

Dermato-chirurgie

Histologie 3D : une technique de chirurgie micrographique adaptée aux dermatologues et pathologistes hospitaliers et libéraux

M. MOEHRLE (1), H. BREUNINGER (1), A. TAÏEB (2), A. DE MASCAREL (3), B. VERGIER (3)

La chirurgie micrographique (souvent appelée chirurgie de Mohs selon Frederic Mohs qui l'a décrite en premier) est un traitement chirurgical des tumeurs malignes cutanées localement invasives. Elle utilise un contrôle anatomo-pathologique tridimensionnel (histologie 3D) des berges d'exérèse. Son but est de localiser les extensions tumorales infra-cliniques par un examen histologique tri-dimensionnel des berges et ainsi de limiter l'exérèse en épargnant au maximum les tissus adjacents. Lebwohl et Bernhard concluaient dans un éditorial : « des montagnes de publications pendant plus de trois décennies ont établi des arguments forts en faveur de la chirurgie micrographique (de Mohs). On ne peut pas négliger la logique, le principe simple et l'élégance d'une technique qui examine les marges totales d'une tumeur maligne en comparaison aux autres techniques qui examinent moins de 1 p. 100 de berges » [1, 2]. Ainsi la « chirurgie de Mohs » n'est pas une chirurgie « spéciale » mais une chirurgie associée à une procédure histopathologique particulière.

La chirurgie (micrographique) de Mohs comprend plusieurs étapes [2-5] (fig. 1) :

- Souvent curettage de la tumeur clinique (« debulking »).
- Excision en forme de « saladier » de la tumeur avec orientation topographique des berges en utilisant des incisions superficielles, des sutures ou des tatouages temporaires.
- Puis coupes au cryostat : mise à plat sur le versant épidermique du matériel excisé avec réalisation de coupes parallèles à l'épiderme depuis la face hypodermique jusqu'à l'épiderme afin de réaliser une analyse tri-dimensionnelle des berges. Les lames sont lues par le chirurgien lui-même. La Société Américaine de la Chirurgie de Mohs (American Society of Mohs' Micrographic Surgery) demande pour le chirurgien une formation combinée en chirurgie cutanée et en histopathologie.

– Dans le cas d'identification d'une excision incomplète, on continue la chirurgie jusqu'à obtention de marges histologiquement saines.

Dans la chirurgie de Mohs, l'examen histologique est réalisé en extemporané à partir de coupes de tissu congelé (cryostat). On trouve dans la littérature des variations de la technique facilitant l'examen de prélèvement plus larges et plus épais [6]. Les deux difficultés de la technique de Mohs sont liées à la congélation (moins bonne qualité d'analyse comparée aux coupes sur tissu fixé et inclus en paraffine) et à la technique de coupe (car les coupes transverses d'annexes (partie germinale du poil) peuvent donner un faux aspect de carcinome basocellulaire [3]. De plus, la chirurgie de Mohs peut être une procédure pénible et longue nécessitant parfois l'occupation d'un bloc opératoire et en parallèle la « monopolisation » d'une technicienne pendant une demi-journée. C'est pourquoi certains chirurgiens utilisent des techniques de Mohs modifiées (slow Mohs) faisant appel à

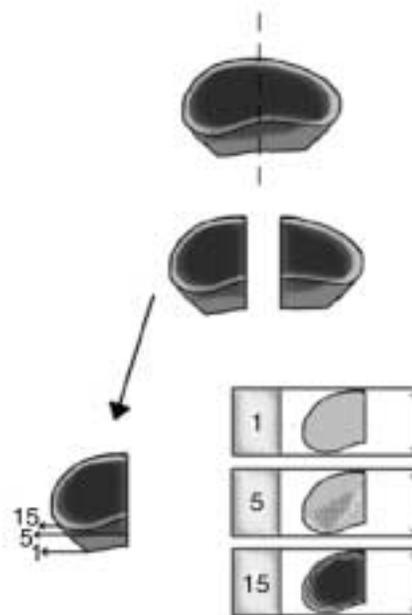


Fig. 1. Technique de Mohs « classique » (coupes au cryostat).

(1) Service de Dermatologie, Universitäts-Hautklinik, Eberhard-Karls-Universität, Liebermeisterstr. 25, D-72076 Tübingen, Allemagne.

