

**TECHNIQUES D'ETUDE
MORPHOLOGIQUE DES
PRELEVEMENTS
CELLULAIRES ET
TISSULAIRES**

Les prélèvements

- Les cellules
 - Liquides
 - Ponction aspiration
 - Frottis
- Les tissus
 - Biopsies
 - Biopsies exérèses
 - Pièces opératoires
 - Autopsie (s)

**Si vous avez un problème téléphonez au
labo qui est en mesure
de vous conseiller
de vous fournir containers et flacons
de vous fournir les fixateurs**

**Informations dans « le manuel de
prélèvement »**

Cytologie

Les différents prélèvements

- Liquides
- Produits de ponction
- Frottis

CONDITIONNEMENT : éviter l'autolyse cellulaire

- Fixation des étalements
 - Séchage pour étalements colorés par May-Grunwald-Giemsa (MGG)
 - hématologie
 - ponction d'organe profond
 - Fixation alcool absolu : SNC
 - Fixation éther-alcool : FCV
 - Cyto urinaire : mélange dans alcool à 50° volume/volume

CONDITIONNEMENT

■ liquides

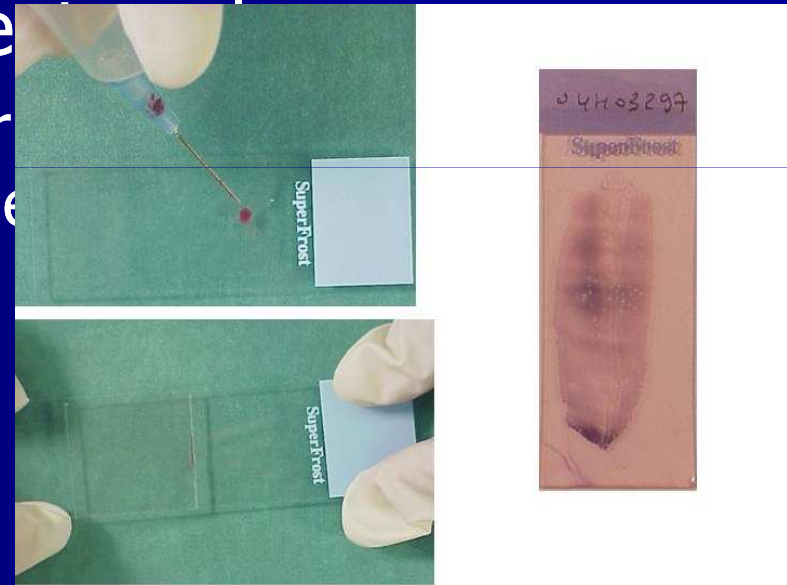
- Fixation immédiate par le préleveur (ex : FCU)
- Acheminement rapide au labo des liquides à l'état frais
- Si besoin, conserver provisoirement le liquide à 4°C
- Cyto urinaire : mélange dans alcool à 50° volume/volume

Techniques d'étude des prélèvements cellulaires

- Technique rapide permettant d'obtenir des résultats rapides
- Mais résultats partiels, de fiabilité variable
- Valeur d'orientation +++

Technique d'étude des prélèvements cellulaires (Cytologie)

- Techniques d'étalement
 - 1/ Étalement : fait par cytoponctions d'organes, écouvillonnages



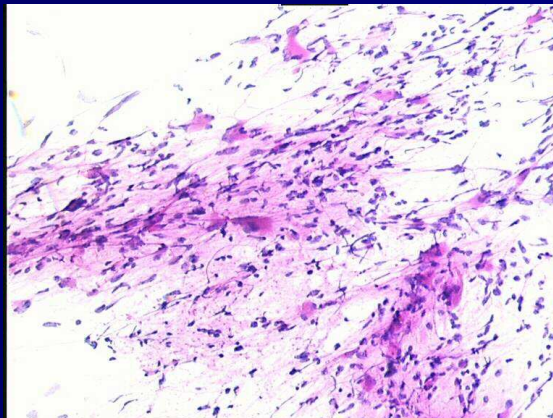
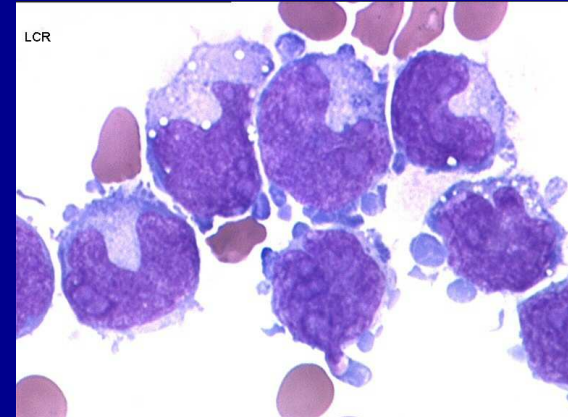
Technique d'étude des prélèvements cellulaires

- Techniques d'étalement sur lames
 - 2/ Etalement après cyto centrifugé avant d'être



