

***ENSEIGNEMENT THEMATIQUE D'ANATOMIE-CYTOLOGIE
PATHOLOGIQUES***

Année universitaire 2022-2023

Introduction à l'anatomie et cytologie pathologiques

Plan

- Introduction Définition
- Buts
- Historique
- Démarche diagnostique
- Matériel étudié
- Méthodes
- Technique standard
- Techniques particulières
 - Histochimie
 - ImmunoHisto chimie ,Immunofluorescence
 - Microscopie électronique
 - biologie moléculaire
- Déontologie
- Conclusion

Objectifs

- **Objectif général**

- Situer la place de l'examen anatomo-pathologique dans la démarche diagnostique.

- **Objectifs spécifiques**

- Définir l'anatomie pathologique
- Citer les buts de l'examen anatomo-pathologique (
 - Poser le diagnostic,
 - Établir le pronostic,
 - Évaluer les effets thérapeutiques)
- Indiquer les examens (anatomo-pathologiques) utiles dans la démarche diagnostique
- Distinguer les différents types de prélèvements en anatomie pathologique
- Connaitre les différentes techniques utilisées en anatomie et cytologie pathologiques
- Comprendre l'importance de la confrontation des aspects morphologiques aux données cliniques, biologiques
- Appliquer les règles d'éthique et de déontologie à l'anatomie pathologique (secret médical, collaboration multidisciplinaire)

Introduction-Définitions

- **L'anatomie Pathologique (ou pathologie):**
 - Est une discipline médicale qui étudie les lésions associées ou provoquées par les maladies sur les **organes**, **tissus** ou **cellules**,
- **Lésions:**
 - **Altérations morphologiques des organes décelables par tout moyen d'observation**
 - Utilise des techniques basées sur la morphologie:
 - **Macroscopique**
 - **Microscopique**
- **But de l'anatomie pathologique:**
 - Etablir le diagnostic des maladies
 - Evaluer le pronostic
 - Comprendre les causes et les mécanismes des lésions.

Historique

Spécialité médicale ayant émergé au milieu du XIXème siècle

- A constitué élément structurant de la médecine moderne
- Par le développement des corrélations et confrontations anatomocliniques



Démarche de l'anatomie pathologique

- Est basée sur une analyse sémiologique qui compare les tissus normaux et les tissus pathologiques.
- Les lésions sont confrontées aux données:

- Cliniques ,
- Biologiques
- D'imagerie



C'est la corrélation anatomo-clinique

- Indispensable
- Permet une interprétation synthétique
- Aboutit à un diagnostic

Matériel d'étude et méthodes

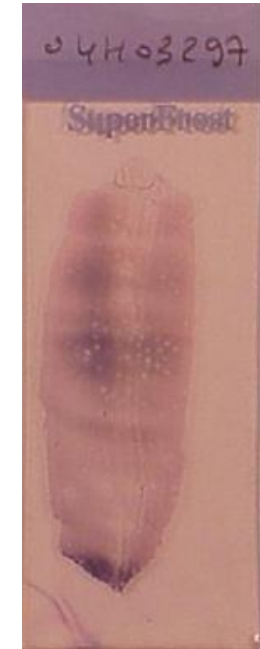
Les techniques anatomo-pathologiques s'appliquent à des prélèvements de tissus (histopathologie) ou de cellules (cytopathologie)

- Durant la vie: (Prélèvement cytologique, [biopsie](#) , pièce opératoire...)
- Après la mort ([autopsie](#), aussi appelée [nécropsie](#)).

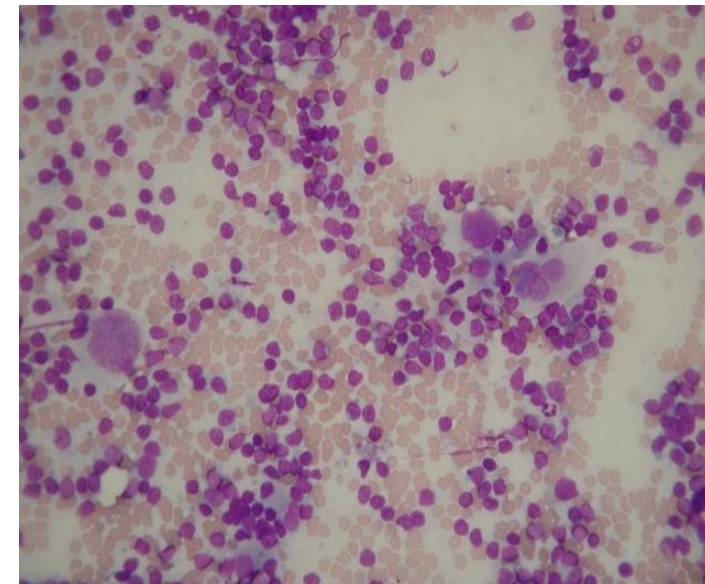
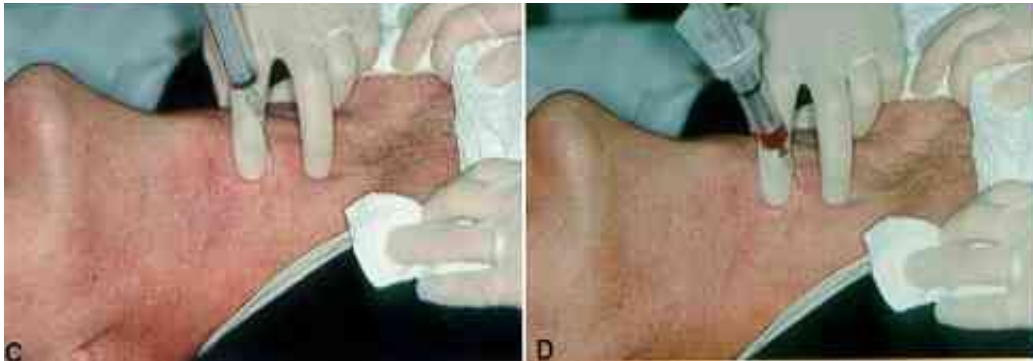
Prélèvements cytologiques: « Cytologie »

- - Raclage (Frottis Cervico Utérin) (FCU)
 - Aspiration (bronchique)
 - Desquamation (liquides: ascite, pleural, urines)
 - Apposition (ganglion....)
 - Cytoponction à l'aiguille fine avec ou sans aspiration (thyroïde, sein, ganglion, masse tumorale ...)
- Les produits de ponctions, empreintes, frottis seront étalés sur lames propres et sèches
- L'étalement est un temps capital de la cytologie et doit être parfaitement maîtrisé par le préleveur « opérateur dépendant »:
 - Étalement du produit de ponction déposé à une extrémité de la lame avec une autre lame, d'une manière uniforme, sans retour en arrière, en dissociant sans écraser les placards cellulaires pour obtenir un étalement en couche monocellulaire