(2) Service de Dermatologie, CHU Bordeaux, Hôpital Saint André, 1, rue J. Burguet, 33075 Bordeaux.

(3) Service d'Anatomo-Pathologie, CHU Bordeaux, Hôpital Haut Lévêque, 33075 Bordeaux.

un examen histologique selon le même protocole de coupes parallèles à l'épiderme mais sur tissus fixés [7]. D'autres variantes de la procédure de Mohs ont été décrites dans la littérature donnant une multitude d'appellations : « Histographically Controlled Surgery », « Histologic Control of Excised Tissue Edges », « Contrôle histologique des bords de la pièce opératoire », « Complete Histology of Excisional Margins », « 3D-Histology », the « Square-Procedure », the « Quadrant-Method », « Wallgraben-Technik » et la « Perimeter Technique » [8-14]. Par simplicité et parce qu'il s'agit d'un principe histologique nous préférons pour toutes ces variantes l'expression « histologie tridimensionnelle » ou « histologie 3D ».

Dans cet article nous décrivons deux méthodes d'histologie 3D. Le protocole que nous proposons ici est une adaptation du protocole utilisé en Allemagne à l'Université de Tübingen dans le service de dermatochirurgie du Pr Breuninger. En Allemagne, l'ensemble de la technique se fait dans une seule structure et ainsi le chirurgien prend en charge la totalité de l'examen jusqu'à la lecture anatomopathologique. Le fonctionnement français faisant appel à deux structures (service de chirurgie dermatologique et laboratoire d'anatomie pathologique) parfois distantes de plusieurs kilomètres, il était important d'adapter ce protocole afin qu'il soit reproductible et fiable malgré différents intervenants (chirurgien, technicien et pathologiste). Selon la taille de l'exérèse, deux techniques 3D d'analyse des berges sont utilisées : soit la technique dite « muffin » (fig. 2) pour les prélèvements de moins de 2 cm, soit la technique dite « gâteau » (fig. 3) pour les prélèvements de taille moyenne à grande.

Histologie 3D : description du protocole

LA TECHNIQUE « MUFFIN » (fig. 2)

- Les bords de la tumeur (par exemple un carcinome basocellulaire) sont marqués sur la peau par un crayon de chirurgie ou de l'encre stérile ou un désinfectant coloré comme l'éosine.
 - 12 heures est indiqué en correspondance avec l'axe du corps par une incision ou par une suture.
 - La tumeur est enlevée en bloc avec des marges appropriées. L'exérèse s'effectue par une incision avec une inclinaison par rapport à la surface de la peau d'au moins 90° à 110°. Cet angle « surplombant » facilite une adaptation des berges pour la reconstruction plastique.
 - Selon le type de tumeur, sa localisation, sa taille, les marges, la procédure histologique et les circonstances locales, la reconstruction plastique de la plaie est effectuée immédiatement ou décalée jusqu'à la négativité de l'évaluation histologique des berges (le patient restant sous pansement occlusif).
 - Puis le prélèvement est préparé pour l'analyse histologique (fig. 2). En général, on utilise la lame de bistouri n° 10 ou 15, qui a été utilisée pendant l'intervention chirurgicale antérieure.

- Des incisions totales à 12 heures et à 6 heures sont faites. Puis on incise partiellement le prélèvement avec un angle d'environ 60° en laissant une marge latérale d'environ 2 mm.
 - La partie centrale du prélèvement (fig. 2a) est enlevée à l'aide de ciseaux en laissant la base en contact avec les bords latéraux.
 - Les bords sont dépliés vers l'extérieur (fig. 2b).
 - Parfois quelques coupes supplémentaires de bistouri sont nécessaires pour faciliter la flexion des bords vers l'horizontale.
 - Ce prélèvement préparé est placé directement dans une cassette par le chirurgien en positionnant 100 p. 100 des marges latérales et de la base sur un plan. 12 heures est orienté vers le haut (fig. 2c).
 - Un dessin sur une fiche de liaison (fig. 4) documente l'orientation et aide la communication entre le chirurgien et le pathologiste.
 - Le facteur limitant de la procédure est la taille de la cassette (et de la lame). Avec cette technique on peut analyser des prélèvements tumoraux jusqu'à 2 cm. Si le prélèvement est trop grand (entre 2 et 4 cm) et ne rentre pas dans une cassette, on peut le couper en deux et utiliser deux cassettes.
- La manipulation des marges chirurgicales pour l'histologie tridimensionnelle (histologie 3D) ressemble à la « dissection » du moule en papier d'un muffin (fig. 2d). C'est pourquoi nous appelons cette procédure la technique « muffin ».

