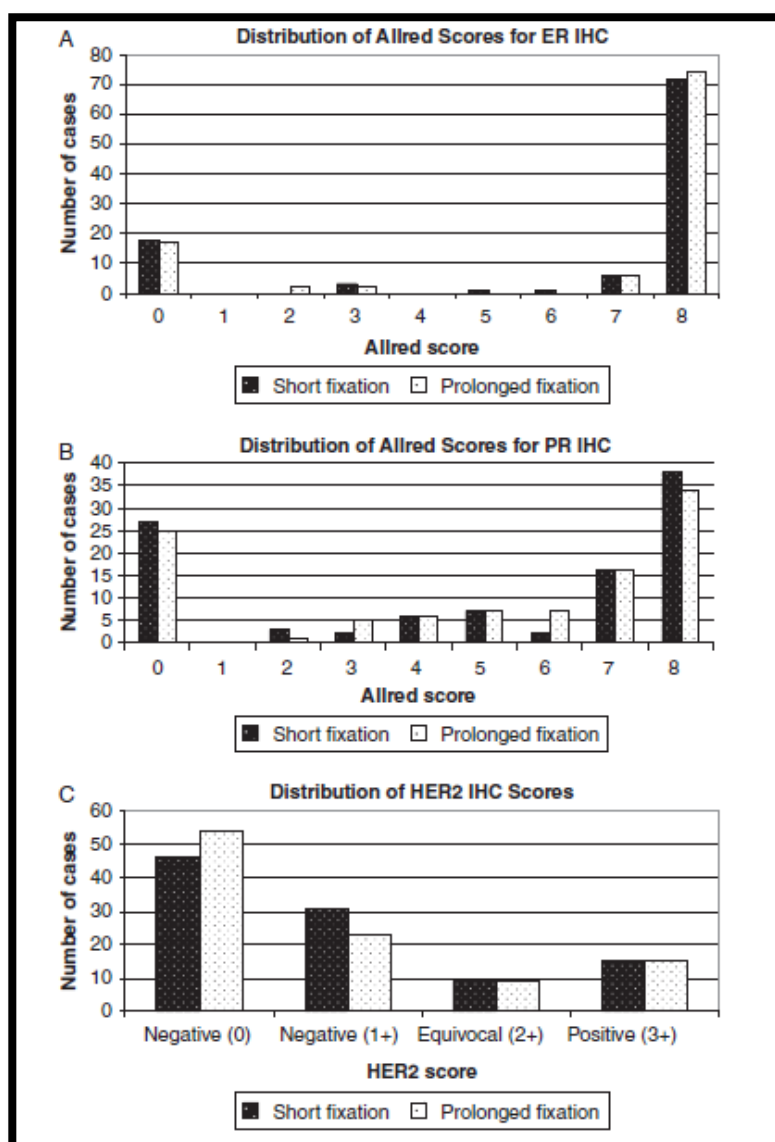


Figure 38. Distribution des scores (A) Allred pour la coloration ER ($P = 1.0$),(B) scores Allred pour la coloration PR ($P = 0,8625$) et (C) scores HER2 ($P = 1.0$)[46].

Selon l'étude , Il y a peu d'influence de la fixation prolongée sur l'immunoréactivité pour l'ERa Par contre une fixation incomplète pourrait être une cause d'hétérogénéité de l'immunoreactivité pour le ERa .

Un groupe de travail de la Société japonaise du cancer du sein a proposé des recommandations pour une évaluation adéquate des récepteurs hormonaux dans la pratique courante, afin de standardiser la manipulation des tissus, et des systèmes de notation [43].

Hanna *et al.* ont publié en août 2007 la mise à jour des recommandations du consensus national

Canadien pour la détermination du statut HER-2 dans le cancer du sein Une durée de fixation supérieure à 48 heures pour les mastectomies n'est pas un critère d'exclusion pour les analyses HER-2, en autant que le spécimen ait été adéquatement sectionné pour permettre la fixation adéquate. La sous fixation est plus dommageable que la sur fixation, et un spécimen avec une période de fixation inférieure à 6 heures ne devrait pas être soumis aux analyses HER-2.

VII. Acheminement du prélèvement :

Dans notre étude 68,1% des répondeurs ont déclaré que l'acheminement des prélèvements au laboratoire d'anatomie pathologie était assuré par les brancardiers , 49,3% affirment que cette tâche est faite par les patients et 20,3% assurent que les résidents s'occupe du transport au laboratoire .

1. Personnel :

Le transport des prélèvements du bloc opératoire au service d'anatomie pathologique doit être effectué par un personnel formé connaissant :

- Les règles d'hygiène et de sécurité en matière de transport de substances biologiques et chimiques
- Les dangers des produits transportés, et les précautions à prendre vis-à-vis des récipients (bidons, flacons, pots) qui doivent être maintenus hermétiquement fermés et dans leurs emballages de sécurité s'ils sont prévus (double sachets)
- Les mesures d'hygiène à respecter : ne pas fumer, se laver les mains après contact éventuels des récipients.

- Le plan général de l'hôpital et la localisation du service d'anatomopathologie (Les trajets les plus courts et les plus sûrs à emprunter).
- Les horaires d'ouverture des laboratoires et la procédure à appliquer en cas de dépôt de prélèvement en dehors des heures d'ouverture.
- En cas d'accident ou d'incident concernant les récipients transportés (chute, ouverture, bris, etc.) la conduite à tenir afin d'éviter une exposition, les personnes à contacter, les coordonnées du médecin du travail.

2. Délai de transport :

Si le délai de transport/réception entre le bloc opératoire et le laboratoire est long ou la pièce opératoire est de grande taille (mastectomie): plusieurs options sont possibles :

- Le chirurgien peut réaliser une tranche de la pièce opératoire centrée sur la tumeur. Cette tranche doit être réalisée à partir d'une face non importante pour l'appréciation de la qualité de l'exérèse chirurgicale, par exemple par la face profonde,
- Le transport à l'état frais dans une enceinte réfrigérée à 4°C. Il a été montré que l'on pouvait conserver les pièces opératoires à +4 °C pendant une durée de 4 h sans qu'il y ait de baisse significative d'expression de HER2 [47]. Il n'y a pas de données pour les pièces communiquées sur de la glace et le délai de 1 h semble devoir être respecté,
- La mise sous vide puis la conservation 48 h à 4 °C avant fixation dans le formol permet d'obtenir une bonne qualité en coloration standard [48].

3. Réception :

La réception d'un échantillon au laboratoire doit être consignée sur papier ou sur support informatique après enregistrement de l'échantillon pour l'obtention d'un numéro de laboratoire, qui est le même pour chaque prélèvement associé à l'échantillon principal. La date et l'heure de

réception des échantillons au laboratoire doivent être consignées, ainsi que l'identité de la personne ayant procédé à la réception [49][50].

Il est impératif que le personnel responsable de la réception des prélèvements au service d'anatomie pathologique vérifie les points suivants :

- La requête d'analyse est dûment complétée
- Le respect des conditions de conservation et de transport et la concordance des informations entre La requête et le contenant du spécimen.
- Il est déconseillé d'inscrire l'un après l'autre des noms identiques et/ou des spécimens semblables.
- Les données qui doivent être consignées sont la date de prélèvement, la date et l'heure de l'inscription, le numéro de laboratoire s'il n'est pas donné automatiquement, les nom et prénom du patient, le nom du médecin requérant, et le type d'échantillon.



Figure 39 : Réception des échantillons destinée au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Marrakech

VIII. LE TEMPS D'ISCHEMIE FROIDE :

Dans notre étude, 75% des répondeurs ont jugé que le temps d'ischémie froide ne doit pas dépasser 30min, 20,6 % du personnel ont choisi un temps entre 30min et 1 heure et rien que 5,9% préconisent un délai de plus d'une heure.

Pour commencer le temps d'ischémie froide est défini par le temps écoulé entre le moment où le prélèvement tissulaire est extrait du corps humain, par biopsie ou exérèse chirurgicale, et le moment où le tissu est au contact du fixateur. Ce temps doit être le plus court possible. Des délais supérieurs à 1 heure diminuent de manière non significative la détection du récepteur de la progestérone (RP) par IHC et ont un effet plus important sur la détection des signaux HER2 par hybridation in situ fluorescente (FISH) sur pièce opératoire.

Dans une étude faite par Thaer Khoury et al. du Département de pathologie, Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, NY. Sur les effets du retard de la fixation du formol (temps d'ischémie froide) sur les molécules du cancer du sein qui montre que le prolongement du temps d'ischémie froide a le potentiel d'être un facteur de confusion dans les dosages de biomarqueurs mammaires[50].

L'étude concernait 10 tumorectomie du sein reçus à l'état frais mis dans Formol à 0min, 10min, 30min, 1h, 2h, 4h, 8h, la nuit Immunohistochimie : Récepteur d'œstrogène (clone 1D5, DAKO, avec dilution 1:100 et récupération d'antigène TRS/Vector), récepteur de progestérone (PgR636, DAKO, avec dilution 1:100 et récupération d'antigène TRS/Steamer) et HER2 (polyclonal de lapin, DAKO, pré dilué avec solution de récupération d'épitopes) ont été effectuées

- o La Fluorescence In situ Hybridation a été réalisée à l'aide du kit de sonde ADN PathVysion HER2 (Vysis) essentiellement conformément aux recommandations du fabricant.

- Pour un Délai de 2h avant la fixation l'étude n'a pas démontré d'effet sur IHC Her2, mais les signaux Her2 dans la méthode FISH sont moins apparents à 2h rendent l'amplification difficile à affirmer [Fig39].

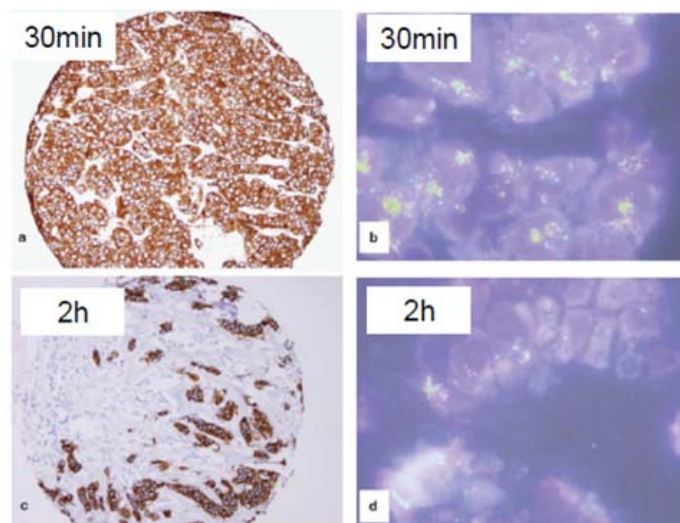


Figure 40 : Effet d'un délai de 2h avant la fixation au formol sur la détection des signaux Her2 par IHC et FISH selon [14] modifié.

Pour un délai de 4h avant la fixation, Il n'avait pas d'effet sur le Her2 en immunohistochimie mais l'étude morphologique montre un début autolyse cellulaire, par ailleurs la méthode FISH montre une perte des contours nucléaires et cellulaires avec disparition des signaux Her2 dans plus de 75% des cellules [Fig40].

