

METHODES D'ETUDE EN HISTOLOGIE

Dr CHEBAB

Le terme **histologie** signifie **science des tissus**.

Les **tissus**, ont été mis en évidence à la fin du **17° / début 18° siècle** par **Bichat**.

Les **tissus** ont été **observés à l'œil nu**, sans recours au microscope à partir de dissections anatomiques.

Au début du **19° siècle**, le **microscope optique** est perfectionné, ce qui permet d'obtenir **des images** proches de la réalité.

C'est à cette époque que les techniques histologiques se mettent en place.

Au début des années 1960, la création du microscope électronique introduit une nouvelle façon de voir les cellules et les tissus en améliorant le grossissement.

L'**histologie** est une discipline de base des **sciences médicales**.

Elle a pour objet, **l'étude des tissus**.

Elle a pour but, **d'explorer la structure**.

Elle est utile pour tout étudiant en médecine, et en chirurgie dentaire.

En histologie il faut **observer** et **interpréter** les structures.

Dans une démarche histologique on observe 4 étapes :

- 1) le **choix** du matériel à étudier,
- 2) la technique de **préparation** des structures étudiées,
- 3) la production **d'images** de ces structures,
- 4) l'**interprétation** des images.

LABORATOIRE

CHEBAB HISTOLOGIE 2023

METHODES D'ETUDE EN HISTOLOGIE

PRELEVEMENT

La pièce prélevée doit être de petite taille.