LA TECHNIQUE « GÂTEAU » (fig. 3)

- Comme pour la technique « muffin », les bords de la tumeur sont marqués sur la peau.
 - 12 heures est indiqué en correspondance avec l'axe du corps par une incision ou par une suture.
 - La tumeur est enlevée en bloc avec des marges appropriées : l'exérèse s'effectue par une incision avec une inclinaison par rapport à la surface de la peau d'au moins 90° à 110°.
 - Selon le type de la tumeur, la localisation, la taille, les marges, la procédure histologique et les circonstances locales, la reconstruction plastique de la plaie est effectuée immédiatement ou décalée jusqu'au résultat négatif de l'évaluation histologique des berges.
 - Ensuite, le prélèvement est préparé pour l'analyse histologique (fig. 3). En général, on utilise la lame de bistouri n° 10 ou 15, qui a été utilisée pendant l'intervention chirurgicale antérieure.
 - La berge latérale d'environ 2 mm est coupée soit par des ciseaux à préparation soit à l'aide du bistouri (fig. 3a). La tranche est coupée en morceaux d'une longueur maximale d'environ 25 mm (longueur d'une cassette histologique). Ces morceaux sont placés dans des cassettes dans le sens des aiguilles d'une montre (voir fig. 3a : 12 heures en haut ; épiderme orienté vers le côté droit, hypoderme vers le côté gauche).
 - La base du prélèvement est enlevée à l'aide d'un bistouri ou de ciseaux (fig. 3b). Elle est placée dans une cassette sur la face inférieure.