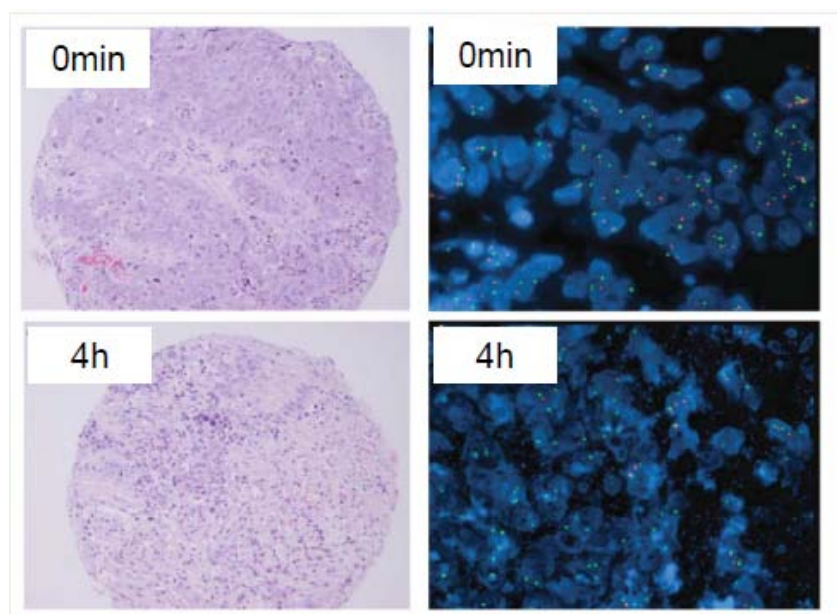


Figure 41: Effet d'un délai de 4h avant la fixation au formol sur la détection des signaux Her2 par IHC et FISH.

Il recommande alors que même si l'échantillon peut être soumis à un examen peropératoire pour un contrôle de la marge, un examen visuel macroscopique ou un prélèvement de tissu. Le délai avant la fixation ne doit pas excéder 1 heure.

Une autre étude publiée en 2009 par Qiu J, concernant 10 prélèvements mammaires appartenant à des patientes atteintes de cancer du sein reçus à l'état frais mis dans Formol Neutre Tamponné à 0min, 10min, 30min, 1h, 2h, 4h, 8h, la nuit ,une baisse du marqueur ER été observée en fonction de la durée d'ischémie froide .

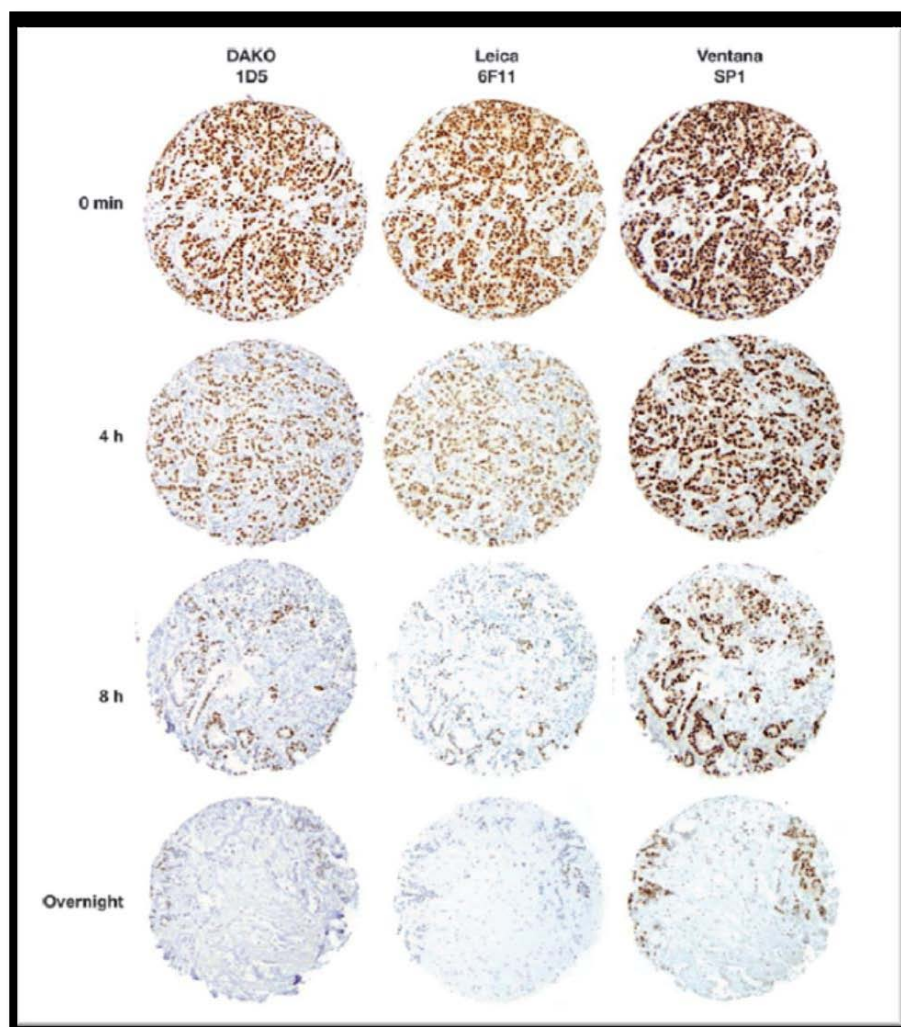


Figure 42 : Expression des récepteurs d'œstrogènes à 0 min ; 4h ; 8h et durant nuit. Expression des récepteurs de la progestérone à 0 min ; 1h ; 4h et à 8h. [26] modifié

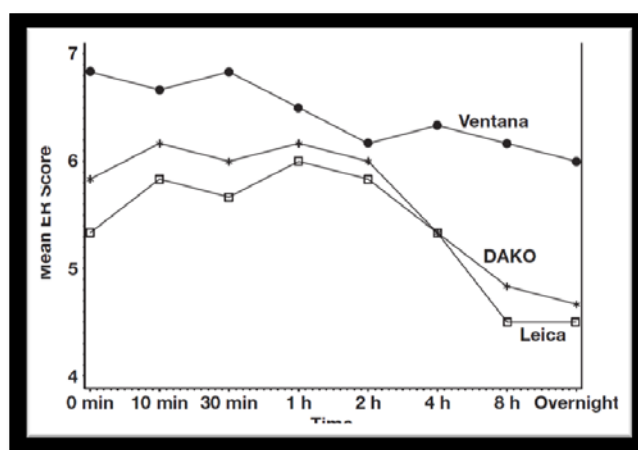


Figure 29 : Décroissance marquage ER en fonction durée ischémie froide et AC
Selon [26]

Dans les lignes directrices pour le testing ER et RP publiées en 2010 par l'ASCO/ACP, il est impératif que le temps d'ischémie froide tissulaire soit raccourci autant que possible, en particulier pas plus de 1h.

Pour les pièces opératoires, il est recommandé de trancher la pièce opératoire pour mettre en contact la tumeur avec le fixateur sinon celle-ci sera toujours en ischémie froide même après plusieurs heures de fixation au formol.

- Information auprès du préleveur (radiologiste, chirurgien, ibode, manip radio) ++++
- Diligence : mettre les prélèvements le + rapidement possible dans le fixateur
- Pour les prélèvements à l'état frais : adresser le + rapidement possible au laboratoire (respect délai < 1h)
- **Prédécouper les pièces opératoires mises dans le fixateur**
Si l'exérèse chirurgicale se fait dans un contexte carcinologique préférer un pré-découpage à partir de la face non importante pour l'appréciation des marges chirurgicales.
- Noter et faire noter l'heure de prélèvement et l'heure de mise dans le fixateur++++

Figure 43 : Comment maîtriser le temps d'ischémie froide selon [14]



➤ **PRESENTATION DU SERVICE D'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES**

L'anatomo-cytopathologie (ACP) est une spécialité médicale qui possède une identité particulière au carrefour de la clinique, de l'imagerie et de la biologie. Elle ne peut être exercée que par des médecins qualifiés en ACP.

Les multiples missions diagnostique, pronostique, prédictive, épidémiologique, de recherche et d'archivage font du médecin pathologiste un acteur de santé publique unique dans le système de soins. Son exercice très spécifique n'est comparable à celui d'aucune autre spécialité.

L'acte d'ACP a un impact médico-économique majeur et un Service Médical Rendu très élevé au regard de son faible coût.

❖ Un acte d'anatomie et cytologie pathologiques

C'est un acte médical effectué par un médecin spécialiste en anatomie et cytologie pathologiques. C'est un examen diagnostique, basé sur l'observation morphologique, notamment au microscope. Il s'appuie sur des techniques, standards ou spéciales, macroscopiques, histopathologiques, histochimiques, immunohistochimiques ou moléculaires. Il porte sur des cellules, tissus, organes ou leurs dérivés, prélevés chez les patients dans un but diagnostique de maladie ou de dépistage (prélèvements cytologiques ou biopsiques), thérapeutique (biopsies exérèses ou pièces opératoires) ou de suivi particulier. Il est aussi pronostique via le recueil des éléments clés de la réalisation de grades ou scores ; prédictif et à impact thérapeutique (théranostic, médecine personnalisée, parcours personnalisé de soin). Il est formalisé par un compte rendu textuel transmis aux médecins en charge du patient dans le cadre du soin.

❖ Le diagnostic ACP

Il est fondé sur la présence ou l'absence d'anomalies tissulaires ou cellulaires, macroscopiques ou microscopiques, par rapport à la normale ; synthétique, il intègre les éléments de la clinique (examen clinique, traitements en cours, antécédents, facteurs de risque, suivi...), les résultats des examens biologiques, d'imagerie et des tests fonctionnels. Le diagnostic s'étend à la nature, à la cause de(s) la maladie(s) d'un patient ; il est fondamental pour le diagnostic des tumeurs et incontournable dans la prise en charge thérapeutique personnalisée et le traitement ciblé des cancers ou de certaines maladies non cancéreuses. L'éventail des diagnostics ACP comporte, outre le cancer, celui des maladies de cause inflammatoire ou dégénérative, vasculaire, métabolique ou infectieuse, ainsi que des malformations (fœtopathologie).

Un examen d'anatomie et cytologie pathologiques se déroule en trois phases :

- **la phase pré-analytique :**

Le prélèvement est acheminé dans le service d'ACP. Il est accompagné d'une feuille de demande d'examen, qui est renseignée par le médecin demandeur et comporte les renseignements d'identité et de contexte clinique nécessaires au diagnostic. L'étape administrative d'enregistrement est importante et renseigne : identité, numéro d'examen et inventaire de prélèvements reçus.

- **la phase analytique :**

Les cellules ou fragments de tissus sont traités et rendus observables au microscope par création de préparations colorées sur lames. Après un premier examen microscopique, le médecin pathologiste peut compléter son diagnostic par la demande de techniques spéciales, basées sur des principes de chimie, histochimie, histoenzymologie, immunohistochimie, et biologie moléculaire.