Colorations cytologiques

- May Grundwald
Giemsa
- Papanicolaou
- Hématoxyline
éosine



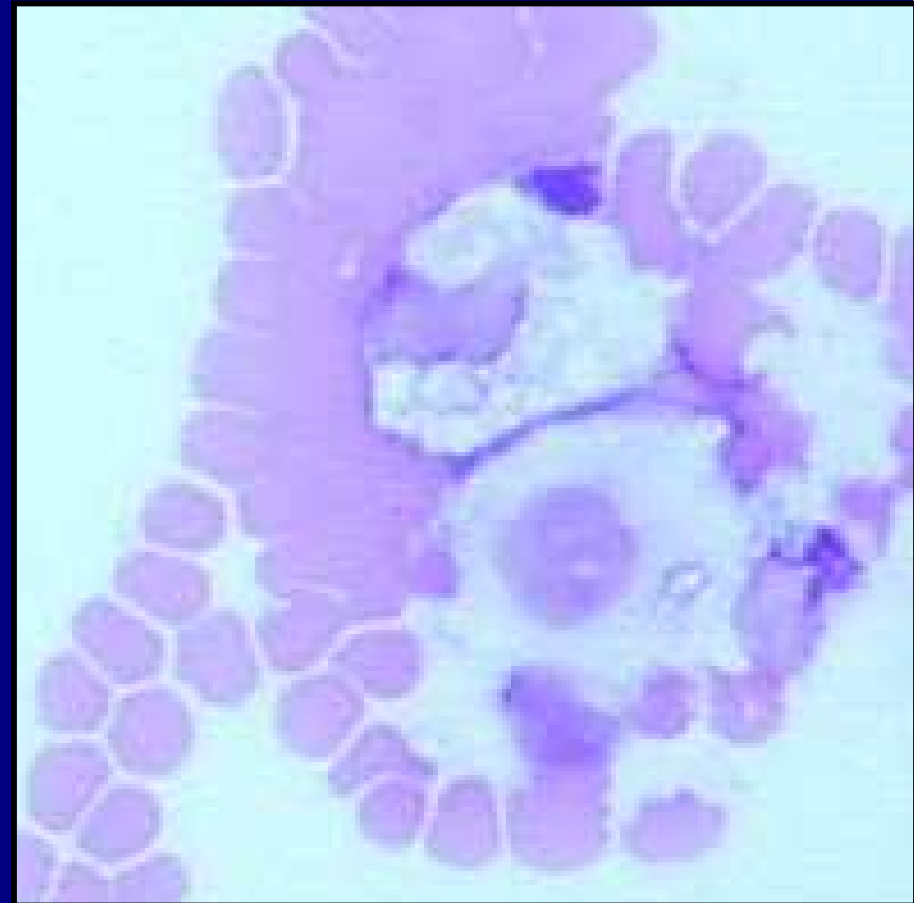
Exemple : liquide pleural

Cellularité Normale

- Cellules mésothéliales
- Cellules inflammatoires:
 - Macrophages
 - Lymphocytes
 - Plasmocytes
 - PNN/PNE/PNB

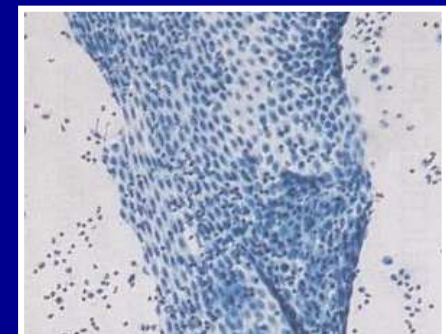
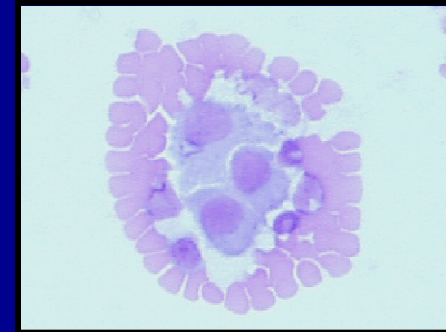
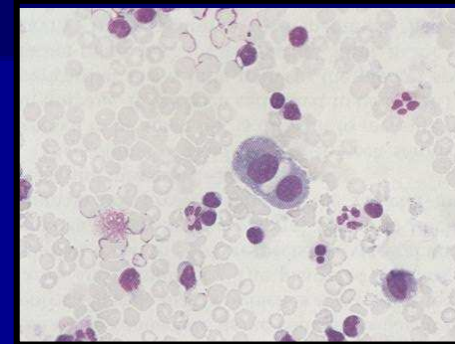
MACROPHAGES

- Cellules isolées
- Nx
 - rond/réniforme
 - Excentré
 - Taille variable
- Chromatine fine
- +/- nucléole
- Cytoplasme
 - abondant,
 - mal limité,
 - cyanophile
 - Vacuolisation
 - Phagocytose



CELLULES MESOTHELIALES

- Taille variable (10 à 20 microns)
- Regroupement
 - Isolé
 - Amas : rosettes, acini, placards
 - Espaces intercellulaires réguliers : fenêtre mésothéliale



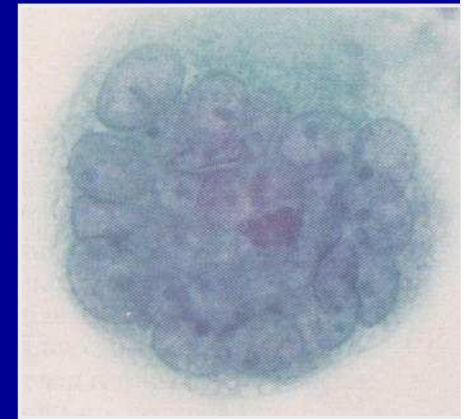
CELLULES MESOTHELIALES

■ Noyaux:

- Rond/ovale
- Central/paracentral
- $N/C=0.5$
- Nucléole
- Multinucléation

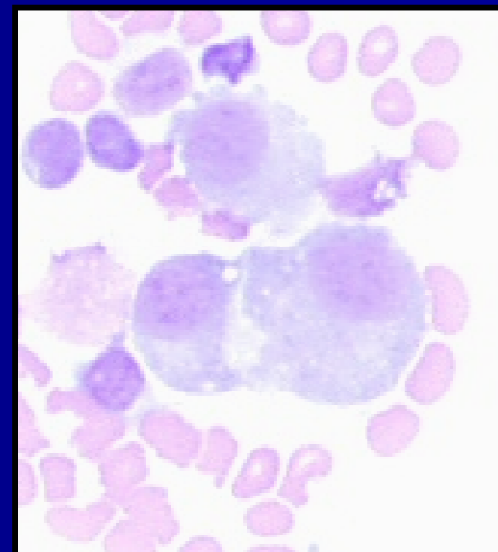
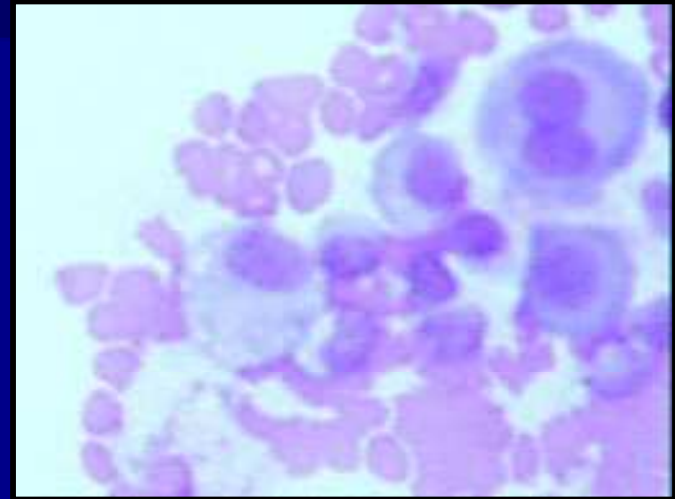
■ Cytoplasme

- Rond, basophile
- Limite cytoplasmique irrégulière
 - Couronne microvacuolisée
- Pigments : lipofuschine, hémossidérine



CELLULES MESOTHELIALES REACTIONELLES

- amas
- Polymorphisme++
- Nx excentré
- Densification de la chromatine
- Nucléole proéminent
- Augmentation de la basophilie cytoplasmique
- Dégénérescence vacuolaire : aspect « bague en chaton »



LIQUIDES NEOPLASIQUES

Cellularité variable

Amas tridimensionnels, Papilles,
acini, cellules isolées

Chevauchement nucléaire

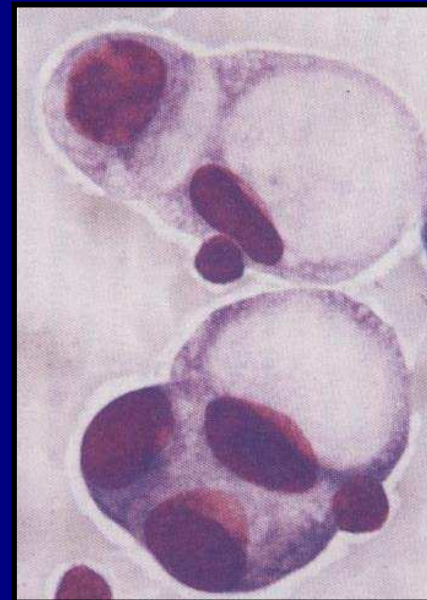
Augmentation N/C

Anisocytose

Atypies nucléaires,
Hyperchromatisme, Membrane
nucléaire épaisse, Irrégularités
des contours, chromatine
irrégulière, Volumineux nucléoles

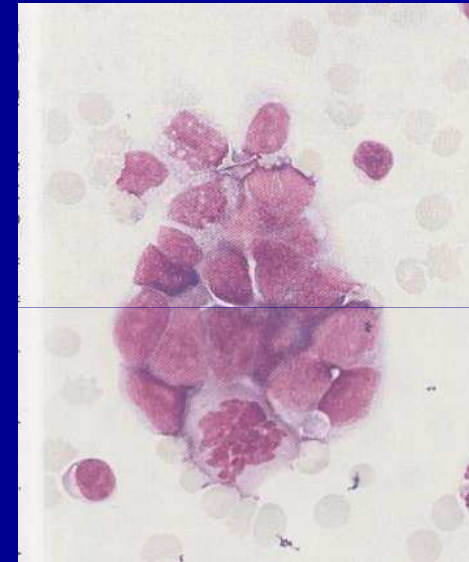
ADENOCARCINOME

- Volumineux amas
- Nucléole++,
noyau excentré
- Vacuoles
cytoplasmiques
- Bleu alcian+



