

La microscopie électronique II

Apport de la microscopie électronique (ME) dans les Sciences Biologiques et médicales en 2012.

IV. Applications pour le diagnostic

A/ En pathologie tumorale

cf fiche du 03/05

B/ En pathologie infectieuse

- Pathologie virale ; ex : *SIDA, SRAS, ...*
- Pathologie bactérienne
- Pathologie parasitaire
- Pathologie mycotique (= champignons)
- 5^e groupe d'agents pathogènes : agents indéterminés ; ex : *Prion* → certaines maladies neuro-dégénératives cérébrales

Anapath (histopathologie) → étude des tissus ou des cellules

Laboratoire de microbiologie → liquides

Virologie → sang

Bactériologie → sang

Donc, pathologistes et microbiologistes sont 2 groupes de labos complémentaires.

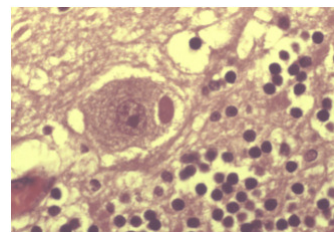
Pour mettre en évidence des agents pathogènes sur ces tissus, on peut faire des colorations.

Méthodes diagnostiques des maladies infectieuses en histopathologie :

- Coloration standard : **HES** (hématine – éosine – safran)
- **Colorations histochimiques complémentaires** (spécifiques) : détection de certaines agents pathogènes
 - PAS
 - Gomori-Grocott
 - Gram
 - Ziehl → détection des *mycobactéries de la tuberculose*
 - Warthin Starry
 - Bleu Alcian
- **Immunohistochimie** : Ac anti-Ag viraux, parasitaires → détection d'agents pathogènes en microscopie optique
- Biologie moléculaire : **PCR** (tissus congelés ou inclus en paraffine) → amplification de l'ADN
- **Microscopie électronique** (= outils supplémentaire pour le pathologiste) : pour 1000 échantillons qui arrivent au labo d'anapath pour faire le diagnostic de maladie infectieuse, seuls 1 ou 2 partent en électronique.

1. Les virus

≈ 2 pathologistes spécialisés dans les maladies infectieuses en France, une 10N en Europe / alors que dans le monde du cancer, il doit y avoir 300-400 spécialistes des tumeurs.



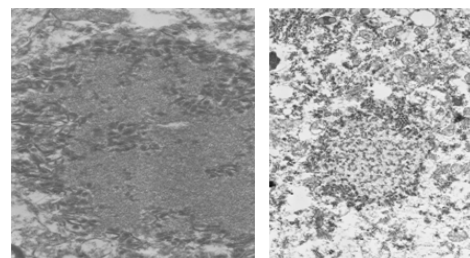
❖ *Coupe histologique du cervelet* (obtenue à partir d'une autopsie) :
⇒ Cellules de Purkinje : sans noyau, sans nucléole, sans cytoplasme

Ce patient a écrasé un chien avec son 4x4. Il est sorti de la voiture pour voir comment il allait et il s'est fait un peu mordre ou griffer, mais c'était peu profond donc il n'a pas consulté.

3 semaines plus tard, il a été admis aux urgences à St Roch avec des troubles psychiatriques, et a été orienté vers un centre psy par l'interne.

1 signe aurait pu orienter l'interne, signe pathognomonique de cette infection : l'hydrophobie (le patient réclamait à boire, mais dès qu'on lui approchait un verre d'eau, il en avait une phobie terrible). **L'hydrophobie est un signe pathognomonique de l'infection rabique !**

Le patient est décédé en réanimation d'une mort suspecte indéterminée, et a donc été autopsié. En analysant le cerveau du patient, on a découvert des **corps de Negri**, quasi pathognomoniques de l'infection rabique (petite « boule rouge » sur la coupe histologique).



En ME : **Corps de Negri** = particules virales = virion rabique (rage).