- **la phase post-analytique :**

Le médecin pathologiste traduit son observation microscopique afin d'établir une interprétation contextuelle du résultat. Le compte-rendu est ensuite communiqué aux différents correspondants, par courrier papier et support informatique

❖ **Le service d'ACP du CHU Mohammed VI**

Le service d'ACP existe depuis 30 août 2001. Il s'est greffé sur le laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Ibn Tofail. Installé au début à l'hôpital Ibn Tofail puis transféré à l'hôpital Arrazi en juin 2014.

Le service centralise plusieurs types de prélèvements provenant des différents services du CHU Mohammed VI et des structures externes à savoir : Les cytologies, Biopsies et Pièces

opératoires, les Prélèvements d'autopsies, Les examens extemporanés, Les relectures internes et externes, L'immunohistochimie, L'immunofluorescence, La biologie moléculaire.

➤ **OBJECTIF DU MANUEL DE PRELEVEMENT**

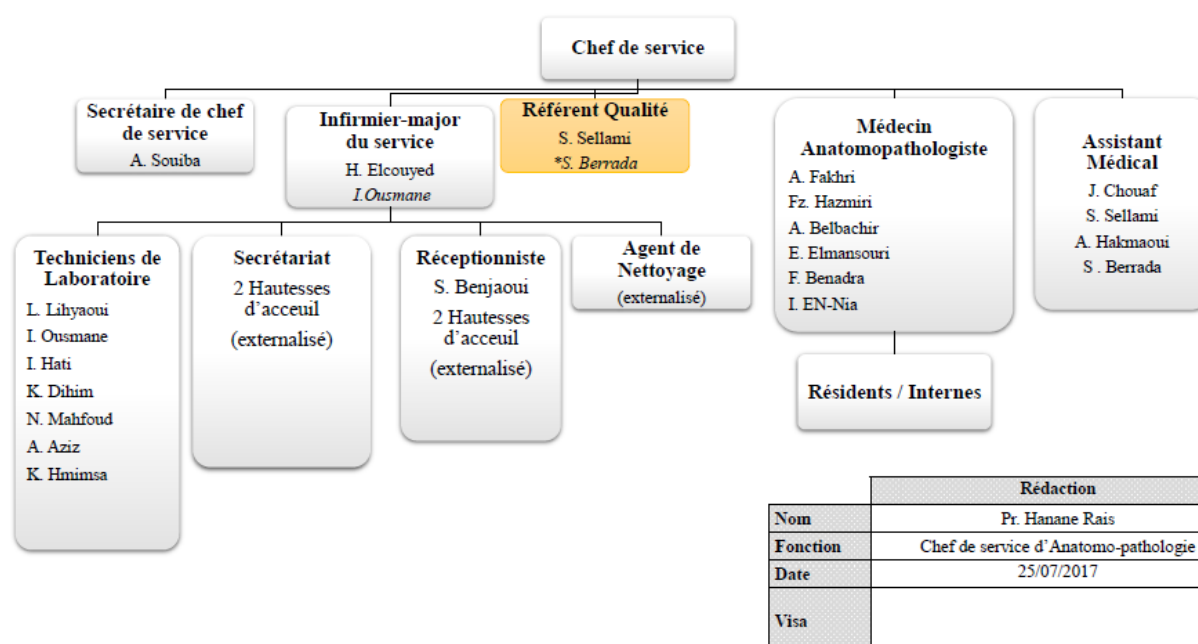
Le manuel de prélèvement du laboratoire ACP contient toutes les informations relatives à la manipulation (identification, demande, type de prélèvement, transport) et aux traitements des échantillons primaires (prélèvements) ainsi qu'aux conditions de fixations et 'acheminement préconisées (recommandées) pour garantir une meilleure prise en charge de ces prélèvements.

➤ **POPULATION CIBLE**

Ce manuel est un document mis à la disposition des clients du laboratoire d'ACP (patients, cliniciens internes et externes au CHU...) dans le but de fournir les informations précises concernant les processus pré-analytique pour obtenir des prélèvements dans des conditions optimales.

➤ **PRESENTATION DU LABORATOIRE**

Le centre Hospitalier universitaire Mohammed VI dispose d'un laboratoire d'ACP localisé au niveau de l'hôpital Arrazi. Les locaux sont composés : Réception, salle de macroscopie, salles techniques (Standard, Immunohistochimie, Immunofluorescence, Biologie Moléculaire), côté des bureaux et salles de réserve. Le CHU Mohammed VI est propriétaire des locaux et le chef de service en est le gestionnaire.



Renseignements administratifs : Service d'anatomie pathologique

Adresse : CHU Mohammed VI. Hôpital Arrazi. Av Ibn Sina Amerchich. BP 2360 Marrakech–principal

Télé : +212 (0) 524 300 629. webmaster@chumarrakech.ma

Heures d'ouverture :

Le Service est accessible en semaine de 8h00 à 16h00

Un personnel de la structure (pathologiste) est toujours disponible (accessible) durant les heures ouvrables pour conseiller les prescripteurs quant aux modalités des prélèvements ou aux choix d'analyse à effectuer mais également pour aider à interpréter le résultat des analyses.

Le laboratoire assure une garde d'astreinte pendant les week-ends prolongés, les jours fériés pour éviter la détérioration des prélèvements tissulaires et en cas de nécessité de service (urgence, transplantation...).

La réception des prélèvements se fait entre 8h30 et 14h30

Numéro de téléphone, adresses et courriels utiles :

Secrétariat :

Réception :

Major de service :

Liste des analyses

Analyses réalisées	Type de prélèvement	Type de fixateur	Délai de réponse
Etude Cytologique	Conventionnel (sur lames)		5 jours ouvrables
	Cytologie (liquide)		5 jours ouvrables
Etude histologique	Biopsies	Formol 4%	6 jours ouvrables
	Pièces opératoires	Frais : délai <10min Formol 4%	11 jours ouvrables
Examen extemporané	Tissu Frais : délai <10min		30 minutes
Immunohistochimie	Tissu fixés et inclus en paraffine		7 jours ouvrables
Immunofluorescence Deux biopsies	Une pour l'examen morphologique standard Une pour l'examen d'immunofluorescence	Formol 4% liquide de Michel	7 jours ouvrables
Biologie moléculaire : FISH CISH	Tissu fixés et inclus en paraffine		10 jours ouvrables
Biologie moléculaire : recherche de mutations	Tissu fixés et inclus en paraffine		10 jours ouvrables

➤ DELAI DE REPONSE

Ce délai est allongé en cas de nécessité diagnostique : recoupes, reprélèvement, colorations spéciales, analyse morphologique des clichés radiologique, discussion multidisciplinaire

❖ **Prescription**

Pour être accepté le prélèvement doit être accompagné d'une demande d'analyse. La prescription de cette demande est assurée par un professionnel habilité et doit répondre à une question clinique. Elle s'appuie sur les recommandations de bonnes pratiques et si nécessaire sur un échange entre clinicien et pathologiste.

Elle doit comporter les informations suivantes :

1. Identification univoque du patient : nom prénom âge sexe
2. Nom prénom, service ou adresse du prescripteur
3. Type et origine du prélèvement
4. Tous les échantillons sont identifiés de manière univoque
5. Date de la prescription et signature du prescripteur
6. Renseignements cliniques et exposé du problème
7. Données utiles à l'exécution des prestations et à l'interprétation des résultats, notamment :
 - a. La date et l'heure de prélèvement et l'heure de fixation. Ces données permettent d'évaluer le temps de fixation qui peut influencer la nature des résultats de certaines analyses
 - b. Signalisation d'éventuelles difficultés lors de la réalisation du prélèvement ou lors de sa fixation

Le formulaire de demande d'analyse sera disponible sur le site internet du CHU. Le laboratoire a la responsabilité de vérifier la concordance des informations présentes sur la demande et le prélèvement. Toute discordance ou absence d'information conduit à une procédure de gestion de prélèvement non conforme.

Certains prélèvements non-conformes aux indications reprises ci-dessus sont bloquants pour l'analyse alors que d'autres permettent l'analyse sous-réserve.

En cas de non-conformité bloquante, seule la correction des éléments manquants permettra la réalisation de l'analyse.

Le compte-rendu anatomo-pathologique comportera un descriptif textuel exhaustif de toute non-conformité, afin d'en assurer la traçabilité.

C H U Mohammed VI de Marrakech
Hôpital Arrazi
Demande d'examen anatomo-pathologique

SERVICE DEMANDEUR DE L'EXAMEN :

MEDECIN PRESCRIPTEUR : (nom, cachet et signature)

Identification :

Nom et Prénom du patient :

N° IP Du patient:

Sexe :

Date de Naissance :

Téléphone :

Date et heure du prélèvement:

Type de prélèvement

• Cytologie

–Conventionnelle ☐

– Nombre de lames :

–Milieu liquide ☐

– Nombre de flacons :

–Pour FCV :

DDR

Parité

• Histologie

–Biopsie ☐

– Biopsie exérèse ☐

– Pièce opératoire ☐

–Nombre de flacons :

–Fixateur :

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

EXAMEN COMPLEMENTAIRE:

Immunohistochimie ☐

Immunofluorescence ☐

Biologie moléculaire ☐

Important

L'imagerie est obligatoire pour les tumeurs du système nerveux central, tissu mou et tissus osseux

Le prélèvement doit être correctement identifié :

➤ **IMPERATIFS AU BLOC OPERATOIRE**

- o Orienter les pièces opératoires avec schéma
- o Fournir les renseignements cliniques et para cliniques précis.
- o Signaler les rapports anatomiques avec les organes voisins, le type d'intervention...
- o Biopsies des tumeurs osseuses ; des tumeurs des parties molles et vertébro-cérébrales doivent être adressées avec un dossier radiologique
- o Fixation des prélèvements tissulaires
 - Formol dilué à 4%+++ (fournis par le service d'anatomie pathologique aux autres services hospitaliers)
 - Immerger immédiatement le prélèvement dans le liquide fixateur et agiter le récipient pour éviter que le prélèvement ne colle à la paroi du récipient.
 - Quantité du formol :
 - o 3 fois le volume de la pièce opératoire
 - o 10 fois le volume de la biopsie
 - Ne jamais congeler un prélèvement
 - Ne jamais le mettre dans de l'eau ou dans de l'alcool
 - Étiqueter le flacon
 - o Nom (patronymique et marital), prénom
 - o Numéro d'entrée
 - o Type du prélèvement
 - Remplir la fiche de liaison par le médecin demandeur:
 - o Nom (patronymique et marital), prénom, sexe, âge
 - o Nom du médecin préleveur et ses coordonnées
 - o Service de consultation ou d'hospitalisation

- o Antécédents pathologiques du patient
- o Histoire clinique
- o Siège et type du prélèvement
- o Date et l'heure du prélèvement
- o Recherches particulières à réaliser
 - Acheminement immédiat des prélèvements frais : cytologie, extemporané.....