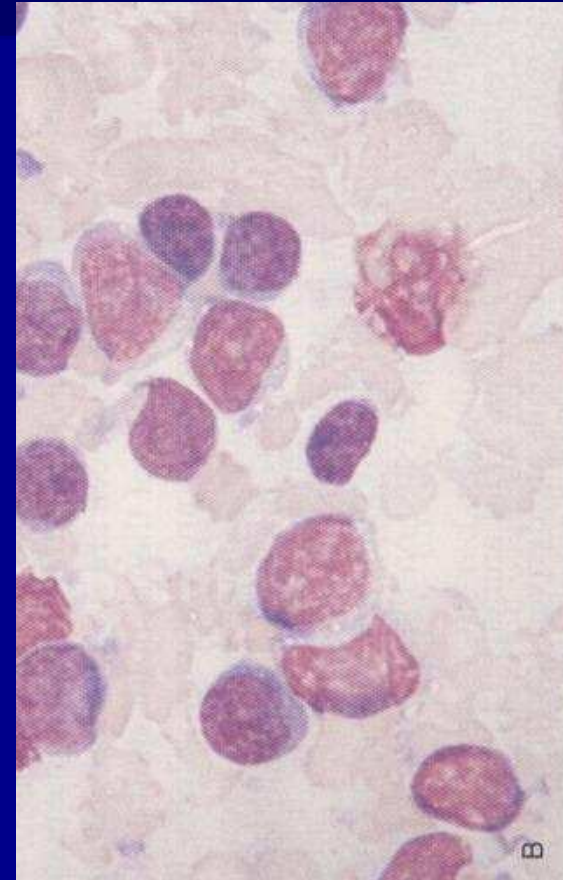
CARCINOME A PETITE CELLULES

- ++ poumon
- Isolées
- ++ pile d'assiettes
- Fragilité nucléaire
- Cellules de taille petite ou moyenne (2à3 L@)
- N/C élevé, noyaux nux
- Nucléoles mal visibles



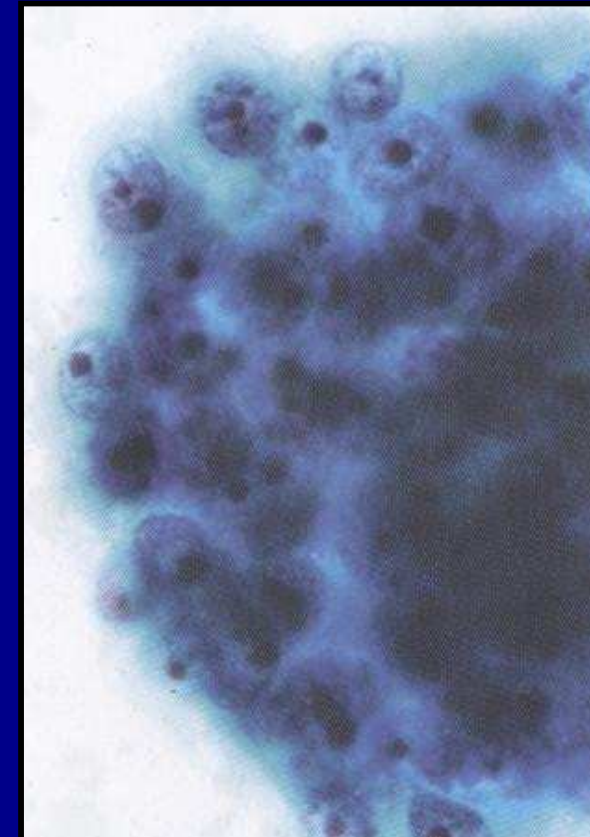
LYMPHOME

- Cellules isolées non cohésives
- Monomorphe
- N/C élevé
- Irrégularité nucléaire



MESOTHELIOME

- Liquide hypercellulaire
- Amas papillaires, muriformes
- Cellules isolées
- Cellules mésothéliales réactionnelles caricaturales
- N/C bas