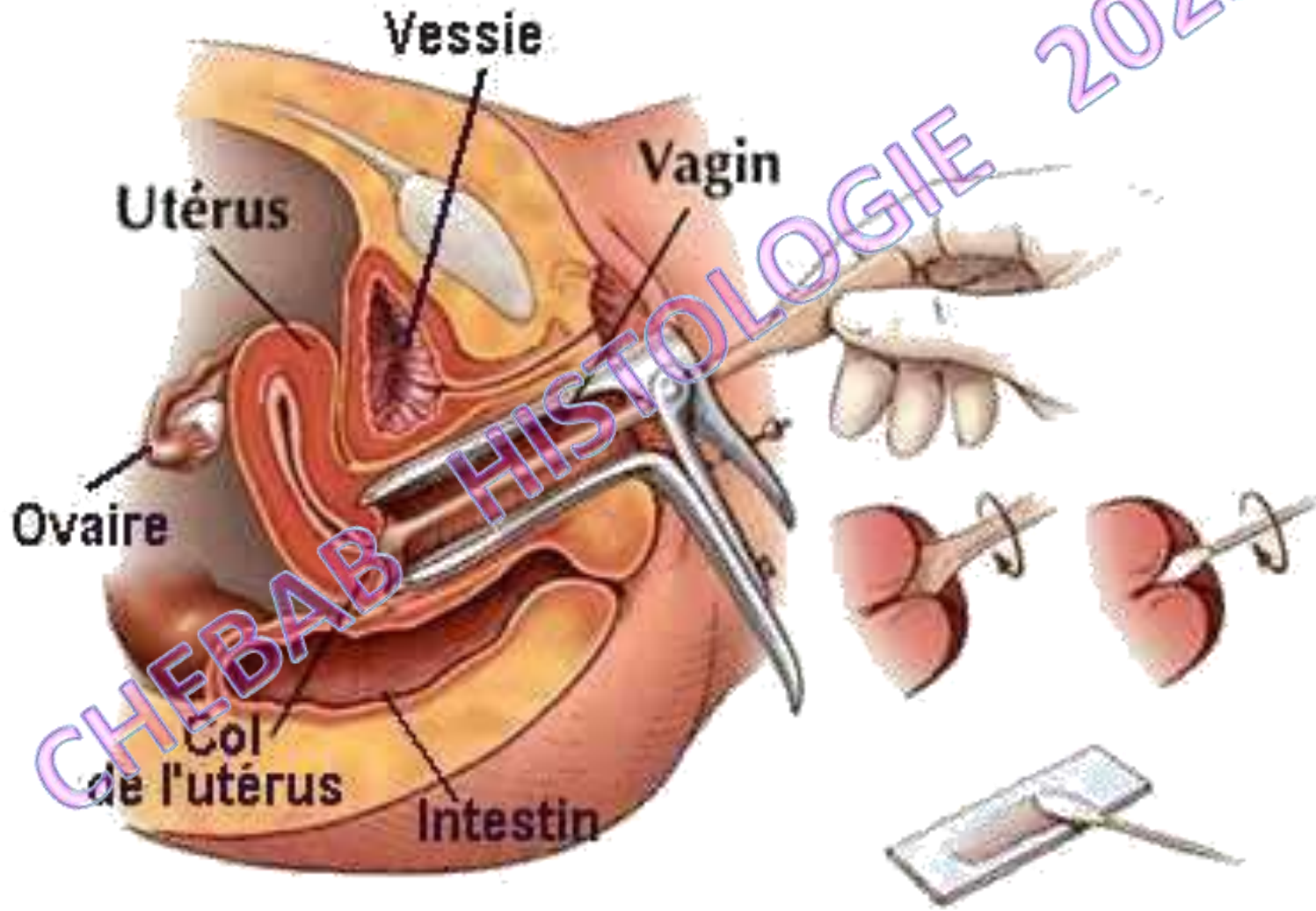


La pièce est prélevée de différentes façons :

Les frottis buccaux (test de Barr et test de l'ADN).



Les frottis cervico-uterins (dépistage).



Les ponctions de liquides (pleural, d'ascite, péricardique etc).