➤ **RECEPTION**

- La procédure d'enregistrement répond aux règles de numérotation applicables à la demande d'examen et aux prélèvements associés
- Débute à 8h30min
- Le numéro d'enregistrement figure sur les formulaires de demande d'examen, sur les flacons, sur les lames cytologiques et sur les dossiers radiologiques des accompagnants
- Chaque prélèvement est enregistré et porte un numéro qui sert de référence lors de toutes les étapes techniques et d'analyse conduisant au diagnostic, au compte rendu. Ce numéro, permet l'identification ; la traçabilité et l'archivage
- Un mode d'enregistrement des cas adressés pour consultation et relecture est établi
- La réceptionniste enregistre pour chaque examen sur diamic et sur un registre annuel :
 - o Les identifiants dossier patient ;
 - o La date de prélèvement ;
 - o La date d'enregistrement ;
 - o Le service et la structure d'origine, le médecin préleveur
 - o Les caractéristiques du prélèvement (type, organe/région anatomique, etc.).

- La procédure d'enregistrement permet de déceler toute anomalie d'identification, d'acheminement ou de transmission.
- La gestion des prélèvements non-conformes fait l'objet d'une procédure spécifique. Les causes des non-conformités sont périodiquement analysées et des solutions sont recherchées avec les médecins demandeurs.
- Tous les tissus biologiques sont considérés comme potentiellement infectieux ; il faut donc leur appliquer les mesures préventives de base. Les pots doivent être hermétiquement fermés et propres.
- Une fois fixé, le prélèvement ne nécessite pas de conditions de conservation particulières et sera transmis le plus rapidement possible au laboratoire, idéalement le jour même.
- Le registre d'enregistrement journalier et le dossier informatique Diamic, correspondant à la liste des demandes d'examens enregistrées chaque jour, est disponible. Il permet la correspondance entre le numéro d'enregistrement du prélèvement et les identifiants patient.
- La tenue d'un cahier de liaison est de mise avec les services hospitaliers lors de l'acheminement des prélèvements, des clichés radiologiques et lors de la remise des comptes rendus anatomopathologiques et des clichés radiologiques.
- La réceptionniste recherche les antécédents du patient dans le service d'anatomie pathologique
 - o Un même dossier médical doit être analysé par le même anatomopathologiste
 - o Remise du compte rendu et validation sur Hosix (système d'information hospitalier)

➤ **CONDITIONNEMENT**

- Etape fondamentale consistant en la mise en condition des pièces opératoires pour favoriser la pénétration du formol dans les tissus

- oDébarrasser les pièces du sang, du mucus, des matières fécales
- oOuvrir les organes creux selon les repères anatomiques
- Estomac ouvert selon la grande courbure
- Colon ouvert selon le bord anté mésentérique
- oEpingler les lésions et les organes creux sur liège
- opratiqner des sections dans les tumeurs solides et les organes pleins en feuillet de livre et les masses mi-kystiques mi-solides
- **FIXATION DES SPÉCIMENS**
 - oÉtape cruciale dans la préparation des échantillons à l'examen histologique.
 - oLes objectifs:
 - Empêcher l'autolyse et la putréfaction des tissus prélevés.
 - Figér les constituants tissulaires assez rapidement afin de leur conserver forme et Structure dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.
- **Choix du fixateur**
 - oLe meilleur fixateur courant est le formol (solution de formaldéhyde de 4 à 10%).
 - oIncolore ; pénètre rapidement dans les tissus (10 mm en 24 heures). Utilisé pour toutes les pièces opératoires (sein, utérus, estomac, côlon)
- **Conditions d'une bonne fixation**
 - oUtiliser une quantité suffisante de fixateur pour immerger totalement la pièce
 - oUtiliser des récipients suffisamment larges pour éviter les déformations des pièces
- **Durée de la fixation**
 - oVariable selon l'épaisseur du fragment biopsique et le volume des pièces
 - o4à 6 heures pour les petites biopsies, 12 à 48 heures pour les gros fragments
 - oMauvaise fixation : fixateur médiocre, de quantité insuffisante, retard à la fixation, peut rendre l'interprétation difficile voir impossible

- o Fixation trop prolongée altère le résultat des techniques immuno-histochimiques

- Le délai avant fixation (= temps d'ischémie) doit être le plus court possible et ne pas dépasser 1h.

➤ **MACROSCOPIE :**

- C'est le pathologiste et le technicien de macroscopie qui procèdent à l'étude macroscopique et à la recherche des lésions, rendues plus visibles par la fixation
 - o Inclusion des biopsies : technicien de macroscopie
 - o Pièce opératoires : pathologiste et le technicien de macroscopie
- Les objectifs de la macroscopie des pièces opératoires sont :
 1. décrire, mesurer et/ou peser la pièce opératoire et la lésion
 2. photographier les lésions didactiques
 3. prélever des échantillons représentatifs de la lésion
 4. préciser la taille des lésions, leur extension, les limites d'exérèse
 5. décalcification des tissus osseux et des prélèvements calcifiés
- Rapporter les Constatations macroscopiques sur le compte rendu anatomopathologique
- échantillons tissulaires placés dans des capsules perforées (cassettes) qui contiennent, en plus du spécimen, le numéro d'identification
- Les matériaux utilisés pour les prélèvements sont considérés comme potentiellement infectieux et sont éliminés selon les normes en cours des outils tranchants

➤ **CONFECTION DES PRÉPARATIONS HISTOLOGIQUES**

Diverses étapes techniques du spécimen à la lame histologique.

- a. Inclusion : automate d'inclusion
 - *La déshydratation* des prélèvements : série de bains d'alcool de concentration croissante (70 à 100%)
 - *L'éclaircissement* : solvant organique (toluène ou xylène) pour éliminer l'alcool et rendre les tissus transparents
 - *L'imprégnation* des fragments par la paraffine pure liquéfiée
 - *durée de l'inclusion* : 16H
- b. Mise en bloc
 - *Consiste à laisser refroidir les prélèvements imprégnés de paraffine dans des moules spéciaux.*
- c. Confection des coupes: étape manuel/technicien spécialisé
 - *Microtomie* : *débite le bloc en très fins rubans de 4 µ.*
- d. Étalement des rubans sur les lames de verre comportant le numéro d'enregistrement
- e. Déparaffinage+ Coloration des préparations+Montage des lames→automatisé
- f. Lecture des lames

➤ **TECHNIQUES SPÉCIALES : colorations spéciales**

Diverses réactions chimiques permettent de mettre en évidence des substances particulières

Les plus couramment utilisées :

Technique d'imprégnation argentique, adénome hypophysaire, BOM

Rouge Congo : biopsie salivaire et rectale : sur demande médicale

Biopsie rénale, musculaire et hépatique : imprégnation argentique, picosirus, Acide périodique de Schiff

Autres : Ziehl, Giemsa, Belu Alcian, Perls, Orcéine, Grocott, Fontana selon les lésions étudiées

Examen extemporané

L'objectif d'un examen extemporané est d'orienter le chirurgien au cours de son intervention afin qu'il puisse, en fonction du résultat de l'examen extemporané, adapter et éventuellement modifier le geste chirurgical prévu.

La technique histologique de cet examen est basée sur une coupe en congélation réalisée à l'aide d'un cryostat. La coupe qui en résulte est de moins bonne qualité qu'une coupe histologique classique. Le diagnostic devra donc toujours être validé par la lecture du prélèvement après fixation et enrobage en paraffine.

Une fois le prélèvement reçu (frais), il faut compter entre 15 et 45 minutes pour que puisse être transmis un résultat (le délai dépend du nombre de prélèvements extemporanés à prendre en charge au même moment).

En pratique :

- Acheminer le prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire et mentionner sur le bon de demande le numéro de téléphone de la salle opératoire.
- Le résultat est transmis par le pathologiste par téléphone dans les 30 minutes maximum sauf si un nombre important de prélèvements à réaliser en extemporané parvient simultanément au laboratoire.
- Après fixation au formol et analyse histologique classique, le résultat de l'examen extemporané sera intégré au compte rendu final et disponible après validation définitive.

Prélèvements urgents :

Les prélèvements urgents sont acheminés directement à l'infirmier major de l'ACP ; la notion d'urgence est mentionnée sur la demande d'analyse et le médecin prescripteur contacte le pathologiste référent du domaine.

Hors week-end et jours fériés, un résultat basé sur l'analyse histologique classique du prélèvement est transmis par téléphone le lendemain de la réception du prélèvement (pour autant que celui-ci soit réceptionné par l'ACP à 12h30 au plus tard).

L'examen macroscopique et l'analyse microscopique font l'objet d'un compte-rendu édité dans le logiciel Diamic, logiciel propre à l'ACP et rendu accessible (via passerelle informatique) dans le dossier médical du patient.

Examen cytologique

L'examen cytologique concerne les prélèvements qui se présentent sous forme liquide ou d'un étalement. L'examen cytologique fera appel à diverses procédures techniques, spécifiques au type d'échantillon reçu.

Il est particulièrement important de veiller à l'utilisation des fixateurs et contenants adéquats afin de permettre une prise en charge optimale de l'échantillon.

Si celui-ci est volumineux (ex: liquide d'ascite), seule une partie du produit est analysée. Si l'échantillon est peu abondant, tout le matériel est analysé.

a. « Frottis » cervico-utérins

Ces prélèvements sont en réalité des brossages mis en suspension (par agitation de la brosse) par le gynécologue dans un milieu liquide de préservation : Les échantillons sont ensuite traités selon la méthode Novacyte. Si une analyse en biologie moléculaire est nécessaire (typage HPV), le laboratoire utilise l'échantillon contenu dans ce même flacon, dont une partie seulement a été utilisée pour l'analyse cytologique initiale.

Après avoir détaché la brosette qui a été utilisée pour réaliser le prélèvement, celle-ci est agitée dans un tube à fond conique et bouchon orang, NOVAPREP Gyn Vial Test. Ce tube est fourni par le laboratoire et est donc disponible sur simple demande (Tél major :.....).

Les disposables (brosette, flacon) sont fournis par le laboratoire sur simple demande (Tél major :).

La durée maximale de préservation dans ce milieu est de trois mois.

b. *EBUS* (endobronchial ultrasound biopsy)

Formulaire de demande « de routine »

Fixation : Rinçage de la seringue dans un tube formol 4% pour réalisation d'un cytobloc par technique histogel.

Lames (optionnel) : étalement immédiat avec séchage à l'air pour la moitié des lames, les autres lames sont étalées et fixées au spray.

c. *Liquide pleural, péritonéal*

Est confié frais au laboratoire, dès que le prélèvement est réalisé. Si le prélèvement est réalisé hors jours ouvrables, il est préférable de fixer le liquide avec de l'éthanol à 50% (non fourni par le laboratoire ; 1 volume d'échantillon pour 1 volume de fixateur, minimum 2 tubes). A défaut, au minimum placer l'échantillon au frigo.

d. *Ponctions de sein, ganglions, cavités intra-articulaires ou organes profonds*

Ces prélèvements peuvent nous parvenir soit sous forme d'étalements sur lames, fixées à la laque, soit sous forme liquide : l'échantillon est alors placé dans un tube à fond conique et bouchon gris, NOVAPREP Non Gyn Vial Test. Ce tube est fourni par le laboratoire et est donc disponible sur simple demande (Tél major :.....).

e. Brosages bronchiques, pancréato-biliaires, œsophagiens

Après avoir détaché la brosse qui a été utilisée pour réaliser le prélèvement, celle-ci est agitée dans un tube à fond conique et bouchon gris, NOVAPREP Non Gyn Vial Test. Ce tube est fourni par le laboratoire et est donc disponible sur simple demande (Tél major :.....).

f. Urines

Le produit des lavages vésicaux est placé dans des flacons contenant de l'éthanol à 50% (un volume d'alcool pour un volume d'urines). L'éthanol n'est pas fourni par le laboratoire. Le prélèvement peut également (en jours et horaires ouvrables) être apporté, dès obtention, au laboratoire.

g. Liquide céphalo-rachidien (LCR)

Ces prélèvements doivent parvenir frais, le plus rapidement possible, au laboratoire. A défaut, au minimum placer l'échantillon au frigo.

h. Lavage bronchique

Les lavages sont placés dans un flacon type biopsie (capuchon rouge) qui renferme du formol 4% pH neutre.