Matériel pour prélèvement cytologique



Technique de prélèvement Ex: Cytoponction thyroïdienne

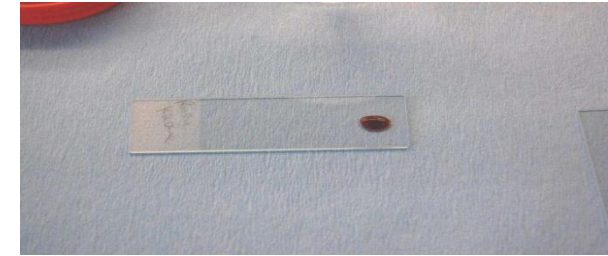


Les liquides

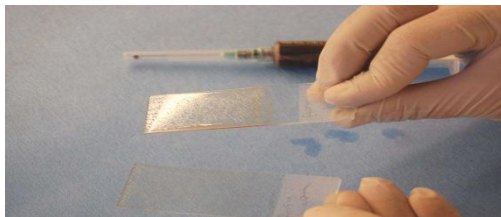
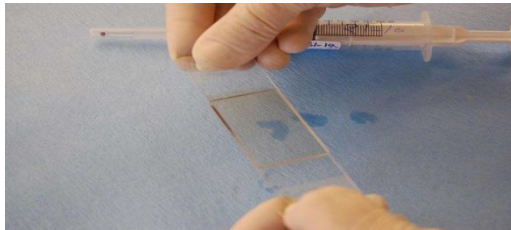
- sont transmis rapidement au pathologiste qui les:
 - Centrifuge ,
 - Étale sur lames
 - Ou inclut en paraffine le culot de centrifugation « cytobloc »



1. Centrifugation et récupération du culot



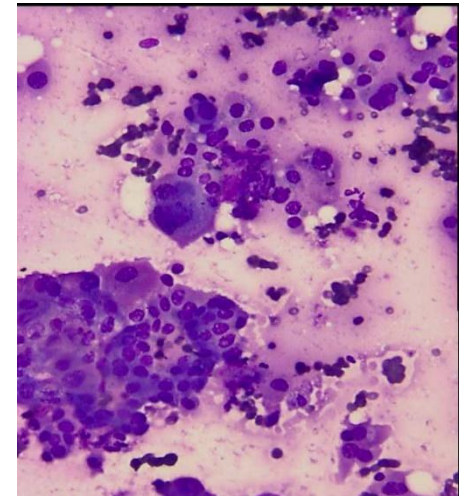
2. Dépôt du culot sur la lame



3. Étalement sur lame



Fixation



Méthodes

Fixation

- Séchage à l'air (MGG)
- Cytospray
- Alcool éther

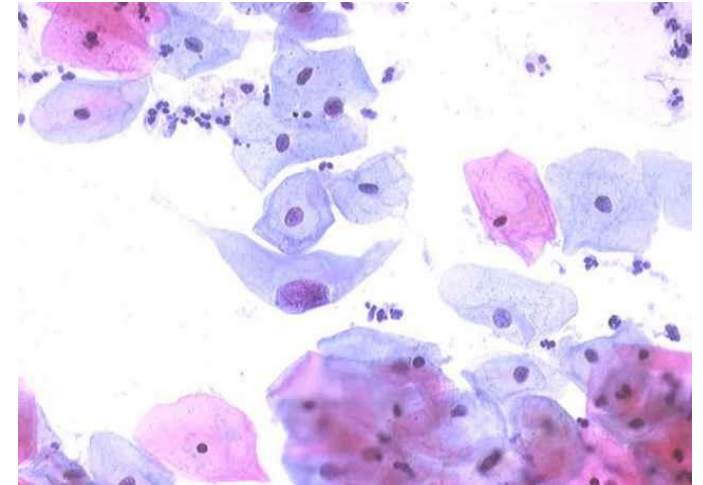
Coloration

May-Grunwald-Giemsa

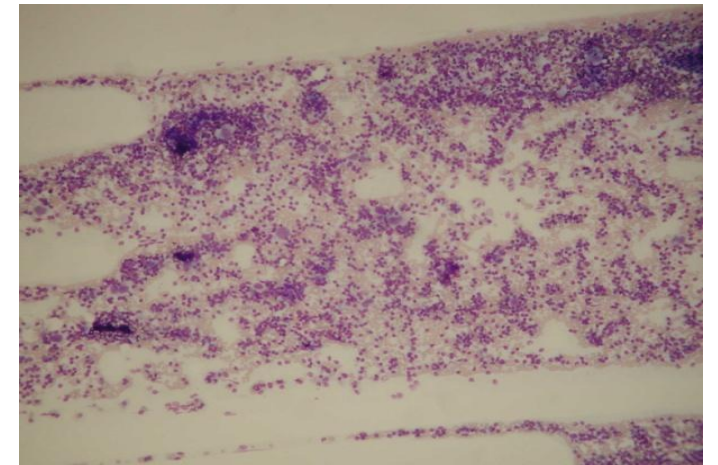
Papanicolaou

Papanicolaou
Harris-Shorr

NB: le diagnostic cytologique est un diagnostic d'orientation et non de certitude



FC: Coloration Papanicolaou



Cytoponction: coloration MGG

La cytologie en milieu liquide

- Contrairement à la technique classique, les cellules recueillies sont déposées dans un contenant hermétique où se trouve déjà un liquide de conservation.
- Ce contenant est par la suite envoyé dans un laboratoire équipé pour produire la lame correspondante.
- prélèvement de cellules sur le col utérin des patientes à l'aide d'une brosse cervicale spéciale,
- les cellules recueillies sont déposées dans un contenant hermétique où se trouve un liquide de conservation.



Intérêt

Cytologie conventionnelle

Avantages

- Méthode de dépistage la plus commune
- Avantages
 - Coût faible
- *Inconvénients*
 - Déperdition d'un certain% de cellules avec la spatule ou la brosse cervicale
 - Présence de sang ou de mucus

La cytologie en milieu liquide

• Les avantages potentiels

- Une meilleure collecte des cellules → La diminution des frottis non interprétables
- Une préparation plus uniforme des lames → moins de rejets de lames inadéquates,
- Faciliter la lecture de ces lames.
- Augmentation de la productivité
- La possibilité de faire des tests de biologie moléculaire « Tests HPV »

• L'inconvénient majeur

- le coût élevé des tests pour un laboratoire de cytopathologie.
- Peu répandue

La biopsie

La biopsie est le prélèvement d'un fragment de tissu effectué sur un être vivant. Il peut être réalisé:

Au bistouri, à l'aiguille, à la griffe ou à l'emporte pièce («punch»).

La biopsie peut être effectuée à ciel ouvert, ou sous endoscopie

ou sous contrôle radiologique

Lorsque l'ensemble de la lésion est prélevé, on parle de biopsie-exérèse

Pièce opératoire

Exérèse partielle ou complète d'un ou plusieurs organes séparés ou en monobloc.