Course de vitesse entre l'arrivée du virus dans les neurones et l'antidote (immunisation par Ac). Le virus remonte en 3mm/h ; il met donc plus de tps à attendre le cerveau s'il a pénétré au bout du doigt qu'au niveau de la gorge. Parfois, la rage se déclenche 9 mois après la morsure, donc un long délai n'écarte par le

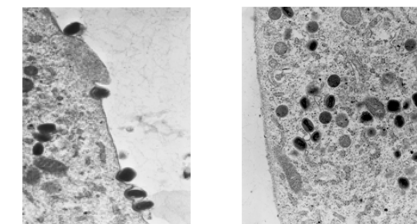
diagnostic. Diagnostic sur un patient vivant : empreinte cornéenne pour détection des virions en ME à fluorescence.

L'animal doit être capturé. S'il n'est pas vacciné, on lui coupe la tête et on l'envoie à l'institut Pasteur.

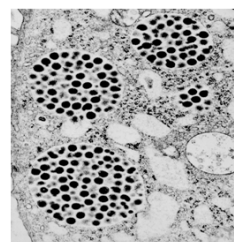
- ❖ **Coronavirus** = virus du SRAS. Il a pris naissance en Asie du Sud-Est, transmis par des rongeurs.

⇒ Infection respiratoire cataclysmique.

Diagnostic facile en ME.



- ❖ **Cytomégalovirus**



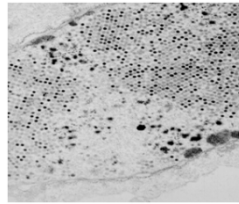
Il se déclare souvent chez un **sujet immunodéprimé** (SIDA ; traitement immunosuppresseur après greffe d'organe). En général, un traitement immunosuppresseur réactive un virus déjà porté par le sujet ; ex : 95% des sujets sont porteurs du CMV ; idem pour le virus d'epstein-barr ; quasi tous porteurs de la toxoplasmose. Ce virus détruit le tube digestif, le cerveau, le poumon, donne des rétinopathies de type décollements de rétine ...

UE8 : Biopath et Biotech

ME : groupes de virus très particuliers intra-cytoplasmique, bien arrondis → diagnostic facile. Mais l'électronique prend du tps, donc on utilise + souvent une approche immunohistochimique.

❖ **Adénovirus**

Chez l'immunodéprimé. Donne souvent une infection pulmonaire. Le diagnostic est difficile en histologie standard car il y a peu d'Ac ; donc on utilise souvent la ME. ME : aspect en damier caractéristique.



❖ **VIH**

Diagnostic immunohistochimique facile : Ac anti-P24 → sérologie typique, donc pas besoin de la ME. J-C Chermann est un chercheur français en virologie. Il travaillait à l'institut Pasteur lorsque le virus du SIDA a été découvert en 1983.

2. **Les bactéries**

En générale, les infections bactériennes (Escherichia Coli, Staphylocoque, Streptocoque, ...) ne nécessitent pas de diagnostic en ME. C'est la microbiologie, et donc le labo de bactério, qui les diagnostique.

❖ **Helicobacter Pylori.**

Il s'agit d'une bactérie que l'on retrouve dans l'estomac et qui va être à l'origine de gastrites et d'ulcères gastro-duodénaux.

Traitement : antibiotiques.

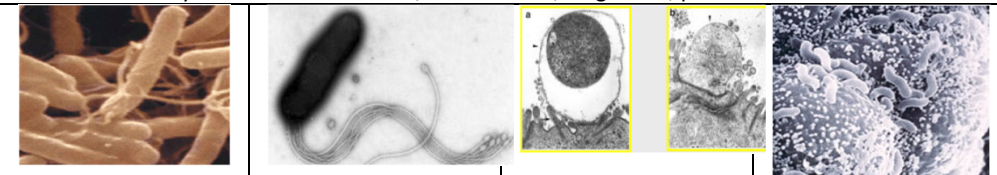
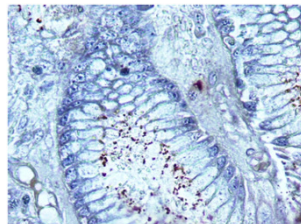
Diagnostic : biopsie par endoscopie.