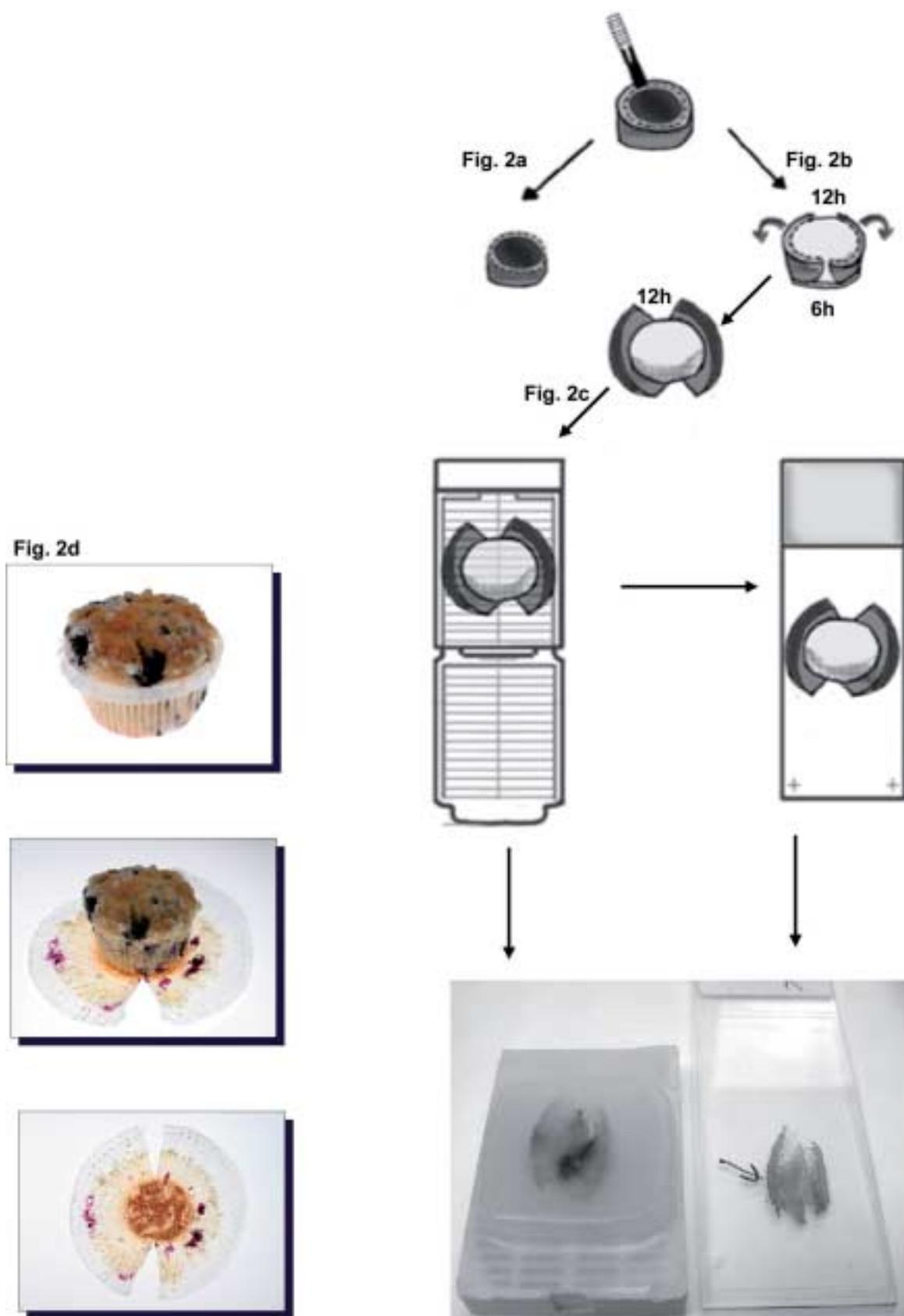


Fig. 2. Technique histologie 3D ; type « Muffin ».