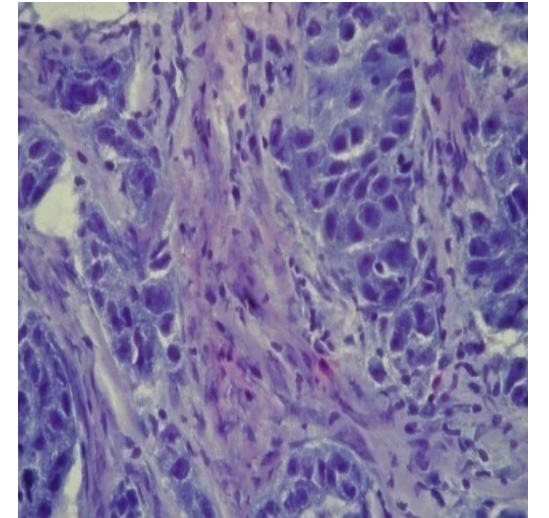
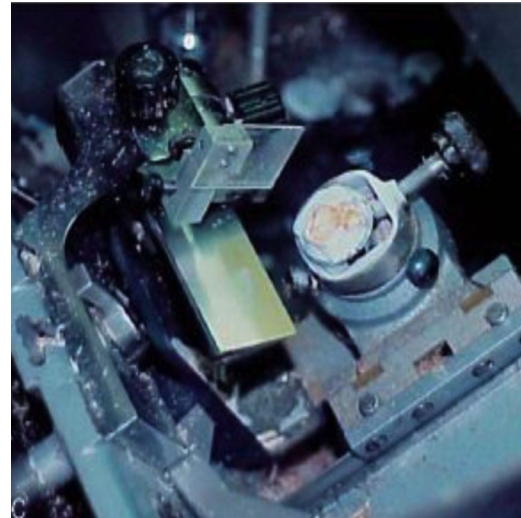
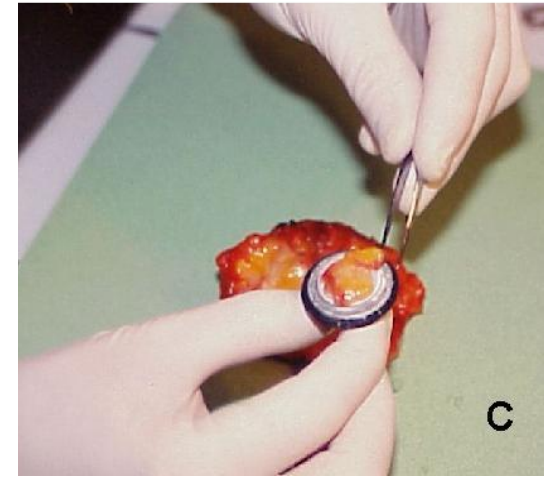
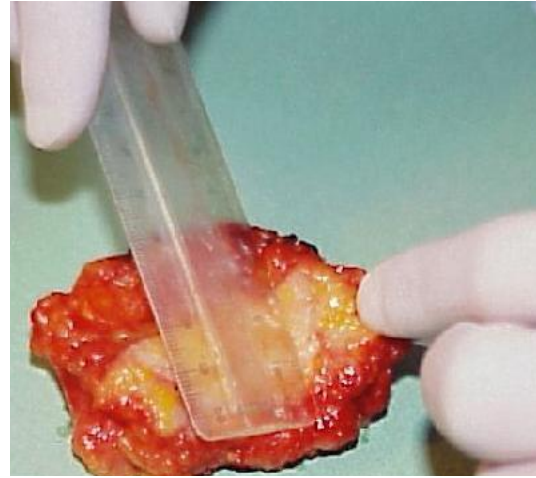


Pièces nécropsiques

- L'autopsie est suivie d'un examen microscopique des différents viscères.
- Elle doit être pratiquée le plus tôt possible après la mort afin d'éviter au maximum l' **autolyse** cadavérique.
- L'autopsie peut être réalisée dans un but:
 - **Judiciaire (ou médico-légal):** Apporter des éléments utiles à l'enquête (causes, circonstances, date de la mort...).
 - **Scientifique (ou médico-scientifique):**
 - Enseignement: pour l'étudiant qui pourra observer des faits concrets
 - Etudier les effets des traitements
 - Effectuer des recherches scientifiques
 - **De santé publique** dans l'établissement de statistiques exactes de mortalité dans une population

Examen extemporané

- Examen histologique per-opératoire, rapide (en quelques minutes).
- Il a pour but de donner un diagnostic immédiat, qui peut modifier le geste chirurgical en cours (vérifier la malignité, élargir une exérèse ...).
- Il s'effectue sur des coupes de fragments tissulaires congelés.
- Son interprétation peut être difficile et nécessiter l'attente de l'inclusion en paraffine



Cheminement du prélèvement

Enregistrement

- Chaque prélèvement est enregistré et reçoit un **numéro d'identification unique**.

Il doit être accompagné d'une fiche de renseignements remplie par le médecin prescripteur qui doit mentionner :

- La date (jour et heure)
- les nom et coordonnées du médecin prescripteur
- L'identité du patient : nom, prénom(s),
- Date de naissance, sexe ;
- Le siège,
- La nature du prélèvement (biopsie ou exérèse) ;
- Les circonstances cliniques et paracliniques qui ont motivé le prélèvement et éventuellement les hypothèses diagnostiques
- Les antécédents pathologiques du patient,
- Les antécédents d'examens anatomopathologiques effectués dans un autre laboratoire
- L'aspect macroscopique ou endoscopique des lésions (un compte-rendu opératoire peut être utilement joint),
- L'aspect d'imagerie, en particulier pour les tumeurs osseuses ;
- La nature des traitements éventuellement administrés au malade

Techniques standards d'anatomie pathologique

Étapes techniques

- 1 - Fixation
- 2 - Macroscopie
- 3 - Mise en circulation
- 4 - Inclusion en paraffine
- 5 - Confection de coupes
- 6 - Étalement
- 7 - Coloration de routine (HES)
- 8 - Interprétation

les différentes étapes sont fondamentales pour assurer une bonne interprétation histologique aboutissant à un compte rendu anatomo-pathologique précis

Techniques standards d'anatomie pathologique

Étapes techniques

1 - Fixation

- **Indispensable**: conservation de la morphologie cellulaire,
- **Immédiate** ou au moins très rapidement après l'obtention du prélèvement.
- Nature du fixateur:
 - **Formol tamponné 10%**
- Quantité:
 - 10 fois le volume de la pièce
- Durée de fixation:
 - Biopsies : 4 à 6 h
 - Pièces opératoires. 24 h au moins à 48h

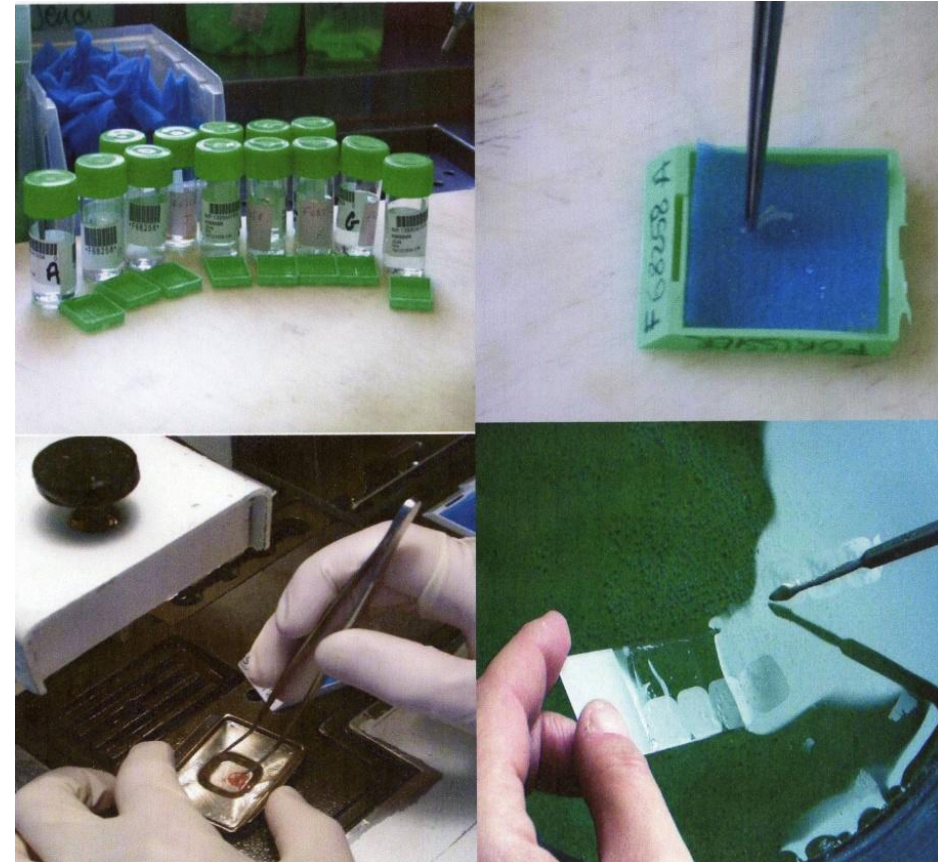
Techniques standards d'anatomie pathologique