H. pylori est visible à la surface épithéliale. Elle s'accroche aux microvillosités de l'épithélium grâce à son flagelle (ME à balayage donc 3D).

95% de la pop infectée en Algérie / 15% en France.

Une faible proportion de ces personnes infectées va développer des cancers de l'estomac. Il s'agit d'un *carcinogène de classe 1*, comme le tabac. **On relie l'infection chronique à H. pylori à la survenue d'un cancer gastrique (+++).**

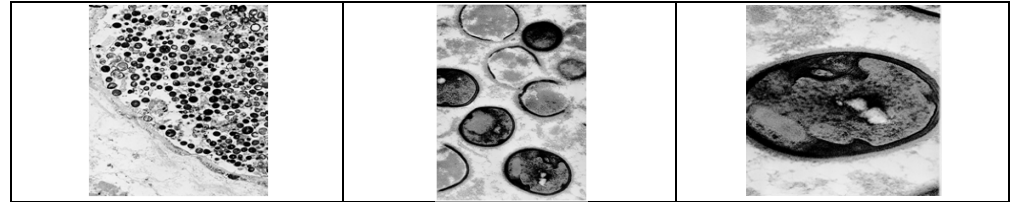
Les bactéries H. Pylori sont visibles en ME, mais ce n'est, en général, pas nécessaire !



❖ **Cocci : Staphylocoques**

On peut voir toutes les bactéries en ME, mais en général lorsque vous avez une infection cutanée à staphylocoques, seule la bactériologie est nécessaire.

Autopsie d'un toxicomane : on est dans du muscle cardiaque. On peut observer en ME des staphylocoques, injectés avec de l'héroïne → myocardite à staphylocoques → trouble du rythme brutal → mort subite.



C'est un cas qui reste exceptionnel : l'électronique ne sert pas en routine. C'est intéressant pour connaître la cause du décès.

❖ **Angiomatose bacillaire**

Maladie qui a disparue aujourd'hui mais qui était autrefois courante ; « les maladies infectieuses apparaissent, disparaissent, parfois réapparaissent. On peut aussi avoir de nouvelles maladies, dites émergentes ».

On observe en ME des framboises bacillaires chez le patient co-infecté par le VIH (nombreuses infections car le patient VIH + est immunodéprimé).

Ces bactéries infectent principalement les cellules endothéliales.

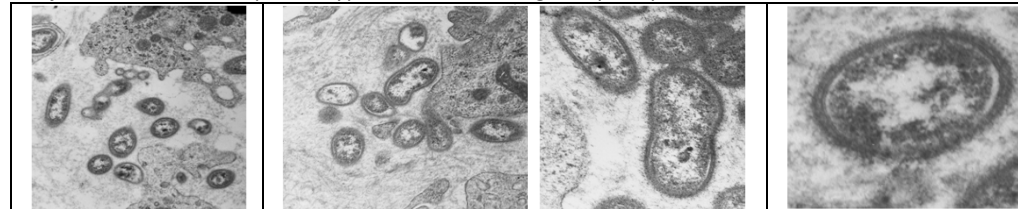
Diagnostic différentiel (++) : **sarcome de Kaposi**, qui donne les mêmes lésions chez un patient co-infecté par le VIH. Hyper important de faire le diagnostic !!!

Traitement sarcome de Kaposi ≠ ABQ car il s'agit d'un cancer cutané. Donc chimio.

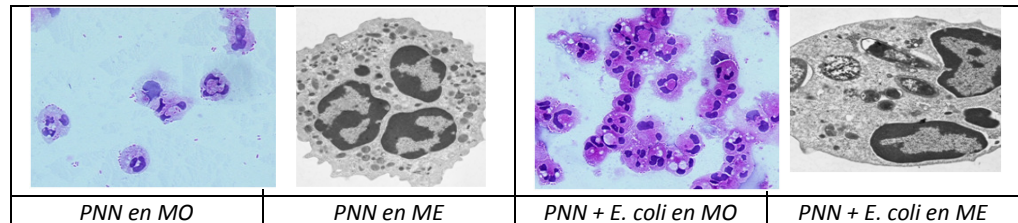
Traitement angiomatose bacillaire : ABQ de type macrolides.