Les prélèvements urgents sont acheminés directement au laboratoire d'ACP; la notion d'urgence est mentionnée sur la demande d'analyse et le médecin prescripteur contacte le pathologiste référent du domaine.

Analyses d'Immunofluorescence direct

Consiste à coupler l'anticorps et un fluorochrome ayant la propriété de stocker des photons émis par une lampe à lumière ultraviolette et de réémettre ces photons sous forme d'une brillance verte appelée fluorescence. La technique s'applique à des tissus congelés coupés au cryomicrotome.

Elle est utilisée depuis 2009 pour le diagnostic des pathologies cutanées et rénales.

o milieu de transport de Michel

o tubes fournis par le laboratoire avec date de péremption

o les tubes doivent être gardés au frigo à 4°C

o les prélèvements doivent être immédiatement mis dans le milieu de Michel

o transmission au laboratoire de l'ACP dans les 24h

Analyses immunohistochimiques

Elles permettent la visualisation des constituants cellulaires à l'aide d'anticorps spécifiques dirigés contre ces constituants ou sites antigéniques. Elles sont réalisées comme complément diagnostique ou après demande du clinicien par une demande normale écrite indiquant les références de l'examen primaire.

La plupart des analyses immunohistochimiques sont du ressort exclusif du pathologiste qui les prescrit en fonction des nécessités diagnostiques.

Certaines analyses néanmoins doivent absolument être demandées par le médecin prescripteur de l'analyse : la recherche d'expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone et la recherche de sur-expression du récepteur HER2 et éventuellement l'expression du Ki67, dans le cadre du cancer du sein. La recherche d'expression du récepteur c-Kit, dans le cadre des tumeurs stromales du tractus gastro-intestinal (GIST).

Facteurs pronostiques et prédictifs du cancer du sein

L'expression des récepteurs hormonaux (récepteurs des œstrogènes et récepteur de la progestérone) sont des facteurs prédictifs quant à la réponse au traitement anti-hormonal (par ex, le tamoxifène). Ils sont recherchés systématiquement pour tout nouveau diagnostic de cancer mammaire ou après traitement adjuvant, afin de vérifier une éventuelle modification de leur statut par le traitement.

La sur-expression du récepteur HER2 est non seulement un facteur pronostique mais il comporte également un caractère prédictif puisqu'il est directement corrélé à la réponse au

traitement par thérapie ciblée anti-HER2 (Trastuzumab). Une sur-expression équivoque détectée en immunohistochimie doit être validée par la recherche d'une amplification du gène par FISH.

Outre les éléments mentionnés dans le formulaire de demande d'examen d'anatomie pathologique, le prescripteur mentionne explicitement sur la demande d'analyse qu'il souhaite, si l'échantillon aboutit au diagnostic de néoplasie mammaire, que soient recherchés les facteurs pronostiques/prédictifs :

- Récepteurs hormonaux ER et PR
- Sur-expression du récepteur HER2
- Et indice de prolifération Ki67

En pratique :

- o L'analyse immunohistochimique est réalisée à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée est comprise entre 6 et 48 heures et le délai avant fixation doit être le plus court possible ; en aucun cas, il ne peut excéder 1h. La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.
- o Pour les prélèvements ayant nécessité une décalcification, l'analyse est réalisée mais nous ne pouvons garantir la validité du résultat.
- o Pour des blocs envoyés de l'extérieur, aucun conditionnement particulier n'est nécessaire ; le compte-rendu anatomo-pathologique doit être associé. Le médecin prescripteur vérifie la fixation adéquate du prélèvement.
- o Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique ou fera l'objet d'un protocole additionnel. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

Analyses en biologie moléculaire

Ces analyses s'effectuent à partir de prélèvements d'**histologie**. Le bloc en paraffine à analyser est accompagné d'une lame colorée à l'hémalun-éosine pour la recherche de mutation EGFR, BRAF, KRAS, NRAS.

Pour la recherche de génotypage d'HPV, elle s'effectue sur frottis cervico-utérin en milieu liquide.

La technique utilisée consiste en une *extraction, PCR et analyse par Genomica, selon une méthode microarray*.

Le délai de réponse : est de 10 jours ouvrable.

La recherche d'**amplification du gène HER2**

- o S'effectue à partir de blocs en paraffine
- o Les lames d'immunohistochimie déterminant le score de la protéine Her-2/Neu doivent être envoyées en même temps que le bloc.
- o La technique correspond à la méthode Chromogène ou fluorescence in situ hybridization respectivement *manuelle ou Automate OMNIS*.

Le délai de réponse : est de 10 jours ouvrable.

Analyse des mutations EGFR

Domaine d'application :

Des mutations activatrices du domaine tyrosine Kinase de l'EGFR situées dans les exons 18 à 21 ont été mises en évidence chez environ 10% des patients atteints de cancer du poumon non à petite cellules. Les patients porteurs de ces mutations présentent une meilleure réponse aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR (EGFR-TKI), notamment au gefitinib. D'autres mutations, particulièrement celles situées dans l'exon 20 sont quant à elles associées à une résistance aux EGFR-TKI.

Aspects pratiques :

- o Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ou « cell block » ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 48 heures. La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande. **Les prélèvements fixés avec fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**
- o Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomo-clinique complet doit être associé.
- o Une demande d'analyse de biologie moléculaire doit être remplie par le prescripteur.

Remarque : Toutes les informations demandées sur l'échantillon sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.

- o Les tests sont réalisés une fois par semaine et le délai de réponse est de maximum 15 jours.
- o Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

Analyse KRAS

Domaine d'application :

Les 7 mutations les plus fréquentes dans les codons 12 et 13 du gène K-RAS sont liées à la résistance au traitement anti-EGFR (Panitumumab) dans le cadre du cancer colorectal.

Aspects pratiques :

- o Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 48 heures. La date et l'heure de fixation

doivent être indiquées sur la feuille de demande. **Les prélèvements fixés avec fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**

- o Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomo-clinique complet doit être associé.
- o Une demande d'analyse de biologie moléculaire doit être remplie par le prescripteur.

Remarque : Toutes les informations demandées sur l'échantillon sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.

- o Les tests sont réalisés tous les 8 jours et le délai de réponse est de maximum 16 jours.
- o Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire

Analyse BRAF

Référence de la séquence : NT_007914.14

Domaine d'application :

La mutation du gène BRAF est fréquente dans un grand nombre de cancers tels que les cancers colorectaux, les carcinomes papillaire de la thyroïde ou les mélanomes. Dans les carcinomes papillaires de la thyroïde la présence de la mutation BRAFV600E est corrélée au diagnostic et au pronostic. Dans les cancers colorectaux la présence de cette mutation est liée à la résistance au traitement anti-EGFR (Panitumumab). Enfin, dans le cadre du mélanome, la présence de la mutation BRAFV600E est un critère obligatoire d'inclusion pour les patients qui intègrent les essais cliniques de phase II et III pour un inhibiteur sélectif de BRAF.

Aspects pratiques :

- o Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 48 heures. La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande. **Les prélèvements fixés avec fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**
- o Si les blocs sont envoyés de l'extérieur, il ne faut pas de conditionnement particulier ; le protocole anatomo-clinique complet doit être associé.
- o Une demande d'analyse de biologie moléculaire doit être remplie par le prescripteur.

Remarque : Toutes les informations demandées sur l'échantillon sont primordiales afin de garantir la qualité optimale des résultats.

- o Le résultat est intégré au protocole anatomo-pathologique. Le médecin signataire est disponible pour tout renseignement complémentaire.

Analyse FISH ALK

Domaine d'application :

Les réarrangements du gène ALK (Anaplastic lymphoma kinase) sont des altérations génétiques qui ont été observées dans différents types de cancer dont les NSCLC. La présence d'un tel réarrangement dans le NSCLC est associée à une réponse thérapeutique crizotinib, un inhibiteur de ALK.

Aspects pratiques :

- Les tests sont réalisés à partir de blocs en paraffine ; les tissus (biopsies ou pièces opératoires) ayant été préalablement fixés au formol 4% pH neutre. La durée de fixation recommandée varie entre 6 et 48 heures. La date et l'heure de fixation doivent être indiquées sur la feuille de demande.

Si le fixateur ou le temps de fixation n'est pas précisé, l'analyse sera effectuée mais le prélèvement sera considéré comme non-conforme. **Les prélèvements fixés avec fixateur autre que le formol ou décalcifiés ne seront pas acceptés.**

Récapitulatif des critères de non-conformité pour la technique FISH ALK : **Nature**

de la non-conformité	Niveau
Utilisation d'un mauvais fixateur (autre que le formol tamponné 4%)	Bloquant
Prélèvement décalcifié	
Délai avant fixation supérieur à 1 heure ou non mentionné	Non
	Bloquant
Temps de fixation non renseigné	
Prélèvement coloré à l'éosine	

➤ **ANALYSE DES LAMES ET REDACTION DU COMPTE-RENDU**
ANATOMOPATHOLOGIQUE

Etape purement médicale

L'anatomo-pathologiste examine l'ensemble des documents et rédige un compte rendu. Il rappelle l'identité du malade, les questions qui lui sont posées par le clinicien, décrit les lésions qu'il a observées et, dans la conclusion, pose le diagnostic.

Il est possible qu'une conclusion formelle ne soit pas possible (prélèvement n'a pas intéressé la lésion, ou la qualité technique du spécimen (séché, mal fixé, décongelé...) ne permet pas un examen de fiabilité suffisante. L'anatomo-pathologiste le signale.

Si plusieurs diagnostics sont possibles, il les énumère, en précisant leur ordre de probabilité.

Il est fréquent qu'à ce stade, il confronte ses hypothèses avec celles du clinicien par un contact téléphonique.

Le compte-rendu est imprimé, daté et signé.

➤ **PROBLEME D'UNE LESION DE DIAGNOSTIC DIFFICILE ?**

Standard : pas d'attitude standard

Options

- Recoupes de blocs et/ou l'utilisation de techniques spéciales (histologique ; immunohistochimie et biologique moléculaire),
- l'obtention d'informations complémentaires auprès du clinicien, la demande d'un autre avis anatomo–cytopathologique localement, la consultation de bases de données,
- la demande d'un nouveau prélèvement par le médecin préleveur,
- la demande d'avis auprès d'un consultant extérieur expert dans le domaine sont possibles

Recommandation

En fonction des cas, les différentes options peuvent être associées. Le recours à une consultation extérieure auprès d'un pathologiste expert sera envisagé si les étapes précédentes n'ont pas permis d'établir le diagnostic.