Étapes techniques

2 - Macroscopie

Biopsies :

- Nombre
- Taille des fragments ,
- Mise en cassettes en totalité



Techniques standards d'anatomie pathologique

Étapes techniques

2 - Macroscopie

- Les pièces opératoires sont:
 - Mesurées
 - Pesées
 - Orientées
 - Décrites :
 - il est utile de noter la taille, l'aspect et la consistance des lésions tumorales ainsi que leur rapport avec le tissu sain avoisinant et les limites d'exérèse.



Échantillonnage, orientation des prélèvements

Techniques standards d'anatomie pathologique

Étapes techniques

2 - Macroscopie

- **Echantillonnage pertinent** des lésions, du tissu avoisinant, des limites d'exérèse.



Techniques standards d'anatomie pathologique
Étapes techniques

3 -Mise en circulation des prélèvements

- **Déshydratation:**
6 bains d'alcool à des concentrations progressives
- **Eclaircissement:**
Remplacement de l'alcool par le xylène ou toluène
- **Imprégnation en paraffine**



Techniques standards d'anatomie pathologique
Étapes techniques

4 - Inclusion en paraffine



5 - Confection de coupe au microtome

- Le bloc de paraffine contenant le tissu est coupé en fins rubans de 3 à 5 μm .



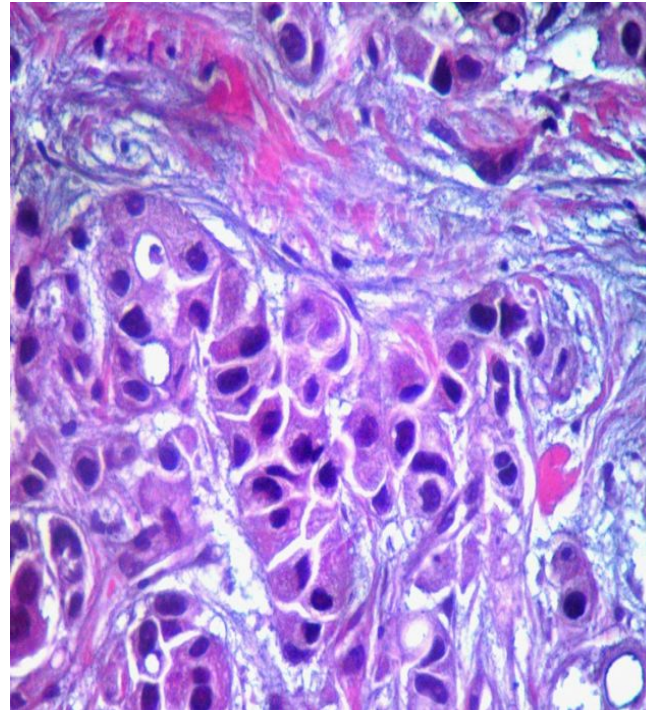
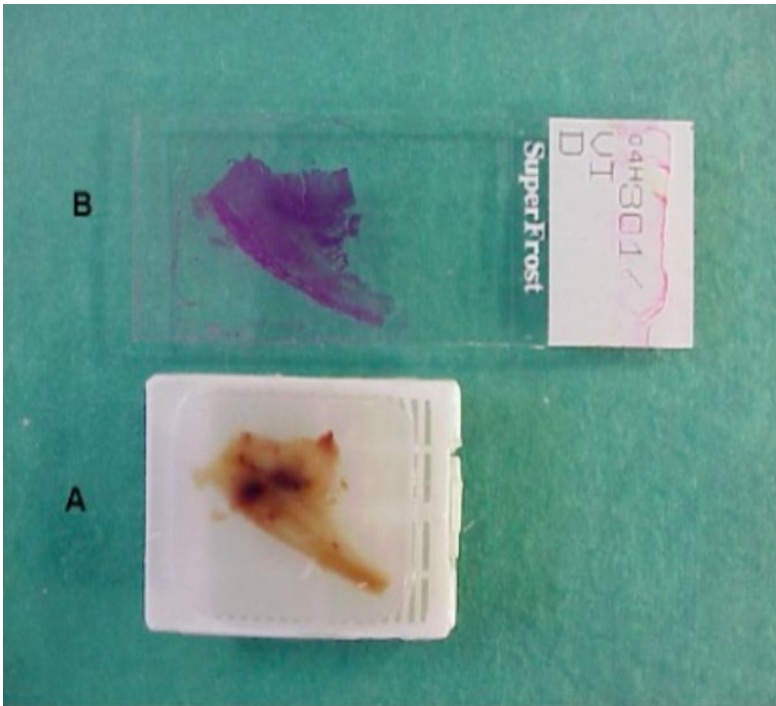
6 - Étalement sur lames

- Plusieurs coupes tissulaires sont étalées sur lames au bain marie .
- Les lames sont séchées et déparaffinées afin d'assurer une bonne adhésion des tissus à la lame avant la coloration.



7 -Coloration standard: (Hématoxyline-Eosine) « HE »

- L'Hématoxyline □ noyaux en bleu
- L'Éosine □ cytoplasme en rose



Appareil automatique à coloration



Coloration manuelle

Techniques particulières: **Histochimie**

- **Mise en évidence de:**

- Substances endogènes ou exogènes cellulaires (glycogène, mucus, pigments...) ou de la matrice extracellulaire (collagènes, fibres élastiques, amylose...)
- Structures tissulaires normales ou pathologiques
- Microorganismes (bactéries, parasites, champignons)

- **Suspectées par le pathologiste lors de son analyse initiale sur les coupes de technique standard.**