Avant, on ne connaissait pas cette infection bactérienne et on la traitait, comme un sarcome de Kaposi, par de la chimio → prolifération accrue des bactéries !!

Aujourd'hui, on ne voit plus ce type d'infection ; on ignore pourquoi.



Comparaison microscopie électronique et microscopie optique : les polynucléaires neutrophiles



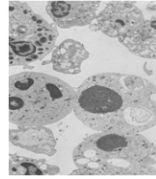
UE8 : Biopath et Biotech

PNN en MO : grandissement x 400

PNN en ME : x 2000 (noyau trilobé, granulations ...)

Il n'y a aucun intérêt à la ME dans cette infection urinaire à E. coli (« juste pour s'amuser ^^ »).

Apoptose des PNN visible en ME : fragmentation nucléaire



3. Les champignons

Tous les champignons sont diagnostiqués en microscopie optique.

Quasi pas d'indication à la ME lorsque l'on a une mycose. La ME n'a aucun intérêt pour le patient.

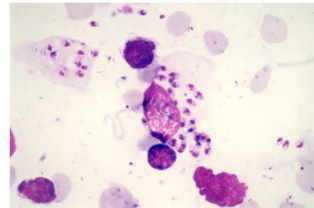
4. Les parasites

❖ Leishmaniose

Porteurs : porcs, chiens → les chiens en meurent par paralysie des pattes arrières.

Transmission à l'enfant et à l'immunodéprimé par le *phlébotome* (= moustique qui pique les jarrets des hommes).

Ici, infection du cytoplasme d'un macrophage, dans la moelle.



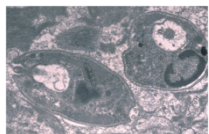
Clinique : **Pancytopénie** (anémie, thrombopénie, neutropénie) + **hépatosplénomégalie** → 2 diagnostics possibles chez un enfant de 5 à 15 ans : la **leishmaniose** ou la **leucémie** (enfant qui saigne des gencives lorsqu'il se brosse les dents, qui se plaint d'une asthénie intense + pâleur (= anémie) + angines à répétition (car thrombopénie) + hépatosplénomégalie).

Diagnostic : myélogramme avec un trocart. Il faut aller entre les diploés externe et interne, au niveau de la moelle sans transpercer le patient.

⚠ Patients âgés dont les os sont ostéoporotiques, friables !

La ponction de moelle se fait dans le sternum ou la crête iliaque.

On met le prélèvement sur une lame de verre, et on fait une coloration.

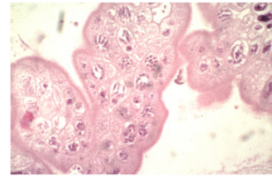
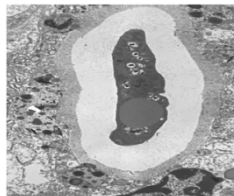


Leishmanie (fort grandissement) : flagelle + kinétoplasme (son *moteur*, ce qui lui permet d'avancer).

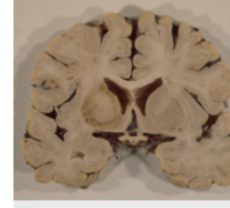
❖ Isosporose

Au niveau de l'épithélium du duodénum.

Cette maladie ne se voit plus (pas de diagnostic depuis ≈ 30 ans à Nice).



❖ Toxoplasmose



Elle provoque des diarrhées aqueuses cataclysmiques → mort par déshydratation.

Elle survient souvent chez des patients ayant voyagés en Afrique et/ou co-infectés par le VIH.

← *Abcès toxoplasmique (coupe transversale de Charcot)*

90% de la pop est positive à la toxoplasmose.