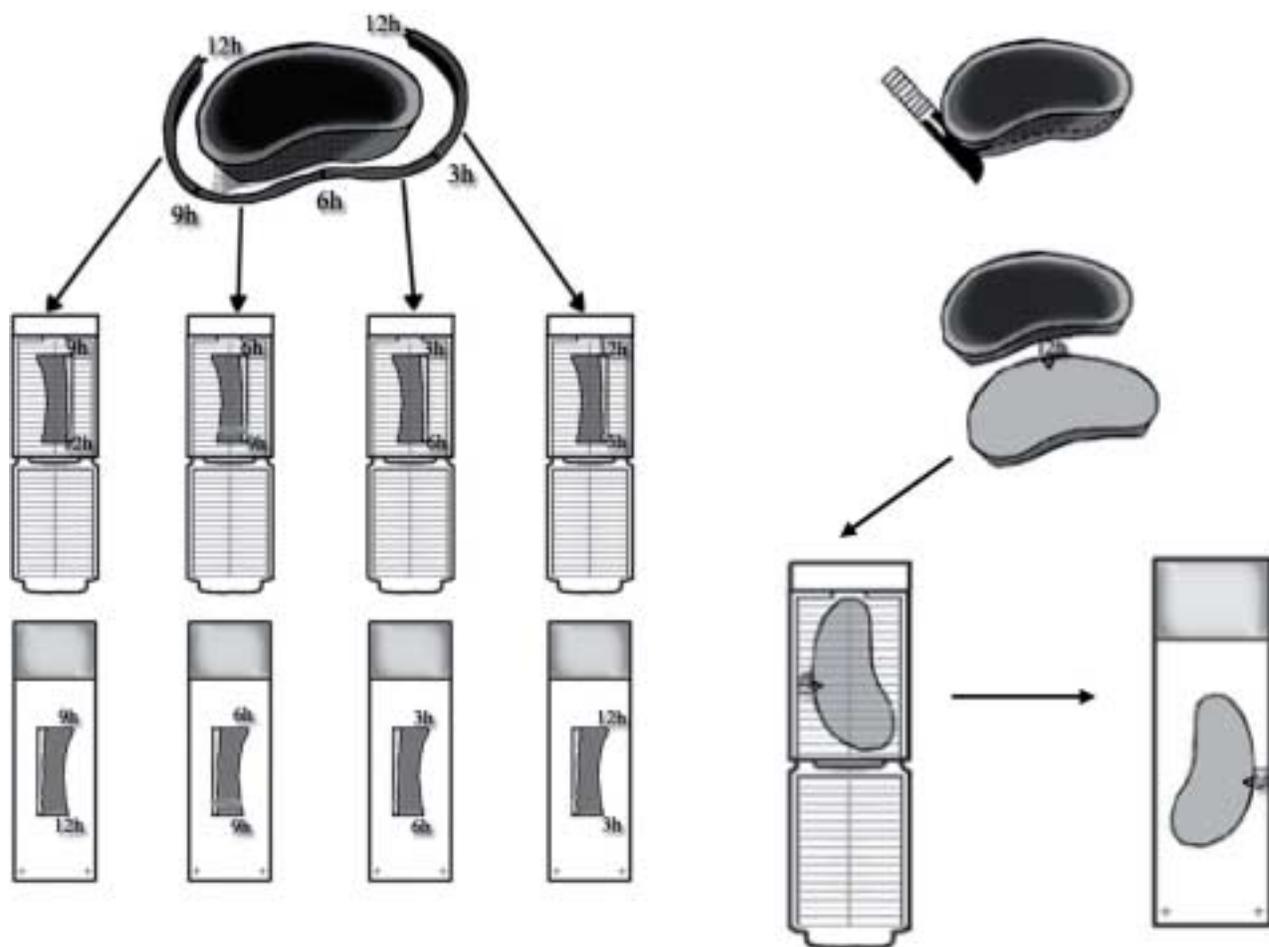
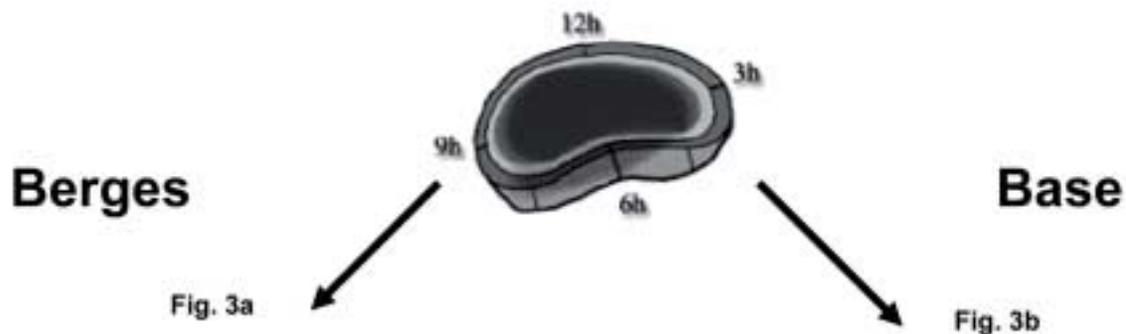


Fig. 3. Technique histologie 3D ; type « Gâteau ».

Histologie 3D - Fiche de liaison

Service de Dermatologie :
Laboratoire d'Anatomie Pathologique :



Etiquette
Patient

Date:
Heure:
Médecin:

Lieu prélèvement:
Clinique:
Diagnostic évoqué:

Urgent?

prochain jour 2 jours > 2 jours

Faxer à :
Laboratoire d'Anatomie Cytologie Pathologique ...

« Gâteau »

« Muffin »

Diagnostic histopathologique :

Fig. 4. Exemple de fiche de liaison.

– Une section de la partie centrale contenant la tumeur est placée dans une cassette ou bien le fragment tumoral est mis directement entier dans le fixateur.

– Un dessin sur une fiche de liaison (fig. 4) documente l'orientation et aide la communication entre le chirurgien et le pathologiste.

La manipulation des marges chirurgicales pour l'histologie tridimensionnelle (histologie 3D) ressemble à la partie latérale et le fond d'un moule à gâteau (fig. 3). C'est pourquoi nous appelons cette procédure la technique « gâteau ».