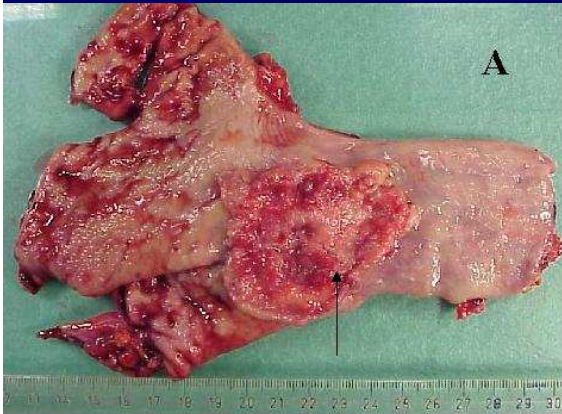
Les tissus

- Types de prélèvements
 - Biopsies
 - Biopsie exérèse
 - Pièce opératoire

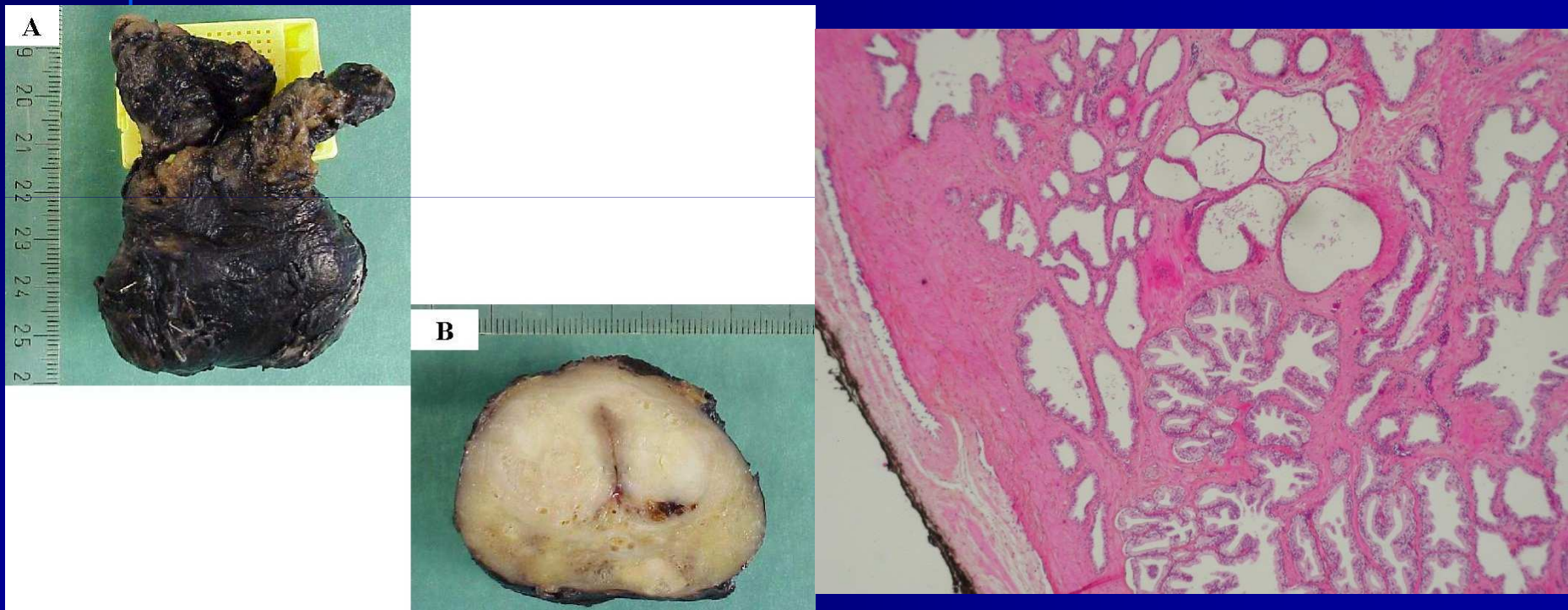
Techniques d'étude des prélèvements tissulaires

- Etude macroscopique :
 - 1^e étape indispensable pour les pièces opératoires
 - La pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée

Piece d'oesogastrectomie pour cancer



Il peut être utile d'encrer les berges de la pièce opératoire pour mieux évaluer les limites



- L'examen macroscopique permet :
 - De donner des indications sur le pronostic
 - De sélectionner les territoires qui seront étudiés au microscope :
 - Lésion
 - Tissu sain
 - limites

Techniques d'étude des prélèvements tissulaires

■ Fixation :

- indispensable pour conserver la morphologie cellulaire
- **Toute fixation défectueuse rend l'examen anatomo-pathologique impossible**
- Doit être faite le plus rapidement possible
- Par le pathologiste si labo à proximité (<1h)
- Par le préleveur +++

- Précautions à respecter pour la fixation :
 - Volume de fixateur suffisant : 10 fois le volume du prélèvement
 - Récipient de taille suffisante pour éviter les déformations
 - Ouvrir les organes creux, trancher les organes pleins pour faire pénétrer le fixateur

Types de fixateurs

- Formol tamponné à 10% +++++
- *Liquide de bouin*
- *Fixateurs alcooliques, en cours de développement*
- *Paraformaldehyde*
- *Glutaraldehyde*

FORMOL

- La durée de la fixation dépendant de la taille du prélèvement :
 - 1 H pour un culot cellulaire
 - 5-12 H pour une petite biopsie
 - >24 H pour une pièce opératoire
- Induit des pathologies professionnelles : Allergie, Cancer → développement de substituts

La suite de la technique

- Faire un bloc de paraffine
- Faire une coupe
- Colorer les coupes

- Imprégnation et inclusion en paraffine
 - Prélèvements placés dans des cassettes en plastique
 - Déshydratation par des bains successifs d'alcool
 - Solvants (toluène, xylène) pour éliminer l'alcool
 - Imprégnation des tissus dans de la paraffine chaude, puis refroidissement



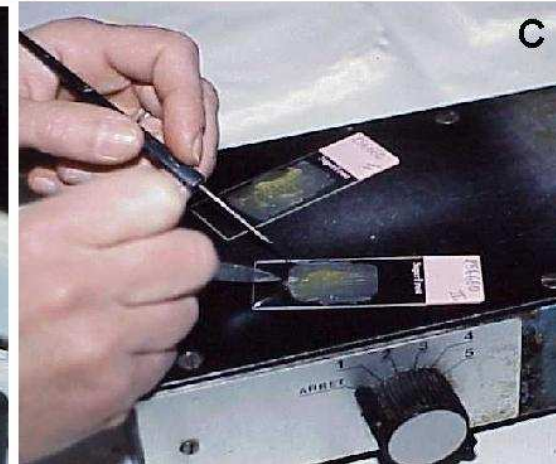
TECHNIQUES

- L 'INCLUSION ABOUTIT AU BLOC EN PARAFFINE, MATERIEL A PARTIR DUQUEL S 'EFFECTUE
 - LA COUPE
 - LES COLORATIONS DE ROUTINES
 - LES TECHNIQUES SPECIALES