⚠ Femmes enceintes n'ayant jamais été infectées par la toxoplasmose (surveillance !). Si primo-infection pendant leur grossesse → fœtopathies → enfants avec de petits yeux + calcifications de la faux du cerveau.

Risque d'être infecté si consommation de viande crue ou si contact avec un chat.

Clinique : ganglions, en général spinaux, au niveau de la nuque + fébricule. En générale, passe inaperçue.

⇒ Toxoplasmose positive + immunodépression (toxoplasmes dans cerveau, cœur et muscles qui donnent des kystes) → si immunodépression, ces kystes explosent → réaction inflammatoire → abcès, souvent cérébral = **réactivation toxoplasmique**.

⇒ Primo-infection toxoplasmique + immunodépression = infection toxoplasmique disséminée → décès d'une **infection toxoplasmique disséminée multi viscérale**.



❖ Microsporidiose

Epithélium colique (MO)

Clinique : diarrhées.

Diagnostic chez des sujets co-infectés par le VIH.

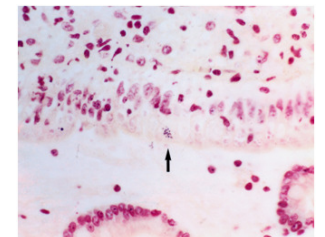
Traitement : aucun !

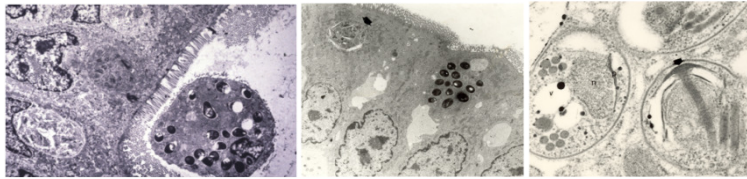
Décès en 3 mois. On ne peut rien faire.

Transmission : par les selles.

Diagnostic : **microscopie électronique**.

Les microsporidies se voient en ME. Elles ont été identifiées chez l'homme en ME en 1993.





❖ **Cyclospora**

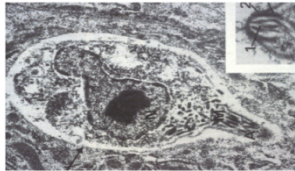
Infection humaine chez un sujet co-infecté par le VIH.

Traitement : aucun !

Clinique : infection digestive → décès.

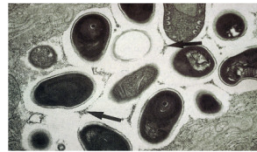
Diagnostic : ME → aspect en raquette.

Agent pathogène mal connu, rare.



❖ **Septata intestinalis**

(non traité par le prof)

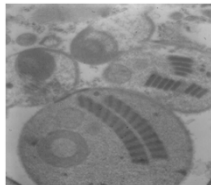
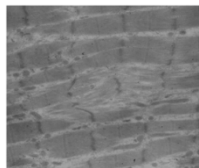


C/ En pathologie métabolique

- Glycogénoses
- Dyslipoidose
- Amylose et maladie de Randall
- Maladies des fibres élastiques et du collagène → syndrome de Marfan (sujets longilignes, hyperlaxes, bras très longs) : les fibres élastiques fonctionnent mal = élastopathie, notamment des valves cardiaques → décès par insuffisance valvulaire
- Pathologie musculaire (= myopathies) : myosite à inclusion, mitochondriopathies

Toutes ces maladies peuvent être diagnostiquées en microscopie électronique.

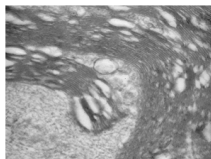
Muscle cardiaque normal, avec les stries Z →



❖ **Inclusions mitochondriales** = mitochondriopathie

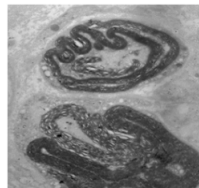
ME : On ne reconnaît plus les crêtes.

Douleurs musculaires intenses → toxicité musculaire liée à un médicament (ex : l'AZT).