➤ **LA SAISIE DU COMPTE RENDU ANATOMOPATHOLOGIQUE**

La version informatique du compte rendu anatomopathologique est saisie par une secrétaire de rédaction sur le logiciel DIAMIC (initialement sur le logiciel file maker).

Les comptes rendus anatomopathologiques sont archivés par année depuis 2001 et par type de prélèvement

Histopathologie

Immunohistochimie

Immunofluorescence

Extemporane

Récepteurs hormonaux et Her2

Relecture

L'archivage des données informatique est réalisé à l'aide de CD et de disque dure externe

➤ **LA REMISE DES COMPTES RENDUS ANATOMOPATHOLOGIQUE**

Le compte rendu anatomopathologique est remis sellé au patient (reçu de paiement ou de gratuité pour les externes) ou au service hospitalier (numéro d'entrée et cahier de liaison)

Heure de remise des comptes rendus : A 12H de la journée

➤ **ARCHIVAGE**

- o **Compte–rendu anatomopathologique** : conservé pendant 30 ans

- o 70 ans dans certaines disciplines (oncologie)

- o indéfiniment s'il s'agit d'une affection de nature héréditaire susceptible d'avoir des répercussions pathologiques ou traumatisantes sur la descendance

- o **Les préparations (lames et blocs de matériel inclus) :**

- o au Minimum 30 ans.

- o Des analyses complémentaires sont possibles à partir des blocs inclus en paraffine (IHC, colorations spéciales...) sans limitation dans le temps puisque les blocs sont conservés depuis l'ouverture du service

- o **Liquide cytologique** : garder une semaine après la sortie du compte rendu cytologique

➤ **STOCKAGE DES ECHANTILLONS EXAMINES–ANALYSES COMPLEMENTAIRES. .**

Après analyse, les pièces opératoires fixées sont conservées 3 mois (plus le mois en cours) dans une armoire de sécurité ventilée (dans le cas où il y aurait besoin d'effectuer un prélèvement supplémentaire) avant d'être éliminés par filière pour incinération.

Une photocopie du bon d'élimination des pièces opératoires est conservée et archivée dans le service. Pour les déchets anatomiques identifiables (voir schéma protocole), Les pots des

biopsies et des cytologies sont conservés en containers carton pendant 2 semaines après technique des échantillons (preuves d'identification, de réception...) avant d'être éliminés par la filière déchets.

La conservation de ces éléments s'effectue dans des conditions appropriées assurant leur intégrité et des containers spécifiques sont utilisés pour leur élimination selon des règles rigoureuses en matière d'hygiène et de sécurité.

➤ **CONCLUSION**

L'anatomie pathologique est une spécialité médicale très riche, au carrefour de la clinique, de la chirurgie, de l'imagerie, de la biologie et de la recherche. Axée sur le diagnostic lésionnel morphologique, elle exerce un rôle pivot dans la chaîne des soins. Les médecins pathologistes sont fortement impliqués dans les diagnostics, le pronostic et les indications thérapeutiques, notamment mais pas uniquement en cancérologie. Ils sont un passage indispensable pour affirmer le diagnostic de cancer. La responsabilité du diagnostic est partagé entre cliniciens, chirurgiens et radiologue d'où la nécessité d'une collaboration multidisciplinaire.

Cette spécialité se sert des connaissances fondamentales d'anatomie, d'histologie et de cytologie normales pour reconnaître des anomalies morphologiques macroscopiques et microscopiques liées à la maladie. Elle s'appuie sur des techniques de dissection, de chimie, d'histochimie, d'immunohistochimie, de cytogénétique et de biologie moléculaire pour identifier dans les cellules ou les tissus des anomalies jusqu'à l'échelle moléculaire.

Il s'avère indispensable de développer la biologie moléculaire et la cytogénétique et de profiter de son apport actuel et crucial dans le diagnostic anatomopathologique essentiellement en cancérologie.

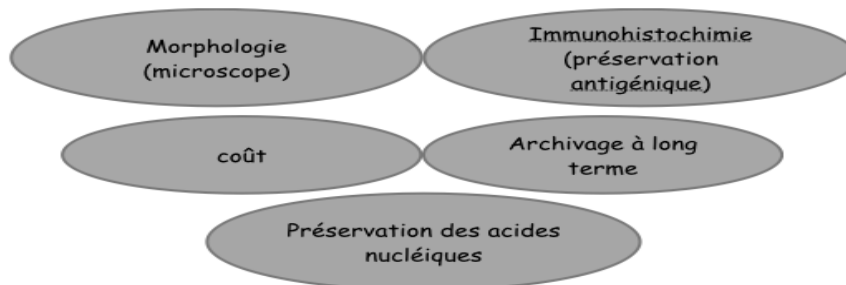
Fiches de synthèse

Ministère de la Santé
CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI
Service d'Anatomie Pathologique
MARRAKECH



وزارة الصحة
المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس
مستشفى المراكشي
مصلحة التشريح المرضي - مراكش

Formol à 4% : le fixateur de référence



Préparation de solution de formaldéhyde prête à l'utilisation

Préparation automatisée



Proscrire le Bouin



Dotation mensuelle de formol à l'ensemble des services et blocs opératoires du CHU MOHAMED VI de Marrakech

Ministère de la Santé
CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI
Service d'Anatomie Pathologique
MARRAKECH



وزارة الصحة
المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس
مستشفى الرازي
مصلحة التشريح المرضي - مراكش

Choix du récipient

Biopsies

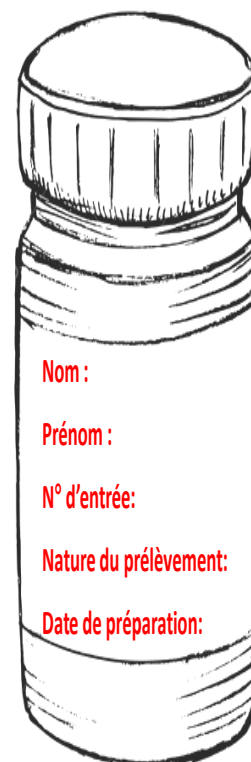


Pièce opératoire



PAS DE SACS
PLASTIQUES

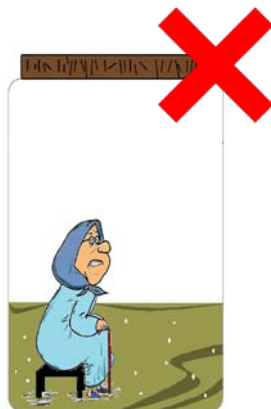
Etiquetage du prélèvement



Ministère de la Santé
CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI
Service d'Anatomie Pathologique
MARRAKECH



وزارة الصحة
المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس
مستشفى السرازي
مصلحة التشريخ المرضي - مراكش



Prélèvement
tissulaire

Volume du fixateur = 10x volume
du prélèvement tissulaire



Récipient de taille suffisamment
grande: prévenir la déformation
tissulaire



Durée de la fixation dépend de la
taille du prélèvement:

-6 heures : biopsie

-24-48 heures : Pièce opératoire



Conditions optimales de
fixation



Ministère de la Santé
CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI
Service d'Anatomie Pathologique
MARRAKECH



وزارة الصحة
المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس
مستشفى السرازي
مصلحة التشريح المرضي - مراكش



(quelques minutes)

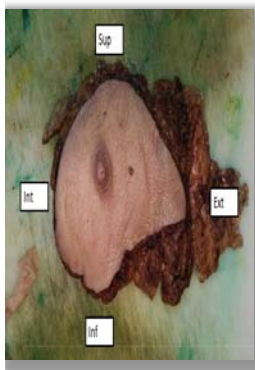


■

Ministère de la Santé
CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI
Service d'Anatomie Pathologique
MARRAKECH



وزارة الصحة
المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس
مستشفى المراكشي
مصلحة التشريح المرضي - مراكش



Envoyer la pièce de mastectomie à l'état frais
(4° C) au laboratoire d'ACP dans un délai de
moins 4H si possible

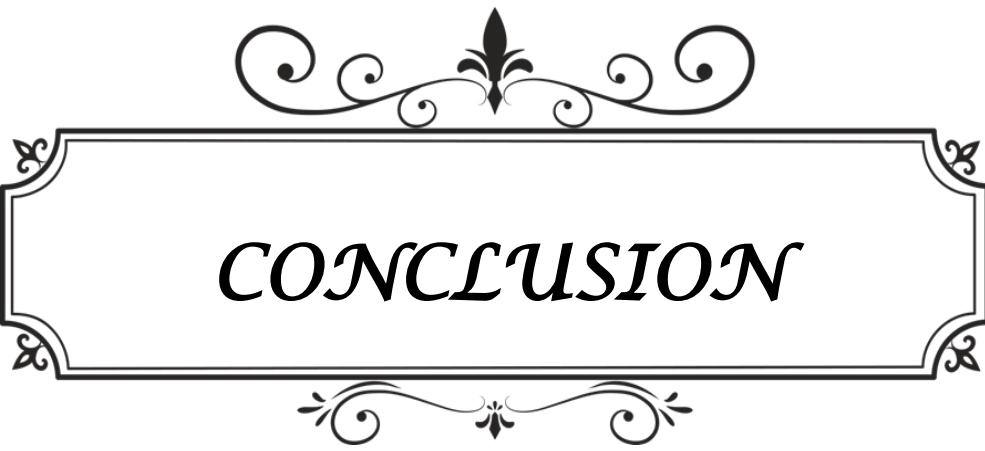
Si
Non



Laver les saletés, le sang, pus

Couper les pièces opératoires en
feuillet de livre pour faciliter la
pénétration du fixateur

Mettre des compresses entre les
tranches et immerger la totalité
pièce dans une quantité
suffisante de formol



CONCLUSION

La phase pré analytique est un processus complexe, tant par le nombre d'intervenants impliqués que par la diversité des étapes de ce processus. Les résultats de ce travail ont élucidé une insuffisance dans les connaissances relatives aux conditions et recommandations pré analytiques des prélèvements mammaires.

Cette étude est, à la limite des données actuelles, la première étude menée au Maroc auprès du personnel médical et paramédical pour approcher les connaissances, attitudes et pratiques de cette population par rapport à la phase pré analytique dans le conditionnement des prélèvements mammaires.

Ce travail aura permis d'élaborer un cadre conceptuel qui pourrait éventuellement servir pour enclencher d'autres études traitant d'autres aspects de dysfonctionnement du processus pré analytique dans le conditionnement des échantillons au niveau des blocs opératoires et la mise sur pied d'outils de référence, tels des protocoles de manipulations et d'interventions, et de registres d'utilisation, d'entretien et de conservation permettront la traçabilité des manipulations et assureront l'obtention de résultats de qualité.