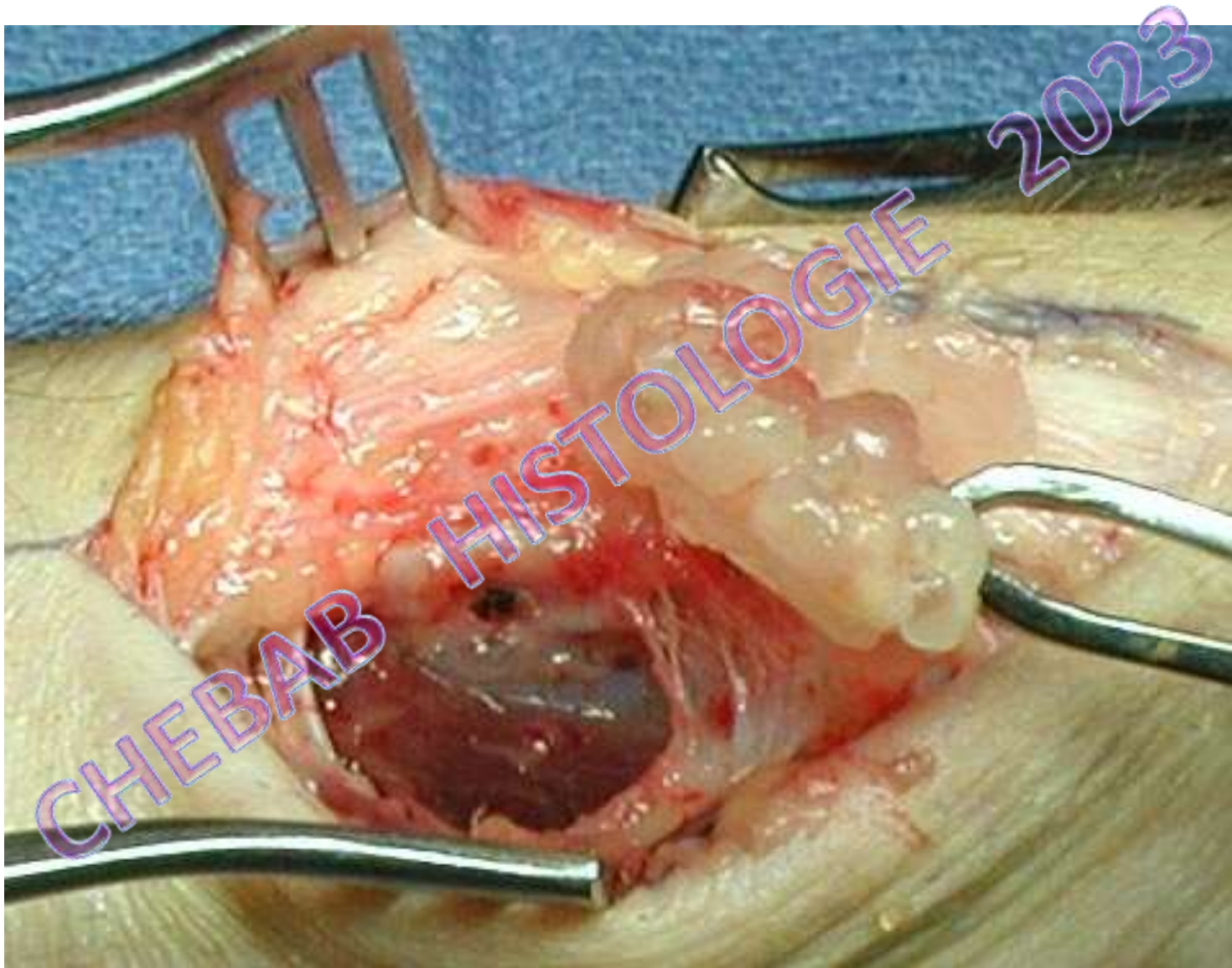


Les biopsies (prélèvement d'un tissu de petite taille).



CHEBAB

Exérèse partielle ou complète au bloc opératoire.



TECHNIQUE DE PRÉPARATION DES STRUCTURES

Pour observer la pièce au microscope il est nécessaire de la préparer par des techniques :

Fixation,

Inclusion,

Coupes,

Etalement,

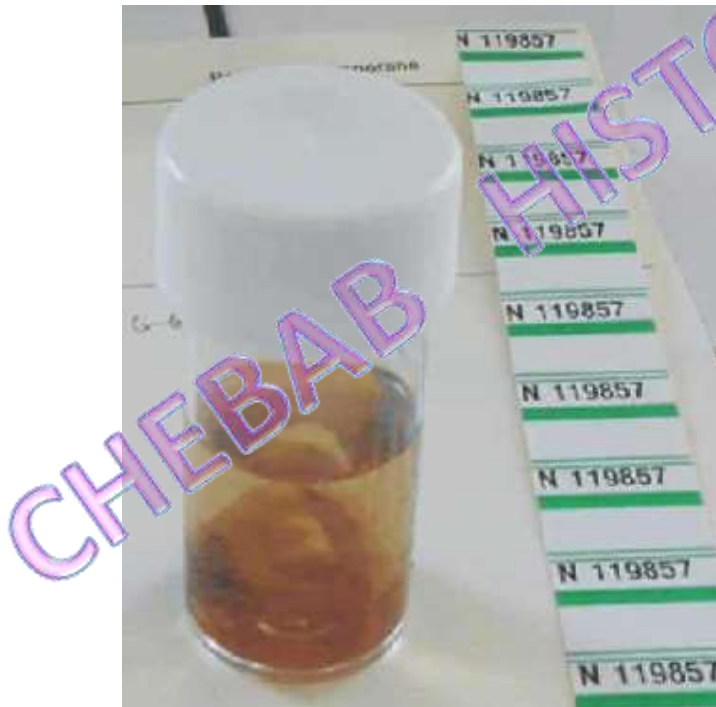
Colorations,

Montage.

FIXATION

La fixation a pour but d'éviter la décomposition post mortem et la digestion tissulaire par les enzymes ou bactéries.