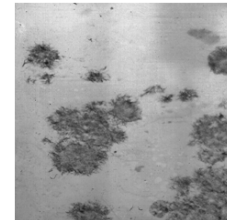
❖ **Nerf périphérique dystrophique**

La fibre commence à se distendre. Il s'agit d'un patient lépreux. Au cours de la lèpre, on a des neuropathies périphériques et des moignons



progressifs. C'est le début de la dégénérescence d'un nerf.

❖ **Cristaux de porphyrine**



Beaucoup de maladies iatrogènes nécessitent un diagnostic en ME.

Ex : **Surcharge à la cordarone** (mais diagnostic rare). La cordarone est un anti-arythmique fréquemment donné dans les troubles du rythme, mais qui provoque en cas de surcharge, une pathologie pulmonaire. On a du faire 1 diagnostic de surcharge à la cordarone en 4 ans à Nice.

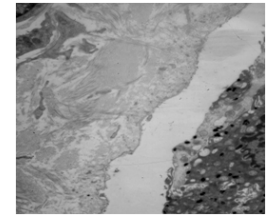
Problème de la ME : Elle nécessite de l'expertise, et les maladies dont le diagnostic est en ME sont rares. Ce sont donc des expertises qui se perdent.

❖ **Epidermolyse bulleuse**

Centre de référence des maladies rares à Nice, piloté par Jean-Philippe Lacour, dermatologue à l'Archet.

Il s'agit d'enfants qui naissent sans épiderme, comme écorchés vifs → problème d'attachement de l'épiderme au derme.

Ce diagnostic de clivage se fait en ME.



D/ Pathologies iatrogènes

- Inclusions de la cordarone
- Pathologie des antirétroviraux (= médicaments du SIDA)

Inclusion de la cordarone (liquide de rinçage bronchioalvéolaire)	Dépôt de cordarone (nerf)	Dépôt de cordarone (nerf)

E/ Pathologies diverses

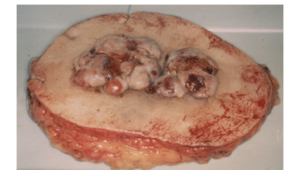
❖ **Malakoplaque**

« Maladie des plaques blanches » (*mala = blanc ; plaquie = plaques*)
Il s'agit d'un morceau de fesse. Sur cette fesse, on voit un « chou-fleur ».

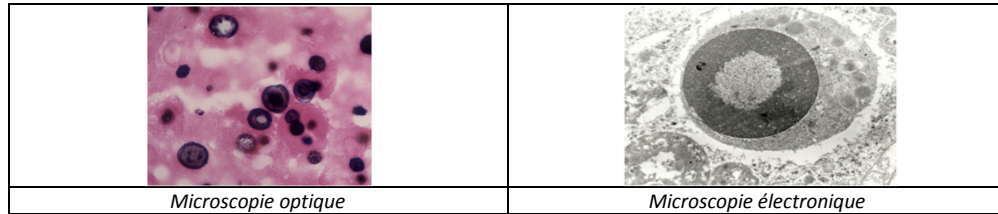
Patient âgé avec stagnation d'urine dans les couches → infections urinaires à répétition.

Ce patient âgé était aussi immunodéprimé et avait probablement un problème de phagocytose macrophagique.

Quand on voit ça, on pense que c'est une tumeur. Mais c'est une lésion pseudo-tumorale, liée à une infection.



Cette maladie est liée à une mauvaise phagocytose d'Escherichia Coli lorsqu'on a une phagocytose macrophagique défectueuse → accumulation de la bactérie Escherichia Coli dans la peau → sorte de tumeur. Touche souvent l'arbre urinaire, la peau, la vessie, les reins.

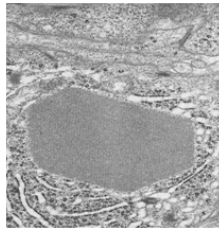


❖ **Dépôt de cristaux au niveau du testicule**

Pseudo-tumeur testiculaire.