Le personnel pratiquant au bloc opératoire et pathologistes se doivent de collaborer de manière étroite et réciproque. Afin d'améliorer la qualité des soins apportés aux patients, cette collaboration et ses règles de bonnes pratiques doivent être respectées. Les conséquences ne pourront être que positives aussi bien sur la prise en charge du patient que sur le coût des prestations réalisées.



ANNEXES

Annexe 1 :

Phase pré-analytique et mise en condition des prélèvements tissulaires en pathologie mammaire.

Chère consœur,

Cher confrère,

Le questionnaire est adressé à tout le personnel du bloc opératoire du service de gynécologie-obstétrique du CHU Mohammed VI de Marrakech. Le but est d'évaluer les connaissances sur le conditionnement des prélèvements anatomo-pathologiques mammaires afin d'élaborer de fiches synthétiques et un guide de bonne pratique.

Merci de nous accorder quelques minutes pour répondre aux questions.

1. Vous êtes ?

Plusieurs réponses possibles.

☐ Homme

☐ Femme

2. Quel est votre âge ?

3. Quel est votre titre ?

Plusieurs réponses possibles.

☐ Professeur Agrégé/PES

☐ Professeur Assistant

☐ Résident / Interne Médecin

☐ spécialiste Anesthésiste

☐ Infirmier

☐ FFI

☐ Autres

4. Le fixateur optimal est :

Plusieurs réponses possibles.

☐ Le formaldéhyde

☐ Le liquide de Bouin

☐ Glutaraldéhyde

☐ Alcool

☐ Autre fixateur

5. Le pourcentage de dilution du formol est :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ 5%
- ☐ 4%
- ☐ 10%
- ☐ 8%

6. Quelle est la proportion appropriée du fixateur ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ Une fois le volume de la pièce opératoire
- ☐ 3 fois le volume de la pièce opératoire 10 fois
- ☐ le volume de la pièce opératoire 30 fois
- ☐ le volume de la pièce opératoire

7. Le formol pénètre les tissus à raison de :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ 1 mm / heure
- ☐ 10 cm / heure
- ☐ 1 cm / heure
- ☐ 1 mm / 24h

8. Le formol est disponible au bloc opératoire ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ OUI
- ☐ NON

9. Les flacons adaptés sont disponibles au bloc opératoire ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ OUI
- ☐ NON

10. Les contenants les plus utilisés pour les pièces opératoires sont :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ Flacons adaptés
- ☐ Sacs en plastiques

11. L'étiquetage d'un prélèvement comprend :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ L'identité du patient
- ☐ Le numéro d'identification du patient La date de naissance

- ☐ Le nom et les coordonnées du médecin traitant
- ☐ Le siège du prélèvement
- ☐ La date et l'heure du prélèvement
- ☐ Les circonstances cliniques et para cliniques
- ☐ Les hypothèses diagnostiques

12. Le temps nécessaire pour fixer une pièce de mastectomie est :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ Moins de 24h
- ☐ Entre 24h et 48h
- ☐ Plus de 48h

13. Le temps nécessaire pour fixer une biopsie mammaire est :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ Moins de 24h
- ☐ Entre 24h et 48h
- ☐ Plus de 48h

14. Le temps d'ischémie froide (= Le temps entre l'excision du prélèvement du champ chirurgical et le moment où le tissu est placé dans le fixateur) est :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ Moins de 30 min
- ☐ Entre 30 min et 1h
- ☐ Plus d'une heure

15. Les artefacts liés à une mauvaise fixation rendent le diagnostic difficile ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ OUI
- ☐ NON

16. Les variables qui interviennent dans la fixation sont :

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ La taille du tissu
- ☐ Le volume du fixateur
- ☐ Le type du fixateur
- ☐ La chaleur
- ☐ Le temps de fixation

17. Peut-on rattraper une sous fixation ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ OUI
- ☐ NON

18. Peut-on rattraper une fixation prolongée (ou sur fixation) ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ OUI
- ☐ NON

19. Vous intervenez dans combien de mastectomies par jour au bloc opératoire ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ 1
- ☐ 2
- ☐ 3
- ☐ 4
- ☐ Plus

20. Vous intervenez dans combien de biopsies mammaires par jour au bloc opératoire ?

Une seule réponse possible.

- ☐ 1
- ☐ 2
- ☐ 3
- ☐ 4
- ☐ Autres

21. Qui s'occupe de l'acheminement des prélèvements au laboratoire d'anatomie pathologique ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ Résidents
- ☐ Patients
- ☐ Brancardiers
- ☐ Autres

22. Existe-t-il un protocole écrit pour le traitement des pièces opératoires au bloc opératoire du service gynéco-obstétrique ?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ OUI
- ☐ NON

23. Le fixateur (Formol) est-il adéquatement étiqueté avec les éléments suivants?

Plusieurs réponses possibles.

- ☐ La nature du fixateur La quantité
- ☐ La concentration
- ☐ Identité et identifiants du patient
- ☐ La date de préparation

RESUMES

Résumé

Nous présentons les résultats d'une enquête visant à approcher les connaissances et les pratiques du personnel médical et paramédical pratiquant au bloc opératoire de gynécologie-obstétrique relatives à la phase pré analytique des prélèvements mammaires. Cette étude transversale a été réalisée au centre hospitalier universitaire Mohammed VI sur une période de cinq mois. Un ensemble de 72 participants a été inclus dans l'enquête. La médiane d'âge était de 40 ans. Le personnel était composé majoritairement par les médecins résidents et internes, suivi par les infirmiers qui représentaient 20 %, puis les anesthésistes et les FFI à des parts égales 8% .Près de 80% des répondants interviennent dans au moins une mastectomie par jour et 90% dans une biopsie quotidiennement.

L'identification des prélèvements n'était pas conforme aux recommandations, 49 % seulement des répondants ont jugé la date comme élément important et 54,4% le nom et les coordonnées du médecin traitant. Concernant le fixateur de choix 64 personnes ont répondu juste mais presque la moitié ne reconnaissait pas la proportion optimale et la vitesse de pénétration du formol. Plus de 59% de nos participants ignoraient que les artefacts d'une mauvaise fixation affectent le diagnostic. D'autre part notre étude a relevé un grand problème, qui est celui des sacs en plastiques utilisés pour les mastectomies dans plus de 53% à la place des flacons adaptés.

Au total, cette étude a pu objectiver des lacunes dans les connaissances et les pratiques se rapportant à toutes les étapes pré analytiques. Nous avons donc élaboré un guide de bonne pratique en anatomie pathologique afin de créer un support rassemblant les recommandations consensuelles intéressantes la phase pré analytique dans le conditionnement des prélèvements tissulaires en générale et les prélèvements mammaires de manière spécifique.

Abstract

We present the results of a survey aiming to approach the knowledge and practices of medical and paramedical staff practicing in the operating room of gynecology-obstetrics relating to the pre-analytical phase of breast sampling. This cross-sectional study was conducted at the Mohammed VI University Hospital over a five-month period. A total of 72 participants were included in the survey. The median age was 40 years. The majority of the staff was composed of resident and intern physicians, followed by nurses who represented 20%, then anesthetists and 6th year medical students at equal shares 8%. 80% of the respondents were involved in at least one mastectomy per day and 90% in one biopsy daily.

The identification of the samples was not in accordance with the recommendations, only 49% of the respondents considered the date as important and 54.4% the name and coordinates of the treating physician. Regarding the fixative of choice 64 people answered correctly but almost half did not recognize the optimal proportion and penetration speed of formalin. More than 59% of our participants were unaware that artifacts of poor fixation affect the diagnosis. On the other hand, our study found a major problem with the plastic bags used for mastectomies in more than 53% instead of the appropriate bottles.

All in all, this study was able to objectify gaps in knowledge and practices related to all pre-analytical steps. We have therefore developed a guide to good practice in pathological anatomy in order to create a support gathering the consensual recommendations concerning the pre-analytical phase in the packaging of tissue samples in general and breast samples in particular.

ملخص

نقدم نتائج مسح يهدف إلى الاقتراب من معرفة وممارسات الطاقم الطبي وشبه الطبي الممارس في غرفة العمليات لأمراض النساء والتوليد فيما يتعلق بالمرحلة السابقة للتحليل لعينات الثدي . أجريت هذه الدراسة المقطعية في مركز مستشفى جامعة محمد السادس على مدى خمسة أشهر . تم تضمين مجموعة من 72 مشاركا في الاستطلاع . كان متوسط العمر 40 سنة. كان طاقم العمل يتألف بشكل أساسي من الاطباء المقيمين و الداخليين، يليهم الممرضات الذين يمثلون 20% ، ثم أطباء التخدير وطلاب الطب السنة السادسة بأجزاء متساوية 8%. يتدخل ما يقرب 80% من المستجيبين في استئصال ثدي واحد على الأقل يوميًا و 90% في جراحة يومية.

لم يتوافق تحديد العينات مع التوصيات، واعتبر 49% فقط من المجيبين أن التاريخ مهم و 54.4% اسم وتفصيل الاتصال بالطبيب المعالج . فيما يتعلق بالثبت المناسب ، أجاب 64 شخصًا بشكل صحيح ، لكن نصفهم تقريبًا لم يتعرفوا على النسبة المثلى ومعدل تغلغل الفر مول . لم يكن أكثر من 59% من المشاركين لدينا على دراية بأن القطع الناتجة عن التثبيت غير السليم تؤثر على التشخيص . من ناحية أخرى ، حددت دراستنا مشكلة كبيرة ، وهي مشكلة الأكياس البلاستيكية المستخدمة في استئصال الثدي في أكثر من 53% بدلاً من القارورات المناسبة.

بشكل عام كانت هذه الدراسة قادرة على تحديد الفجوات في المعرفة والممارسات المتعلقة بجميع مراحل ما قبل التحليل . لذلك قمنا بتطوير دليل الممارسات الجيدة في علم التشريح المرضي من أجل إنشاء دعم يجمع التوصيات التوافقية ذات الأهمية لمرحلة ما قبل التحليل في تعبئة عينات الأنسجة بشكل عام وعينات الثدي بطريقة محددة .