Inclusion et coupes au laboratoire

Quelle que soit la technique 3D (« gâteau » ou « muffin »), le principe est le même : le chirurgien prépare les prélève-

ments en orientant les fragments dans la cassette toujours de la même façon et en utilisant des repères avec une encre de couleur (et non un fil, difficile à couper au microtome). Les fragments sont directement mis en cassette (face « informative » (limite) au fond, un fragment par cassette) sur un papier buvard auquel ils adhèrent ce qui permet de les aplatir et facilite leur inclusion. Les cassettes sont étiquetées au crayon (en précisant « oh-6h » ou marge « A » etc. par exemple) et envoyées dans un flacon contenant le fixateur (formol ou liquide Bouin selon les laboratoires). À l'inclusion, l'orientation du prélèvement dans la cassette est respectée et à la coupe l'image obtenue sur la lame est une image en miroir avec toujours la même orientation haut-bas (partie en regard de la zone écrite de la cassette disposée sur la lame en regard de l'étiquette). Les trois à cinq premiers niveaux de coupe sont toujours gardés même si l'ensemble du

fragment n'est pas représenté afin de pouvoir s'y référer si l'exérèse n'est pas passée en zone saine. Puis le fragment est débité jusqu'à ce que toutes les limites soient représentées sur la coupe. Le résultat est ensuite donné par fax à partir de la fiche de liaison (fig. 4), les zones tumorales sont indiquées par une flèche sur le schéma qui correspond à l'orientation dans la cassette (*attention sur la lame : image en miroir !*). Si la reconstruction chirurgicale doit se faire rapidement (pansement occlusif en attendant) la mention « urgent » (le lendemain) est cochée : le premier geste opératoire est réalisé le matin du J1, le fragment est inclus le matin du J2 et coupé dans la matinée ; le résultat est donné à J2 en fin de matinée et une reprise d'exérèse est possible dans l'après midi du J2.

Reprise

Les reprises en cas d'exérèse initiale incomplète sont analysées par la technique « muffin » ou de « demi-muffin », s'il s'agit de reprises relativement petites comprenant base et marges latérales. Si c'est nécessaire de faire une reprise plus importante, on utilise la technique « gâteau ».

Utilisant une anesthésie locale adrénalinée (ou une anesthésie tumescence adrénalinée) pour l'exérèse et pour les reprises, l'hémostase par la pince bipolaire sera limitée aux vaisseaux profonds. En principe, on ne coagule pas les vaisseaux du derme, ce qui évite une nécrose superficielle et des artefacts histologiques en cas d'une reprise.

Discussion

Sur le *tableau I*, nous comparons les caractéristiques de la chirurgie micrographique « classique » de Mohs avec celles des techniques 3D « muffin » et « gâteau ».

Les avantages de la chirurgie 3D par rapport au Mohs sont d'ordre chirurgical, anatomopathologique et pratique.

SUR LE PLAN CHIRURGICAL

Selon Huang *et al.*, le curettage pré-opératoire (debulking) réalisé lors de la chirurgie de Mohs est associé à une augmen-

tation relative et absolue de la surface opérée [15]. Ce « debulking » par curettage avant l'excision de la tumeur n'est pas nécessaire dans la technique 3D « gâteau » et/ou « muffin ». La partie centrale de la tumeur est séparée des marges *ex vivo* et est analysée par un examen histopathologique standard. De plus, l'excision du prélèvement appliquant une inclinaison du bistouri à 90° à 110° donne des avantages dans la reconstruction plastique de la plaie par rapport à l'inclinaison à 45° du Mohs : en effet les berges surplombantes donnent une plaie éversée qui permet d'éviter une cicatrice rétractée.

SUR LE PLAN HISTOLOGIQUE

L'incision verticale des berges permet une analyse des marges latérales sur des coupes réalisées perpendiculairement à l'épiderme (ce qui correspond aux coupes standards réalisées en dermatopathologie). De plus l'avantage du « muffin » est de permettre l'analyse à la fois des berges et de la limite profonde sur une même lame. La préparation ainsi que la fixation dans une cassette histologique limite cette technique aux exérèses d'une taille inférieure ou égale à 2 cm. L'épaisseur n'est pas vraiment un facteur limitant, sauf s'il s'agit d'un prélèvement large et épais. Par exemple le muffin est faisable pour un prélèvement de 10 mm de diamètre et de 10 mm d'épaisseur. Pour les tumeurs plus grandes on utilise la technique « gâteau » ou on divise le prélèvement en faisant deux « demi-muffins ». Pour les tumeurs plus épaisses on utilise la technique « gâteau ». Cette préparation histologique doit être réalisée sur pièce fraîche car l'horizontalisation des berges (muffin ou gâteau) sera impossible sur pièce fixée et ainsi l'inclusion sera facilitée. Enfin la partie centrale qui contient la tumeur donne suffisamment de matériel pour un diagnostic histologique correct et elle peut être utilisée pour des projets scientifiques.