COUPE

- Effectuée au *microtome*
- Avance réglable : coupes tissulaires de 3 à 8 μm d'épaisseur

COUPE

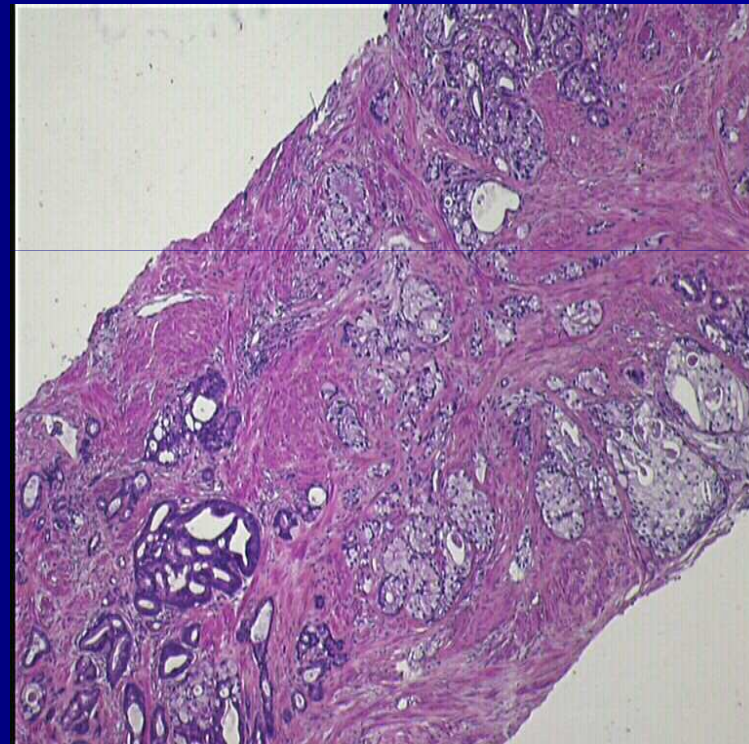


COLORATION



COLORATION STANDARD

- Hématoxyline Eosine Safran
 - Hématoxyline : coloration des noyaux
 - Eosine : coloration des cytoplasmes en rose
 - Safran : coloration du collagène en orange



Montage

- Montage entre lame et lamelle nécessaire à l'examen au microscope.
 - lamelle de verre
 - film plastique collé au baume.

Montage (manuel) des lames

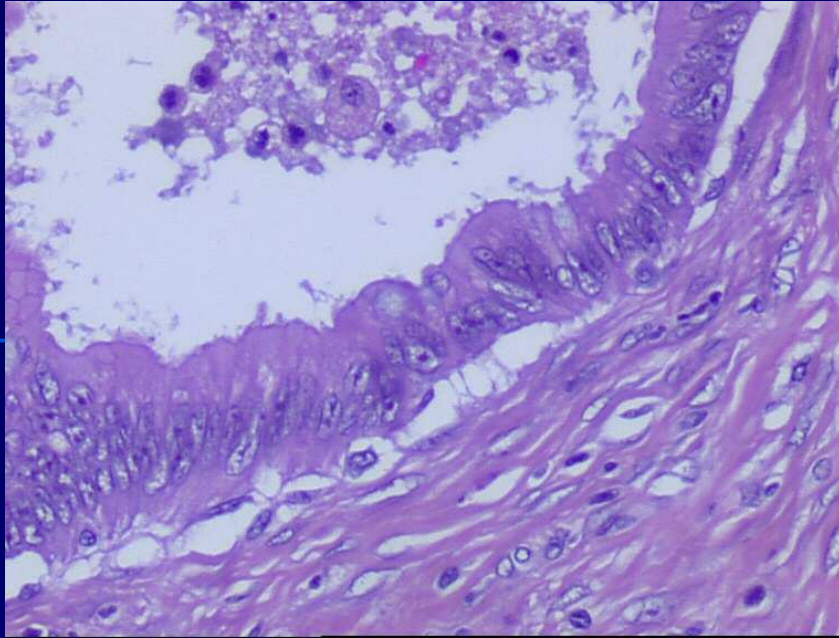


1. Déposer une goutte de milieu de montage sur les lamelles (1)
2. Appliquer la lamelle sur la lame (2)
3. Poser l'étiquette identifiant la coupe (3)