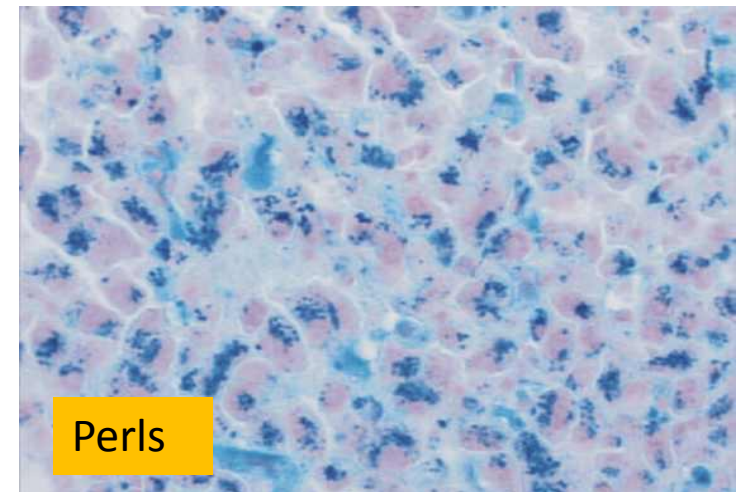
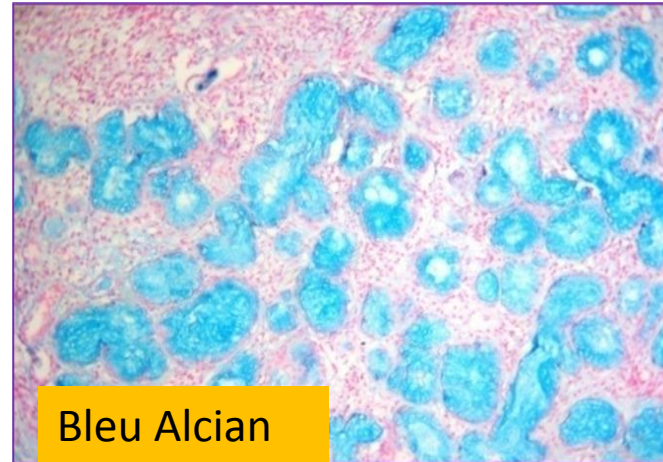
- Une nouvelle lame est nécessaire pour chaque coloration
- Chaque coloration spéciale a un protocole technique propre utilisant des substances chimiques très

Histochimie

Coloration	Cible
PAS	Glycogène/mucines neutres
Bleu Alcian	Mucines acides
Perls	Hémosidérine (fer ferrique)
Trichrome de Masson	Collagènes
Fontana-Masson	Mélanine, lipofuscines
Rouge Congo	Amylose
Orcéine	Fibres élastiques
Ziehl	Mycobactéries
Grocott	Champignons

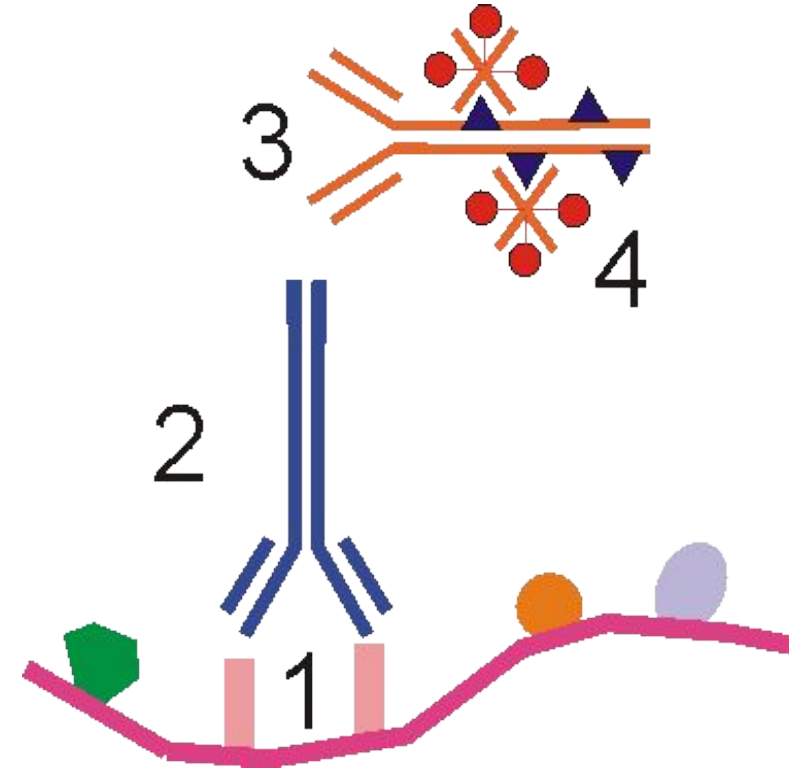
Histochimie

- Bleu Alcian:
- PAS: glycogène/ mucines neutres
- Trichrome de Masson: fibres de collagène
- Coloration aux sels d'argent: fibres de réticuline
- Perls: fer sérique



Examen Immunohistochimique (IHC)

- Consiste à révéler sur coupe histologique, par réaction antigène-anticorps, la présence de récepteurs antigéniques
 - Cytoplasmiques.
 - Membranaires,
 - Intranucléaires ,



1 - Antigène

3 - Anticorps 2,

2 - Anticorps 1

4 - Complexe Avidine-biotine-péroxydase

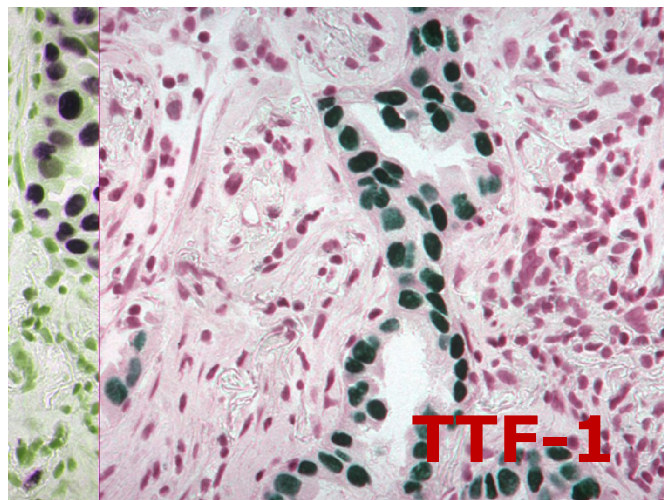
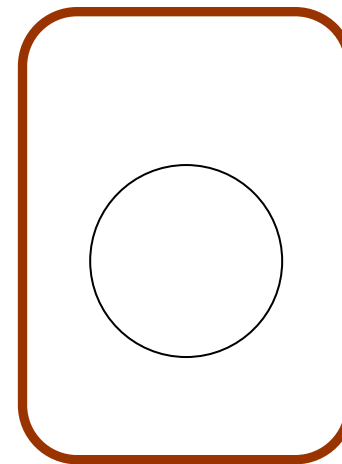
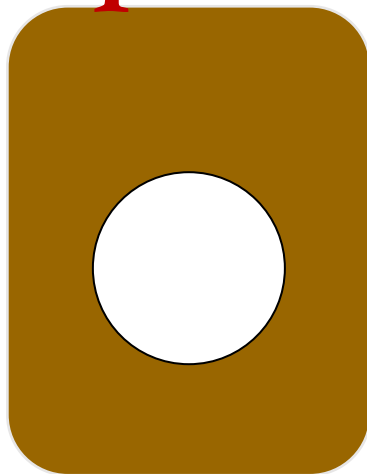
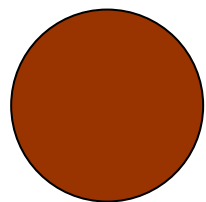
Automate d'immunohistochimie



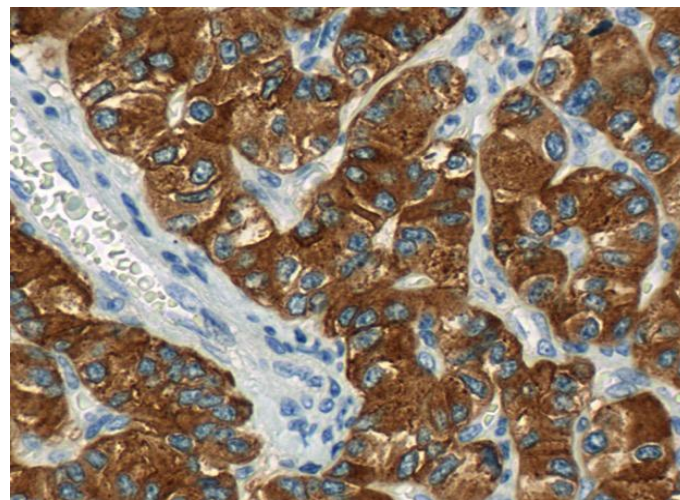
Mises en évidence d'antigènes sur les préparations histologiques à l'aide d'anticorps spécifiques, révélés par une technique d'immunoperoxydase indirecte).