BIBLIOGRAPHIE

1. **Rapport 2009 sur l' état des connaissances relatives aux biomarqueurs tissulaires uPA/PAI-1, Oncotype DXTM et Mammaprint® dans la prise en charge du cancer du sein.**
Rapport conjoint SFSPM-INCa. Collection INCa, Rapports & Synthèses 2009 .
2. **Nakhleh RE.**
What is quality in surgical pathology? J Clin Pathol. 2006;59:669– 72.
3. **Safrin RE, juge en chef Bark.**
Déconnexion de la pathologie chirurgicale. Routine examen de chaque cas par un deuxième pathologiste. Suis J Surg Pathol 1993;17:1190-2.
4. **Raab SS, Nakhleh RE, Ruby SG.**
La sécurité des patients en anatomie pathologie : mesurer les fréquences et les causes des écarts. Arch Pathol Lab Med 2005;129:459-66.
5. **Valenstein PN, Sirota RL.**
Erreurs d'identification en pathologie et médecine de laboratoire. Clin Lab Med 2004;24:979-96, vii.
6. **College of American P, Valenstein PN, Raab SS, Walsh MK.**
Erreurs d'identification impliquant des laboratoires cliniques : une étude Q-Probes du Collège des pathologistes américains sur les erreurs d'identification des patients et des échantillons dans 120 établissements. Arch Pathol Lab Med 2006;130(8):1106-13.
7. **Wagar EA, Tamashiro L, Yasin B, Hilborne L, Bruckner DA.**
La sécurité des patients en laboratoire clinique : une analyse longitudinale des erreurs d'identification des échantillons. Arch Pathol Lab Med 2006;130:1662-8.
8. **Nakhleh RE, Zarbo RJ.**
Surgical pathology specimen identification and accessioning: A College of American Pathologists Q-Probes Study of 1 004 115 cases from 417 institutions. Arch Pathol Lab Med. 1996 Mar;120(3):227-33. PMID: 8629896.
9. **Makary MA, Epstein J, Pronovost PJ, Millman EA, Hartmann CE, Freischlag JA.**
Erreurs d'identification des échantillons chirurgicaux : une nouvelle mesure de la qualité des soins chirurgicaux. Chirurgie 2007;141 : 450-5.
10. **Morelli P, Porazzi E, Ruspini M, Restelli U, Banfi G.**
Analyse des erreurs histologiques par analyse des causes profondes : une étude pilote. J Préc Med Hyg. 2013;54:90-96.

11. **Meier FA, Varney R, Bansal M, Zarbo AJ Schultz D, Raab S, Zarbo RJ.**
Validation of an error taxonomy system for anatomic pathology. *Mod Pathol.* 2005; 18: 1506A.
12. **Association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologiques.**
L'archivage en anatomie et cytologie pathologiques. Recommendations for good practices in anatomic and cytologic pathology v2. *Ann Pathol*, 2010. 30(1):58-67.
13. **Fortier, J.C. et Hould, R.**
Histotechnologie : théorie et procédés. Centre collégial de développement de matériel didactique. 2003, 717 p.
14. **Iyengar, J.N.**
Quality control in the histopathology laboratory: an overview with stress on the need for a structured national external quality assessment scheme. *Indian J Pathol Microbiol*, 2009. 52(1):1-5.
15. **Guide sur l'assurance qualité en Anatomopathologie Phases pré-analytique et analytique**
Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2011 ISBN : 978-2-550-63419-5 (version PDF)
16. **MacGrogan, G.**
Réduire le temps préanalytique dans le diagnostic anatomopathologique des affections mammaires, utopie ou réalité ?. *Oncologie* 14, 520-524
17. **Plénat F, Montagne K, Weinbrek N, Corby S, Champigneulle J, Antunes L, et al.**
Conséquence moléculaires de la fixation et utilisation des tissus : l'exemple des acides nucléiques et des protéines. *Ann Pathol* 2006;26:8—21.
18. **Penat F, Antunes L, Haller T, Pietunnoughene M, Klein-Monhoven N, Champigneulle J, et al.**
La fixation formolée à l'aube du troisième millénaire. *Ann Pathol* 2001;21:29-47.
19. **Plénat F, Antunes L, Haller T, et al. (2001)**
Formaldehyde fixation in the third millennium. *Ann Pathol* 21: 29-47.
20. **Hammond, M.E., et al.,**
American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med*, 2010. 134(7):e48-72.

21. **Albanell, J., et al.**
Guidelines for HER2 testing in breast cancer: a national consensus of the Spanish Society of Pathology (SEAP) and the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM). Clin Transl Oncol, 2009. 11(6):363-75.
22. **Maran-Gonzalez A, et al.**
Recommandations du GEFPICS pour la prise en charge des prélèvements dans le cadre du traitement néoadjuvant du cancer du sein. Annales de pathologie (2019), <https://doi.org/10.1016/j.annpat.2019.04.004>
23. **Rosai J.**
Gross techniques in surgical pathology. 8th ed. Ackerman's surgical pathology. St Louis: Mosby International; 1996. p. 13-28.
24. **L Benoit, P Favoulet, F Collin, L Arnould, J Fraisse, J Cuisenier.**
Prélèvements anatomopathologiques en cancérologie : règles de bonnes pratiques au bloc opératoire, Annales de Chirurgie, Volume 128, Issue 9, 2003, Pages 637-641, ISSN 0003-3944, <https://doi.org/10.1016/j.anchir.2003.09.010>.
25. **Yaziji, H., et al.**
Consensus recommendations on estrogen receptor testing in breast cancer by immunohistochemistry. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2008. 16(6):513-20.
26. **Fox CH, Johnson FB, Whiting J, et al.**
Fixation de formaldéhyde. J Histochem Cytochem. 1985;33:845-853.
27. **Le Botlan DJ, Mechin BG, Martin GJ.**
Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 du formaldéhyde dans l'eau. Anal Chem. 1983;55:587-591.
28. **Hopwood D.**
Fixation et fixateurs. Dans: Bancroft JD, Stevens A, éd. Théorie et pratique des techniques histologiques. 4e éd. New York, NY: Churchill Livingstone; 1996: 30.
29. **Démarrez RD, Layton CM, Cross SS, et al.**
Réévaluation du taux de diffusion fixative. J Clin Pathol. 1992; 45: 1120-1121.
30. **Medawar PB.**
Le taux de pénétration des fixateurs. JR MicroscSoc. 1941; 61: 46-57.

31. **Yaziji H, Taylor CR, Goldstein NS, et al.**
Recommandations consensuelles sur les tests des récepteurs aux oestrogènes dans le cancer du sein par immunohistochimie. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2008; 16:513–520.
32. **MacGrogan G, et al.**
Recommandations du GEPICS concernant la phase pré-analytique pour l'évaluation de HER2 et des récepteurs hormonaux dans le cancer du sein : mise à jour 2014. *Annales de pathologie* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.annpat.2014.08.017>
33. **College of American Pathologists.**
Anatomic Pathology Checklist. Commission on laboratory accreditation, Laboratory accreditation program. 2009, 79 p.
34. **W., et al.**
Updated recommendations from the Canadian National Consensus Meeting on HER2/neu testing in breast cancer. *Curr Oncol*, 2007. 14(4):149-53.
35. **Bellocq, J., C. Egele, P. Cremoux, L. Ruck, C. Mathelin, É. Luporsi, M. Chenard and Fra Société française de sénologie et de pathologie mammaire.**
"Prélèvements tissulaires tumoraux pour analyses moléculaires : comment les gérer au mieux ?" (2010).
36. **Fortier, J.C. et Hould, R.**
Histotechnologie : théorie et procédés. Centre collégial de développement de matériel didactique. 2003, 717 p.
37. **Khoury T, Sait S, Hwang H, Chandrasekhar R, Wilding G, Tan D, et al.**
Delay to formalin fixation effect on breast biomarkers. *Mod Pathol* 2009;22(11):1457—67.
38. **Qiu J, Kulkarni S, Chandrasekhar R, Rees M, Hyde K, Wilding G, et al.**
Effect of delayed formalin fixation on estrogen and pro-gesterone receptors in breast cancer: a study of three different clones. *Am J Clin Pathol* 2010;134(5):813—9.
39. **Kalkman S, Barentsz MW, van Diest PJ.**
The effects of under 6 hours of formalin fixation on hormone receptor and HER2 expression in invasive breast cancer: a systematic review. *Am J Clin Pathol* 2014;142(1):16—22.

40. **Goldstein NS, Ferkowicz M, Odish E, Mani A, Hastah F.**
Minimum formalin fixation time for consistent estrogen receptor immunohistochemical staining of invasive breast carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2003 Jul;120(1):86–92. doi: 10.1309/QPHD–RB00–QXGM–UQ9N. PMID: 12866377
41. **Hanna, W., et al.**
Updated recommendations from the Canadian National Consensus Meeting on HER2/neu testing in breast cancer. *Curr Oncol*, 2007. 14(4):149-53.
42. **Oyama, T., et al.**
The effects of fixation, processing and evaluation criteria on immunohistochemical detection of hormone receptors in breast cancer. *Breast Cancer*, 2007. 14(2):182-8.
43. **Pascal Chérel, Jean–Marc Guinebretière.**
Gestion des pièces opératoires après exérèse de lésion mammaire, *Imagerie de la Femme*, Volume 25, Issue 4, 2015, Pages 246–251, ISSN 1776–9817, <https://doi.org/10.1016/j.femme.2015.11.002>.
44. **Khoury T, Sait S, Hwang H, Chandrasekhar R, Wilding G, Tan D, et al.**
Delay to formalin fixation effect on breast biomarkers. *Mod Pathol* 2009;22(11):1457—67.
45. **Tong LC, Nelson N, Tsourigiannis J, Mulligan AM.**
The effect of prolonged fixation on the immunohistochemical evaluation of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 expression in invasive breast cancer: a prospective study. *Am J Surg Pathol.* 2011 Apr;35(4):545–52. doi: 10.1097/PAS.0b013e31820e6237. PMID: 21358301.
46. **Yildiz–Aktas IZ, Dabbs DJ, Cooper KL, Chivukula M, McManus K, Bhargava R.**
The effect of 96–hour formalin fixation on the immunohistochemical evaluation of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 expression in invasive breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2012 ;137 :691—8.
47. **Bussolati G, Chiusa L, Cimino A, D’Armento G.**
Tissue transfer to pathology labs : under vacuum is the safe alternative to formalin. *Virchows Arch* 2008 ;452 :229—31.
48. **Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Érasme.**
Nature et traitement des prélèvements nonconformes. 2010, 5 p.

49. **National pathology accreditation advisory council.**
Requirement for the retention of laboratory records and diagnostic material (fifth edition).
2009, 20 p.
50. **Thaer Khoury, MD,**
Delay to Formalin Fixation (Cold Ischemia Time) Effect on Breast Cancer
Molecules, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 149, Issue 4, April 2018, Pages
275-292,

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف
والأحوال باذلاً وسعي في استنقاذها من الهلاك والمرض
والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلاً رعايتي الطبية للقريب والبعيد،
للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، أسخره لنفع الإنسان .. لا لأذاه.
وأن أوقّر من علّمني، وأعلّم من يصغرنني، وأكون أخاً لكل زميل في المهنة الطبية
متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلايتي، نقيّة مما يُشِينها تجاه
الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

أطروحة رقم 137

سنة 2021

تطوير ملصقات تركيبية ودليل الممارسات الجيدة لتثبيت عينات الثدي التشريحية المرضية لفائدة موظفي غرفة العمليات.

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2021/07/13
من طرف

السيد رضوان موفليح

المزداد في 10 غشت 1995 بمراكش

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

عينات الثدي - تثبيت - دليل الممارسات الجيدة - ملصقات تركيبية

اللجنة

الرئيس

ح. أسموكي

السيد

أستاذ في طب النساء والتوليد

ح. رايس

السيدة

أستاذة في علم التشريح المرضي

أ. بلباشير

السيد

أستاذ مبرز في علم التشريح المرضي

ب. فاخر

السيدة

أستاذة في طب النساء والتوليد

ف. حزميري

السيدة

أستاذة مبرزة في علم الأنسجة والأجنة والخلايا الجيني

{ المشرف

{ الحكام