SUR LE PLAN PRATIQUE

Comme dans la chirurgie de Mohs, les techniques « gâteau » et « muffin » peuvent être réalisées, selon les pays, par une seule personne faisant la chirurgie et le diagnostic histologique. Dans ce cas, le médecin doit avoir une formation en

Tableau I. – Comparaison technique Mohs « classique » et techniques histologie 3D.

Technique	Technique micrographique Mohs « classique »	Histologie 3D la technique « muffin » la technique « gâteau »
« Debulking »	« debulking » par curettage	Pas de « debulking » Résection en bloc
Incision	Dans un angle de 45°	Dans un angle de 90 à 100°
Orientation	Marquages correspondants aux marges du prélèvement (sutures, tatouage, incisions, photographies)	Dans le sens des aiguilles d'une montre en correspondance avec l'axe corporel (incision ou suture à 12 heures)
Préparation du prélèvement	Par le chirurgien ou le technicien sur lieu Le prélèvement avec ses berges obliques est pressé à plat sur le cryostat	Par le chirurgien ou le technicien sur lieu Le prélèvement est déposé sur un plan horizontal (papier) dans la cassette et est fixé en formol
Procédure	Coupes parallèles à l'épiderme au cryostat (depuis l'hypoderme jusqu'à l'épiderme)	Coupes perpendiculaires à l'épiderme, sur tissu fixé (fixation rapide)
Lecture des lames	Par le chirurgien de Mohs (ou le pathologiste en extemporané)	Par le chirurgien ou par le pathologiste correspondant

dermatochirurgie reconstructive et en dermatopathologie. C'est ce qui est pratiqué à l'Université de Tübingen en Allemagne depuis quelques années. Mais les techniques « muffin » et « gâteau » peuvent être aussi réalisées par deux personnes différentes (chirurgien et pathologiste) selon le protocole standardisé que nous vous proposons. Au CHU de Bordeaux une telle coopération est établie sur deux sites différents distants de 10 km entre le service de dermatologie à l'Hôpital Saint André (Chef de Service Pr A. Taïeb) et le service d'anatomo-pathologie à l'Hôpital Haut-Lévêque (Chef de Service Pr A. de Mascarel).

Les indications de cette histologie 3D en fonction du type histologique de tumeur sont rapportées dans le *tableau II*. Au départ, l'histologie 3D était surtout destinée aux carcinomes basocellulaires et aux carcinomes épidermoïdes (spino-cellulaires). Puis les indications se sont élargies à un grand nombre de tumeurs cutanées situées dans des zones fonctionnellement et esthétiquement « délicates ». L'histologie 3D est appelée à se développer en France pour le mélanome de Dubreuilh *in situ* (LM) car les Standards, Options et Recommandations (SOR) de 2005 recommandent une marge initiale de 5 mm avec contrôle des berges ou de 1 cm sans ce contrôle [16]. La plupart des LM étant situés sur le visage, faire des marges de 5 mm avec histologie 3D aura des avantages esthétiques majeurs. En Allemagne, pour le mélanome de Dubreuilh (LM) *in situ* et pour le mélanome de Dubreuilh invasif (LMM) ainsi que pour le mélanome acrolentigineux (ALM), des marges de 5 mm avec histologie 3D sont utilisées [17-18].

Ainsi, à notre avis, les techniques 3D « muffin » et « gâteau » sont facilement réalisables. Elles peuvent être également utilisées dans un cabinet de dermatologie libéral qui coopère avec un laboratoire d'anatomie pathologique. Aucun équipement technique supplémentaire n'est nécessaire sauf des cassettes histologiques et une bonne communication. La seule difficulté pratique étant de donner une

réponse dans un délai de 24 heures (si le patient est resté sous pansement occlusif) et d'obtenir une cotation « adaptée » des actes.