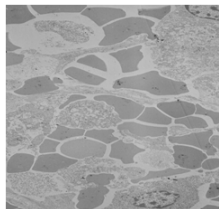
Cette image a voyagé dans le monde entier. On a fait appel à de grands pathologistes de ce domaine. Personne n'a su ce que c'était ; on ne sait toujours pas.

Parfois on recherche cette image chez d'autres patients pour en établir l'origine (prise d'un médicament particulier par exemple), mais on n'a toujours pas trouvé.



❖ **Hémophagocytose**

Les macrophages mangent les globules rouges. Cette maladie est souvent liée à une infection virale qui stimule les macrophages → phagocytose des globules rouges → décès.

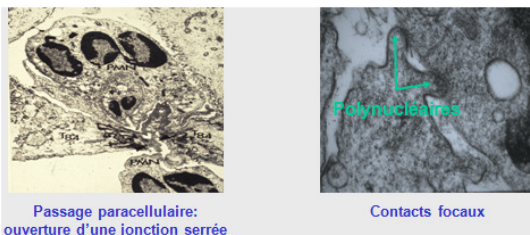


V. Exemples d'applications en recherche

Dans son labo d'anapath Hoffman doit recevoir environ 1 prélèvement pour le patient et une 100n pour la recherche. Dans son labo, ils ont étudié :

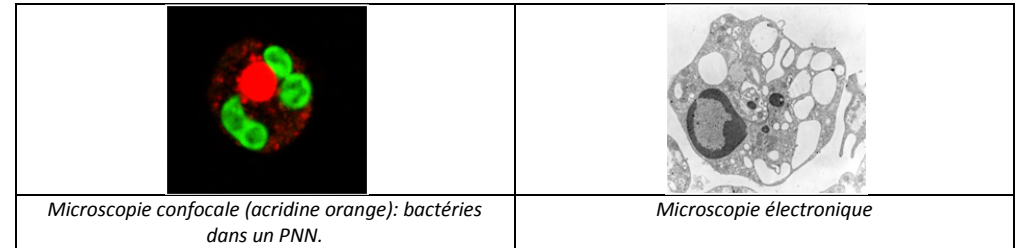
- L'interaction entre les cellules épithéliales et les cellules inflammatoires.
- L'interaction entre les bactéries et les cellules hôtes (→ reproduction in-vitro du phénomène de diarrhée ^^)
 - Interaction cellules inflammatoires / bactéries
 - Interaction cellules épithéliales / bactéries

Migration trans-épithéliale des PNN



Un PNN migre entre 2 cellules épithéliales. Ce passage est un phénomène actif. Conséquence : diarrhée. Les PNN passent à travers la barrière épithéliale digestive.

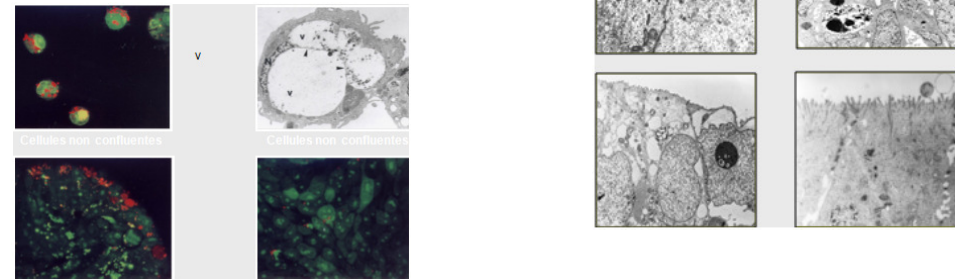
Helicobacter pylori et PNN



H. pylori sécrète une toxine, appelée **VacA**. C'est une toxine vacuolisante ; en fait, toutes les cellules sont trouées par H. pylori.

On reproduit in-vitro cette infection par H. pylori :

H. pylori dans des cellules épithéliales en culture →



On tente de lutter contre cette vacuolisation, mais les traitements n'ont pas encore été découverts.