IHC

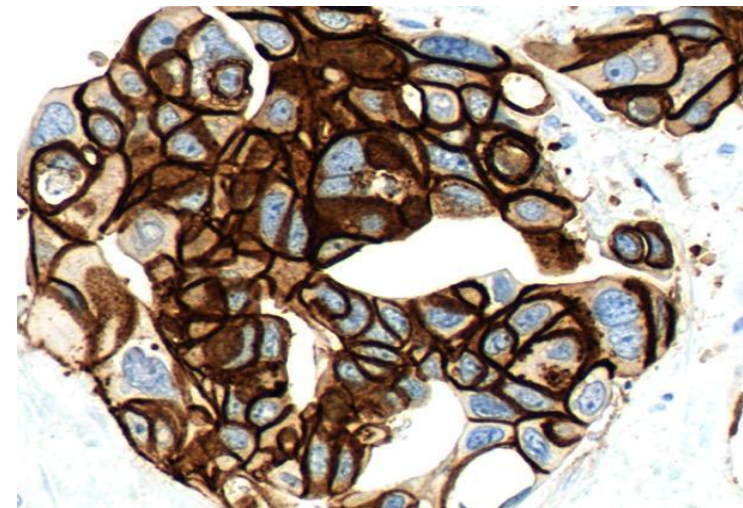
Modes d'expression cellulaire



Marquage nucléaire



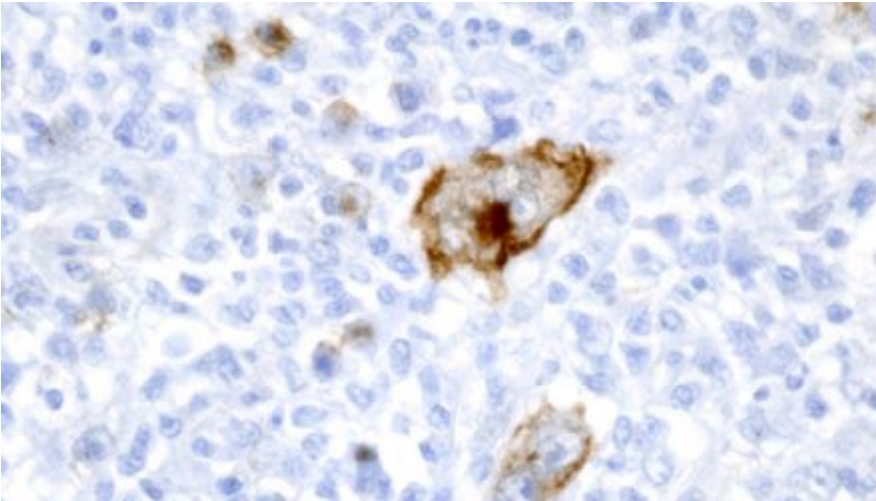
Marquage cytoplasmique



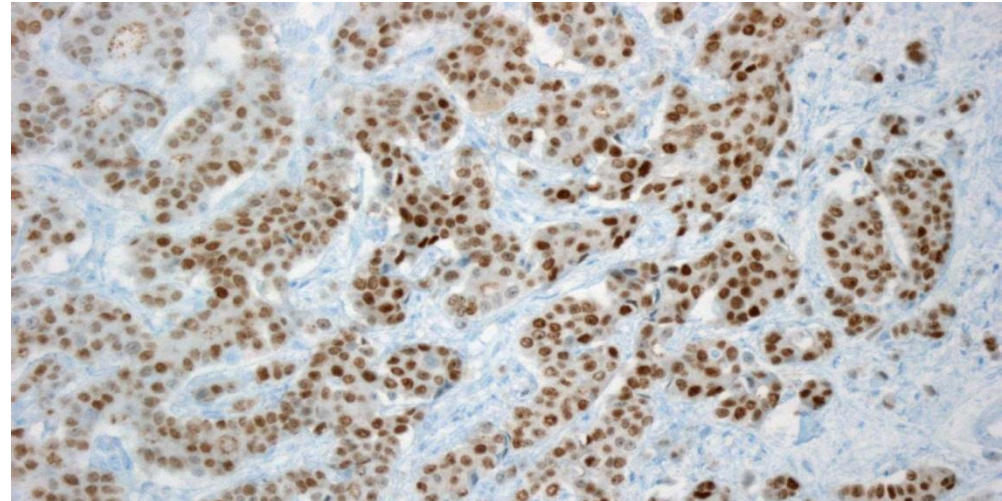
Marquage membranaire

Intérêt de l'immunohistochimie

- Typage des tumeurs malignes peu différenciées (primitive ou métastatique), des lymphomes et des sarcomes
- Orientation sur l'origine primitive d'un carcinome
- Détection de micrométastases
- Recherche de marqueurs pronostiques et thérapeutiques
- Micrométastase ganglionnaire
- Détection d'agents infectieux