Elle préserve l'architecture des tissus.



La **fixation** doit se faire le plus vite possible après le prélèvement.

La quantité de fixateur utilisée doit être au moins **dix fois plus importante** que le **volume de la pièce à fixer**.



Les liquides fixateurs utilisés en histologie pour une observation en :

- microscopie optique
- le formol (il pénètre rapidement et fixe lentement)
- le liquide de Boin (formol + acide picrique), il pénètre lentement et fixe rapidement.
- microscopie électronique
- le glutaraldehyde.
- l'acide osmique.

INCLUSION

Elle consiste à **infiltrer** et à **recouvrir** avec de la **paraffine** les **tissus à observer**.



Les milieux d'inclusion :

En microscopie optique :

La pièce doit subir une déshydratation par des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99° et 100°).



La **pièce** est ensuite immergée dans des bains de **toluène** (hydrocarbure).

CHEBAB

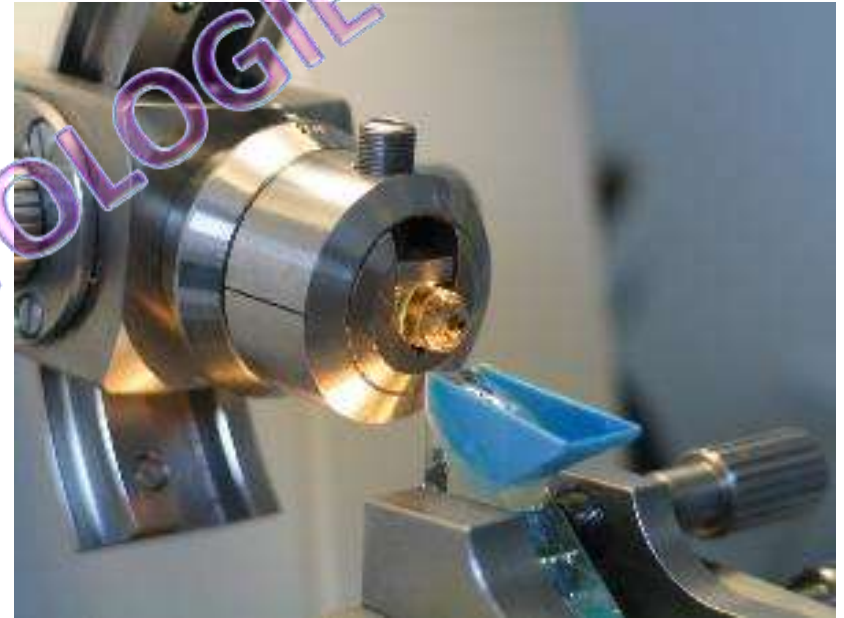


La **pièce** est enfin placée dans de la **paraffine** fondue à 56/58°C puis mise à l'air libre pour son durcissement.

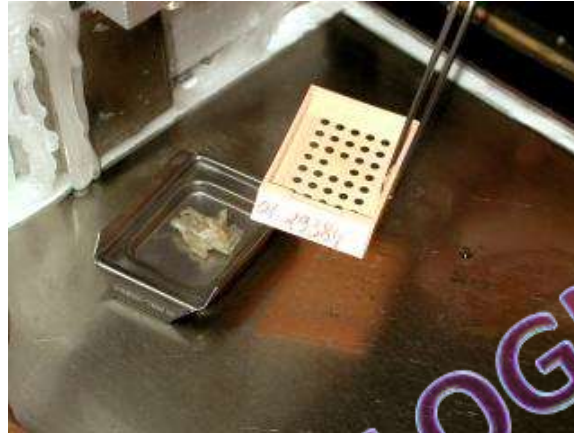


En microscopie électronique :

- l'araldite,
- l'épon.



La pièce est incluse dans un moule afin d'obtenir un bloc.