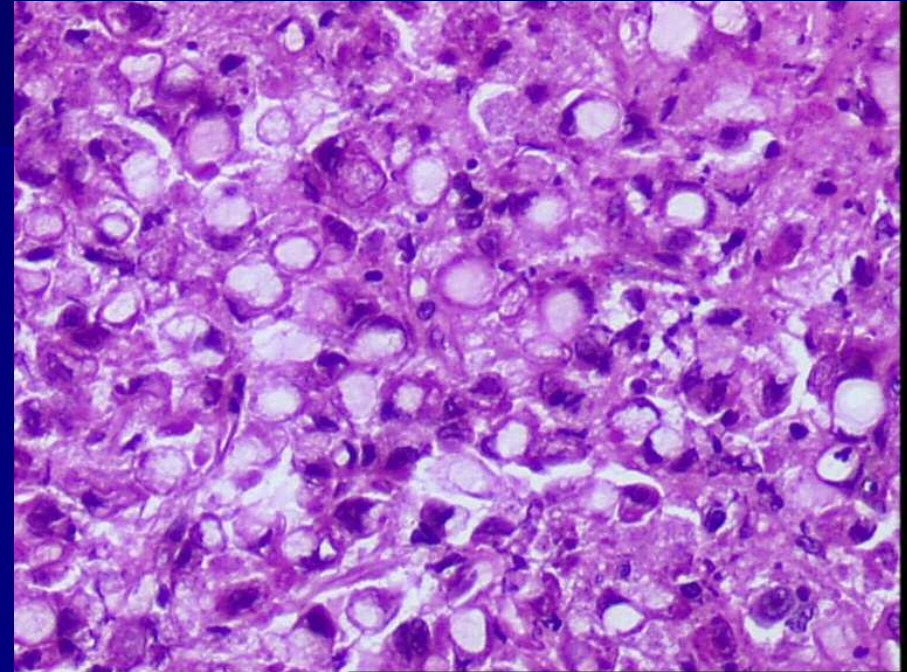
Montage (automatique) des lames



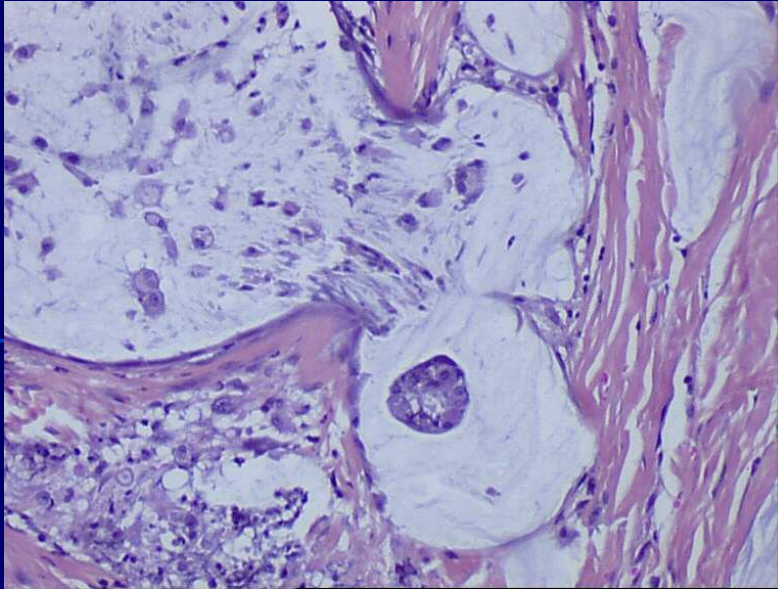
Pour le montage de très grandes séries, il peut être intéressant d'utiliser un automate