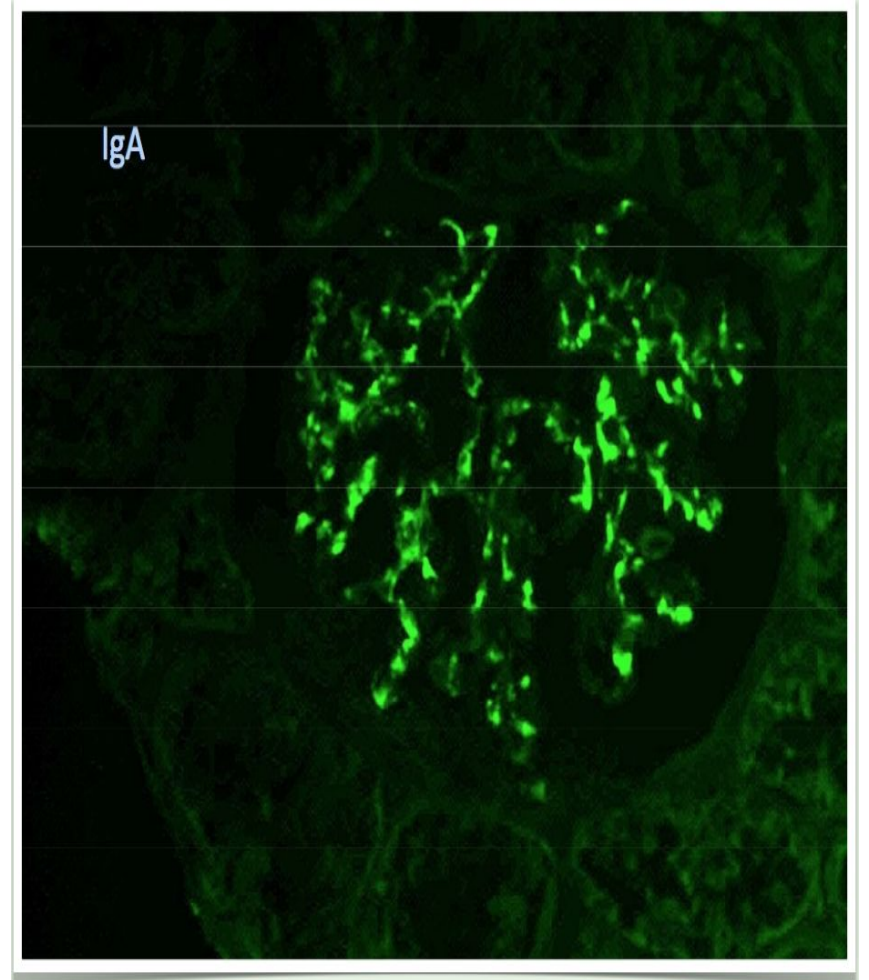
Marquage paragolgiar des cellules tumorales dans un lymphome Hodgkinien par un anticorps anti-CD30.



Marquage nucléaire des cellules d'un carcinome mammaire par un anticorps anti-récepteurs aux oestrogènes.

L'immunofluorescence directe

- pour mettre en évidence les dépôts tissulaires d'immunoglobulines et de complément sur prélèvements congelés
 - Biopsies cutanées
 - Biopsies rénales
- Observation au microscope à fluorescence

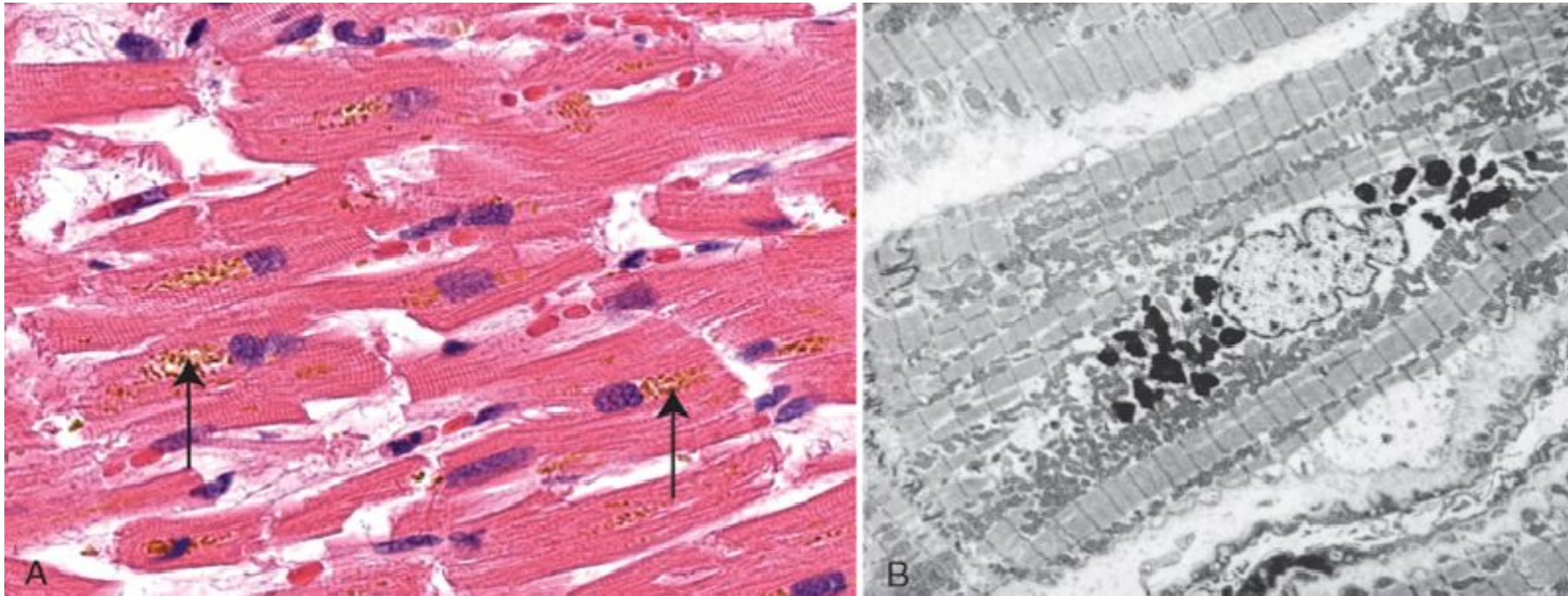


Microscopie électronique

La ME repère certains micro-organismes et les détails de l'architecture cellulaire et tissulaire.

Elle nécessite une fixation rapide et particulière (glutaraldéhyde), suivie d'une inclusion en résine et de coupes semi-fines et ultrafines .

Elle est moins utilisée (en raison du développement de l'IHC et de biologie moléculaire comme l'hybridation in situ).