LES COUPES

Chaque **bloc** est ensuite **coupé** grâce à un :



- **microtome** qui permet d'obtenir des coupes histologiques en **microscopie optique** de 2 à 5 μ , recueilli sur des **lames de verre**.





CHEBAB HISTOLOGIE 2023



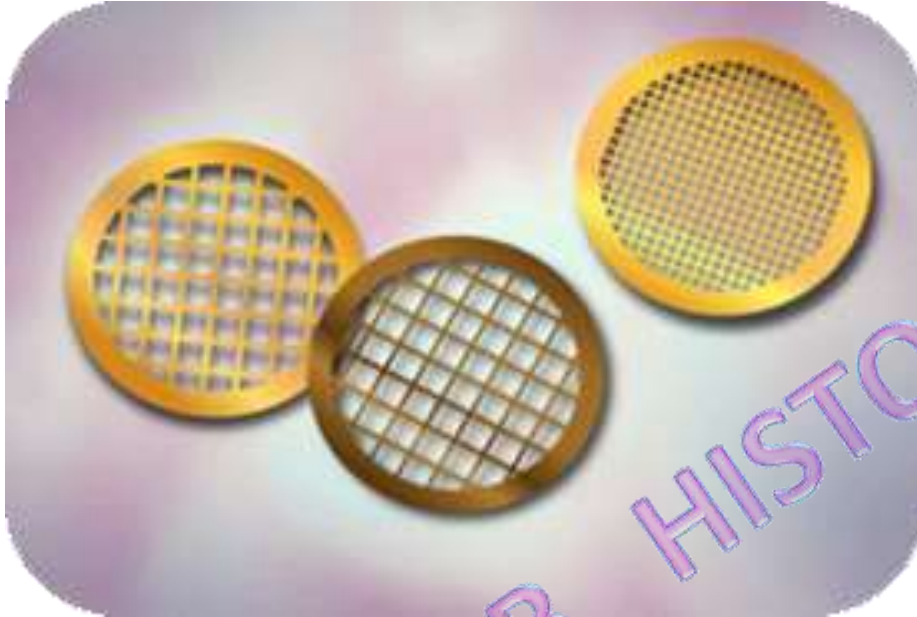
Ruban de coupes

CHEBAB HISTOLOGIE 2023

- **ultramicrotome** qui permet d'obtenir des coupes semi fines en **microscopie électronique**.



- Les coupes semi fines allant de 0,5 à 1 μ jusqu'à 300 à 600 Armstrong sont recueillis sur des grilles.



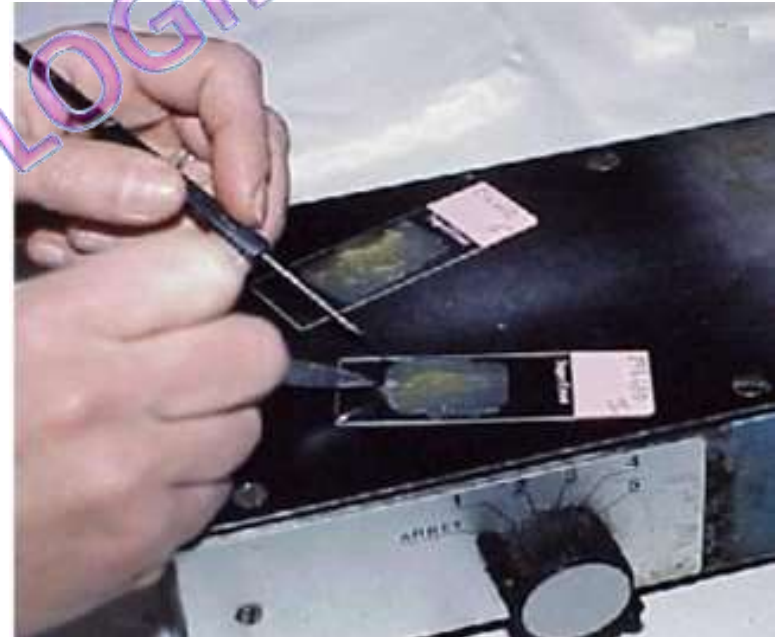
CHEBAB

HISTOLOGIE

2023

ETALEMENT

Les coupes sont étalées puis collées sur des lames de verre en utilisant une plaque chauffante qui permet à la paraffine de coller à la lame de verre.