Références

1. Leibold M, Bernhard JD. The case for micrographically controlled skin surgery. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:696-7.
2. Sei JF, Chaussade V, Zimmermann U, Tchakerian A, Clirici T, Franc B, et al. Historique, principes, analyse critique de l'efficacité et indications de la chirurgie micrographique de Mohs. *Ann Dermatol Venereol* 2004;131:173-82.
3. Shriner DL, McCoy DK, Goldberg DJ, Wagner RFJ. Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:79-97.
4. Weber PJ, Moody BR, Dryden RM, Foster JA. Mohs surgery and processing: novel optimizations and enhancements. *Dermatol Surg* 2000;26:909-14.
5. Davis DA, Pellowski DM, William HC. Preparation of frozen sections. *Dermatol Surg* 2004;30:1479-85.
6. Gloster HM Jr. Surgical pearl: large single sections in Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:506-8.
7. Sei JF, Tchakerian A, Zimmermann U, Clerici T, Chaussade V, Franc B, et al. Dermatofibrosarcome de Darier Ferrand : traitement par chirurgie micrographique de Mohs avec inclusion en paraffine. *Ann Dermatol Venereol* 2004;131:158-60.
8. Breuninger H, Gutknecht M, Dietz K, Rassner G. Locally infiltrative growth of squamous cell carcinoma of the skin and treatment guidelines resulting from it. *Hautarzt* 1991;42:559-63.
9. Burg G, Hirsch RD, Konz B, Braun-Falco O. Histographic surgery: accuracy of visual assessment of the margins of basal-cell epithelioma. *J Dermatol Surg* 1975;1:21-4.
10. Johnson TM, Headington JT, Baker SR, Lowe L. Usefulness of the staged excision for lentigo maligna and lentigo maligna melanoma: the "square" procedure. *J Am Acad Dermatol* 1997;37:758-64.
11. Blum A, Möhrle M. The moat technique. A two-step surgical technique for extensive basal cell carcinomas of the lip. *Hautarzt* 2004;55:869-73.
12. Mahoney MH, Joseph M, Temple CL. The perimeter technique for lentigo maligna: an alternative to Mohs micrographic surgery. *J Surg Oncol* 2005;91:120-5.
13. Breuninger H, Castanet P. Méthode du contrôle histologique des bords de la pièce opératoire des épithéliomas baso-cellulaires. *Ann Dermatol Venereol* 1987;114:511-4.
14. Breuninger H. Histologic control of excised tissue edges in the operative treatment of basal-cell carcinomas. *J Dermatol Surg Oncol* 1984;10:724-8.
15. Huang CC, Boyce S, Northington M, Desmond R, Soong SJ. Randomized, controlled surgical trial of preoperative tumor curettage of basal cell carcinoma in Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:585-591.
16. Negrier S, Saiag P, Guillot B, Verola O, Avril MF, Bailly C, et al. Recommandations pour la pratique clinique : Standards, Options et Recommandations 2005 pour la prise en charge des patients adultes atteints d'un mélanome cutané MO, rapport intégral. *Ann Dermatol Venereol* 2005;132:10S3-10S85.
17. Moehrl M, Metzger S, Schippert W, Garbe C, Rassner G, Breuninger H. "Functional" surgery in subungual melanoma. *Dermatol Surg* 2003;29:366-74.
18. Moehrl M, Dietz K, Garbe C, Breuninger H. Conventional histology vs three-dimensional histology in lentigo maligna melanoma. *Br J Dermatol* 2006;154:453-9.

Tableau II. – Les différents types de tumeur cutanée pouvant bénéficier de ces deux techniques d'histologie 3D.

Carcinome basocellulaire
Carcinome épidermoïde (spino-cellulaire)
Carcinomes annexiels
Mélanose/mélanome de Dubreuilh <i>in situ</i> :
Standards, Options et Recommandations
(SOR) 2005 = marges de 5 mm avec contrôle des berges
par exemple en utilisant technique histologie 3D (idem en Allemagne)
Mélanome de Dubreuilh invasif :
Standards, Options et Recommandations
(SOR) 2005 = marges 10 mm sans contrôle des berges
(en Allemagne marges 5 mm, si histologie 3D)
Mélanome acrolentigineux invasif :
(en Allemagne marges 5 mm, si histologie 3D)
Dermatofibrosarcome
Carcinome de Merkel
Maladie de Paget