LIPOFUSCHINES

Techniques de biologie moléculaire

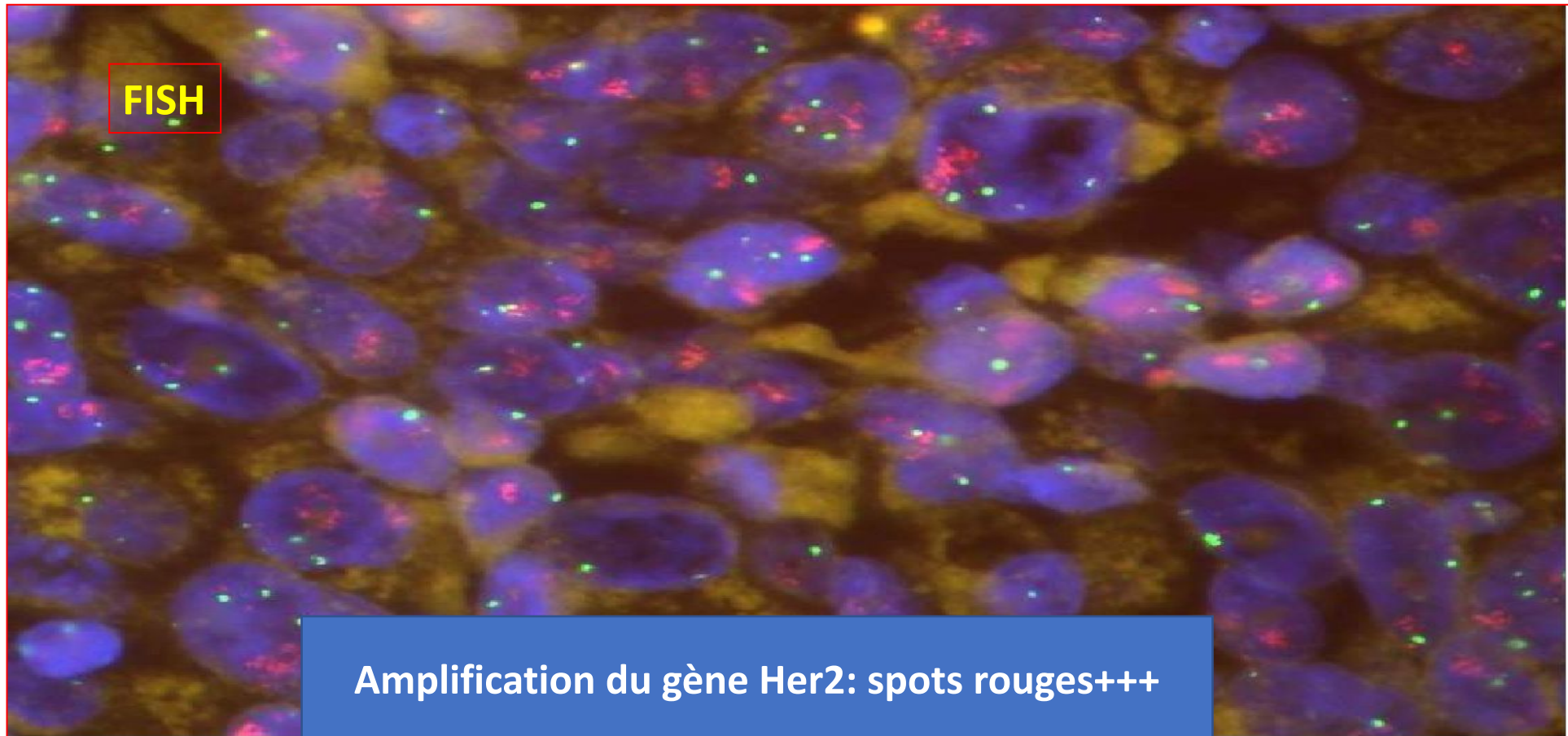
- Les prélèvements tissulaires peuvent faire l'objet d'analyses moléculaires de l'ADN et l'ARN des cellules tumorales.
- Les lésions du génome décelées par biologie moléculaire peuvent aider au diagnostic de tumeur, ou prédire la réponse tumorale à un traitement

Intérêt

- Diagnostic
- Pronostic
- Théranostique
- Conseil génétique

Hybridation In Situ: Exemple de technique FISH

Permet la détection de séquences d'ADN spécifiques, à l'aide d'une sonde ADN double brin détectés grâce à un marqueur Fluorescent

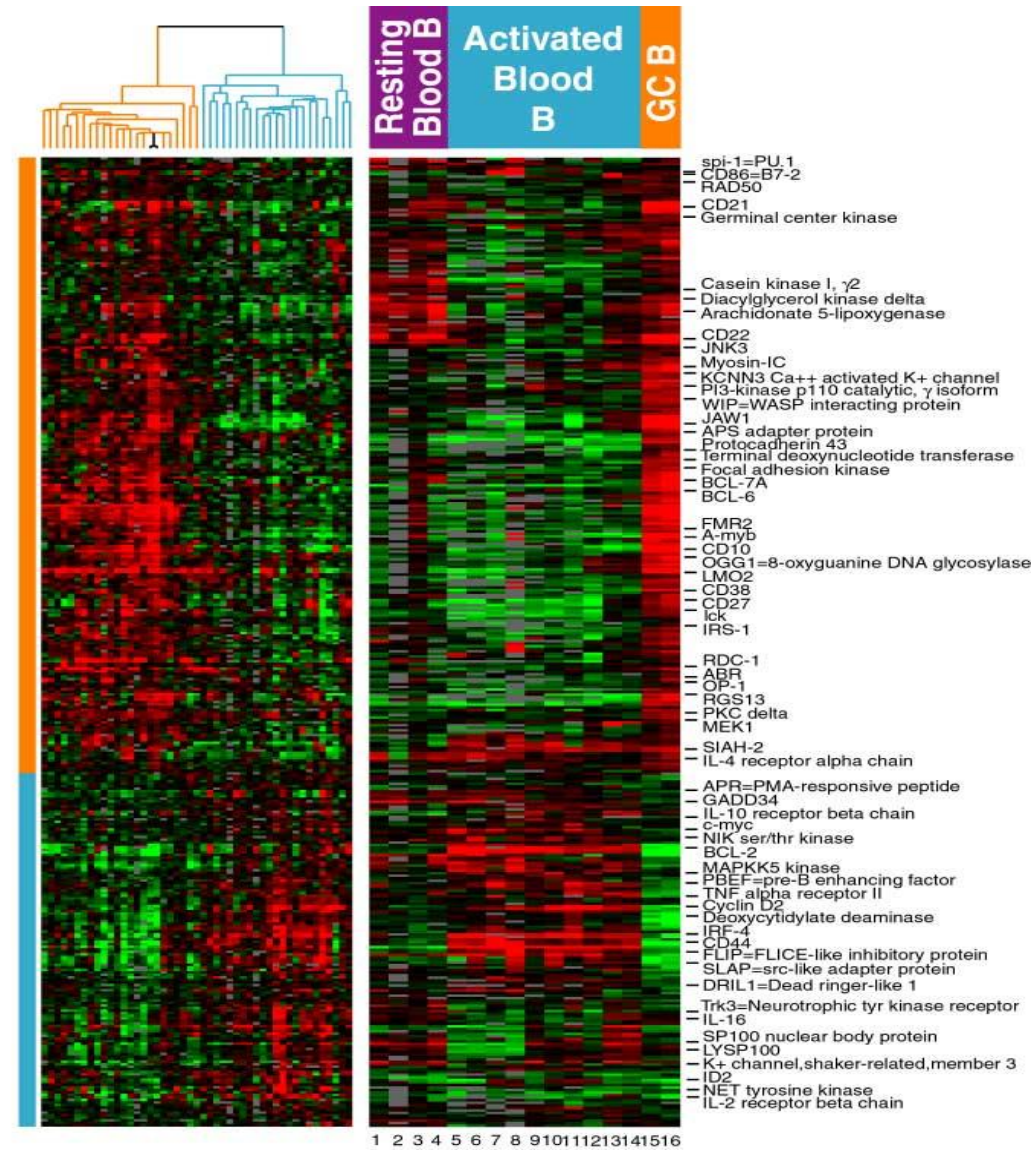


Expression génique en Microarray

Gene expression arrays

Les analyses des profils d'**expression** des gènes sont basées sur un support bien défini, celui de **microarrays** d'ADN ou ADNc comportant des acides nucléiques immobilisés de manière ordonnée sur une surface plane.

Permet de classer un ensemble de tumeurs selon leur gravité et leur pronostic en fonction des gènes qu'elles experiment



Déontologie

- L'anatomo-pathologiste (et l'ensemble du personnel de son service) est tenu au secret médical.
- Il ne communique les résultats d'un examen qu'au médecin prescripteur

Conclusion

- L' Anatomie pathologique est une spécialité médicale qui permet une interprétation morphologique basée sur des données cliniques, biologiques et radiologiques

Des **Réunions de Concertation Pluridisciplinaire régulières** organisées entre **cliniciens et pathologistes (RCP)** permettent de confronter le diagnostic morphologique aux données cliniques, d'imagerie, ou de biologie moléculaire.

Elles peuvent être formalisées au sein de réseaux cliniques ville hôpital, pour la prise en charge de pathologies ciblées, ou en cancérologie.