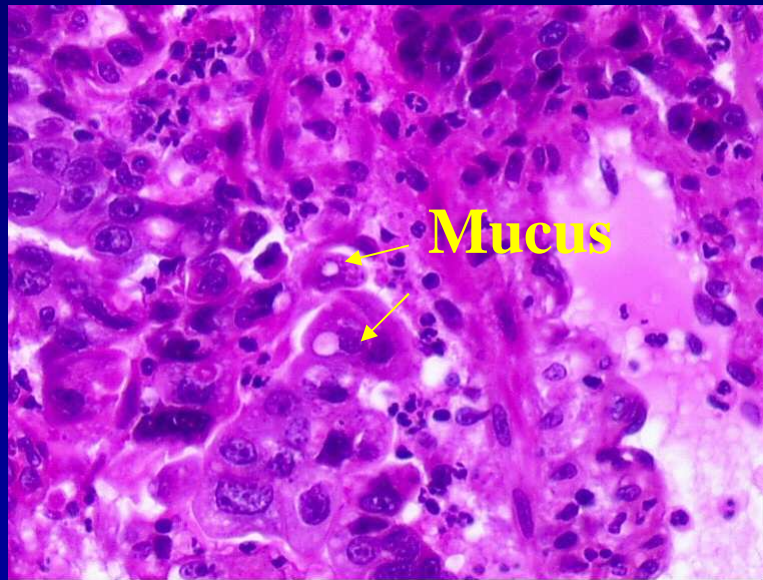
ADK lieberkhunien



Cellules en bague à chaton



Adénocarcinome colloïde

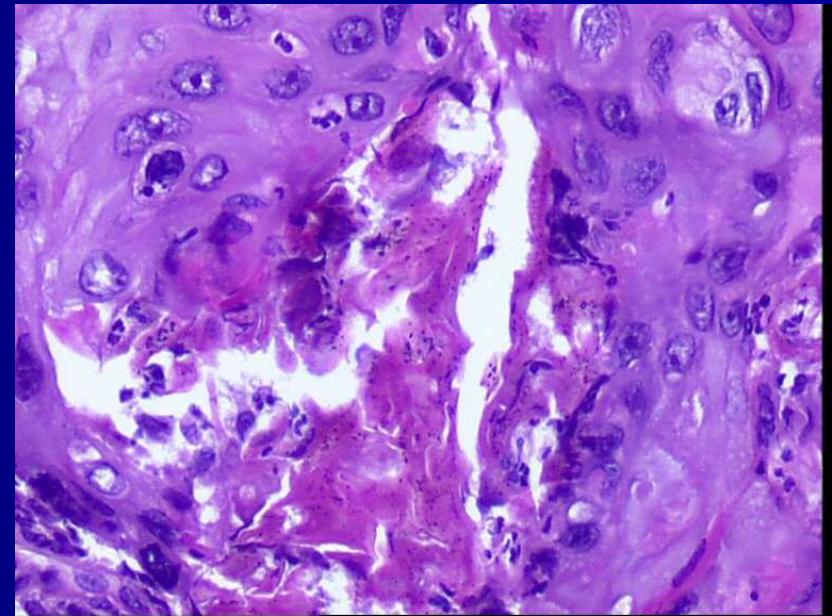
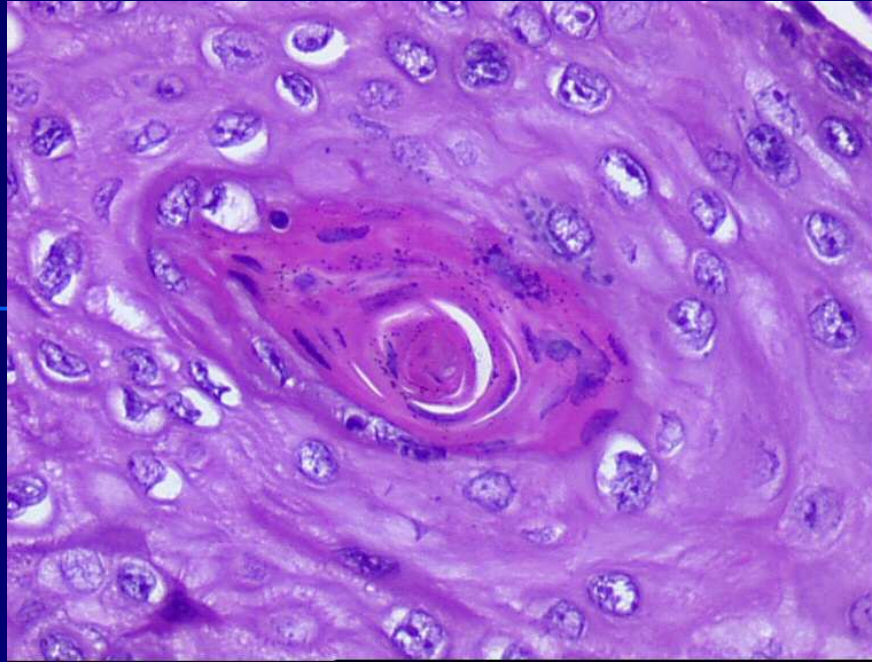


HES

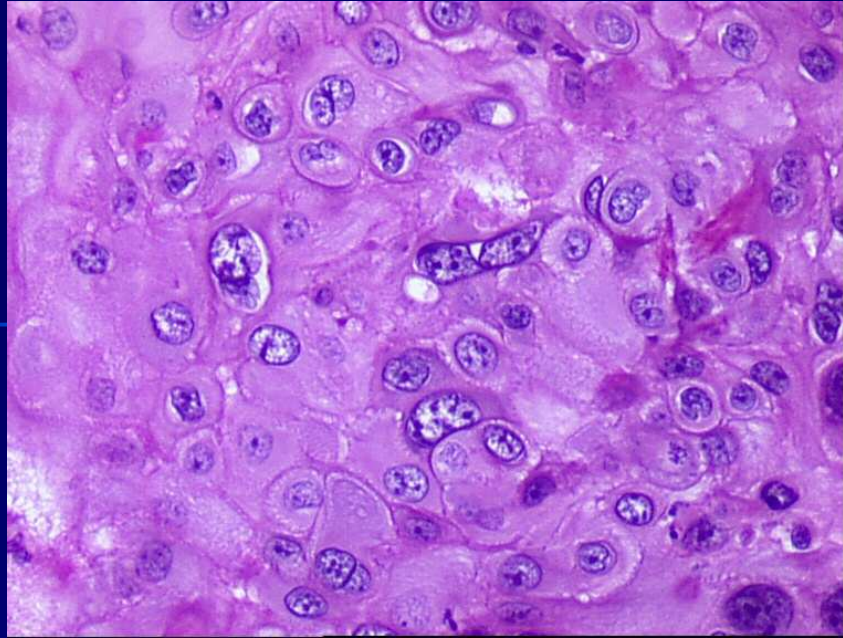
Adénocarcinome peu différencié



Bleu Alcian



Carcinome malpighien
kératinisation



Carcinome malpighien

CONCLUSIONS

- La qualité des techniques de laboratoire est dépendante de la prise en charge initiale du prélèvement
- Une erreur au stade initial compromet le diagnostic
- Le diagnostic repose sur une confrontation des éléments cliniques, paracliniques et histopathologiques

Techniques spéciales

- *Jeudi prochain ...*