CHEBAB HISTOLOGIE 2023



Automate d'inclusion

COLORATIONS

Les **colorations** permettent de **reconnaitre** les différents éléments du tissu.



Avant de procéder à la coloration la lame doit être :

- Déparaffinée par des bains de toluène,
- Réhydratée par des bains d'alcool de degré décroissant allant de 100° à 70°,
- rincée à l'eau distillée.



Les lames sont trempées dans des colorants.





Les colorants de routine sont :

- Hématéine (colore les noyaux en violet),
- Eosine (colore le cytoplasme en rose),
- Safran (colore les fibres de collagène en jaune).



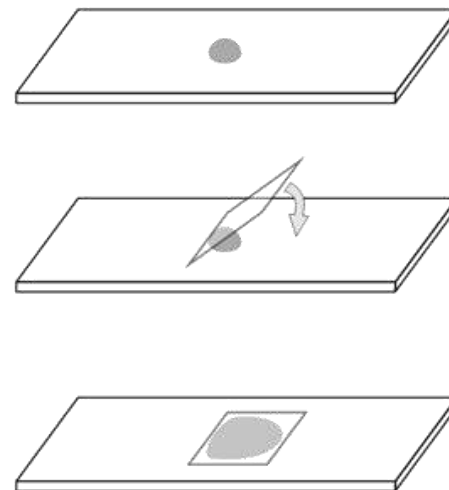
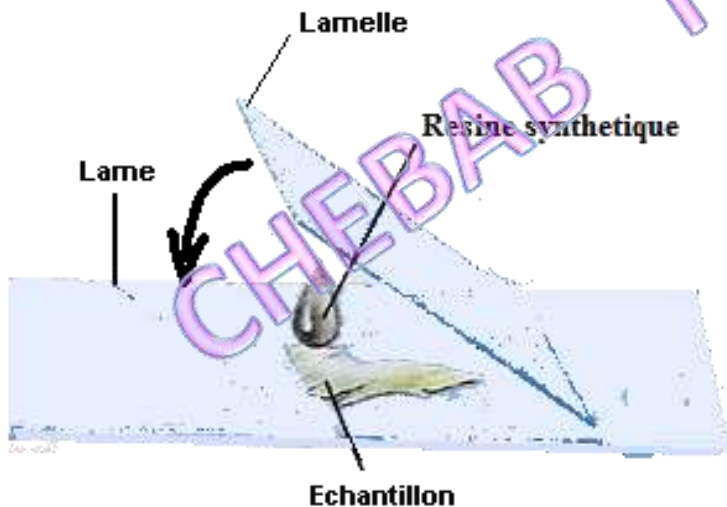


Unité de coloration

METHODES D'ETUDE EN HISTOLOGIE

MONTAGE

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique.



05608

002521

001984

2023

HISTOLOGIE

CHEBAB

05607

OBSERVATION

Les différents types de microscopes utilisés sont :

le microscope optique avec la lumière visible.



le microscope optique à fluorescence avec UV.



le microscopie électronique à balayage (faisceaux d'électrons).



le **microscopie électronique à transmission** (faisceaux d'électrons).



Le microscope électronique dont la source est le laser.



Le microscope optique a un pouvoir séparateur de 0,2 μ .

Le microscope électronique a un pouvoir séparateur de 0,2 nm.

Le pouvoir séparateur est la distance qui sépare 2 points voisins pour qu'ils soient correctement observés.

CHEBAB HISTOLOGIE 2023

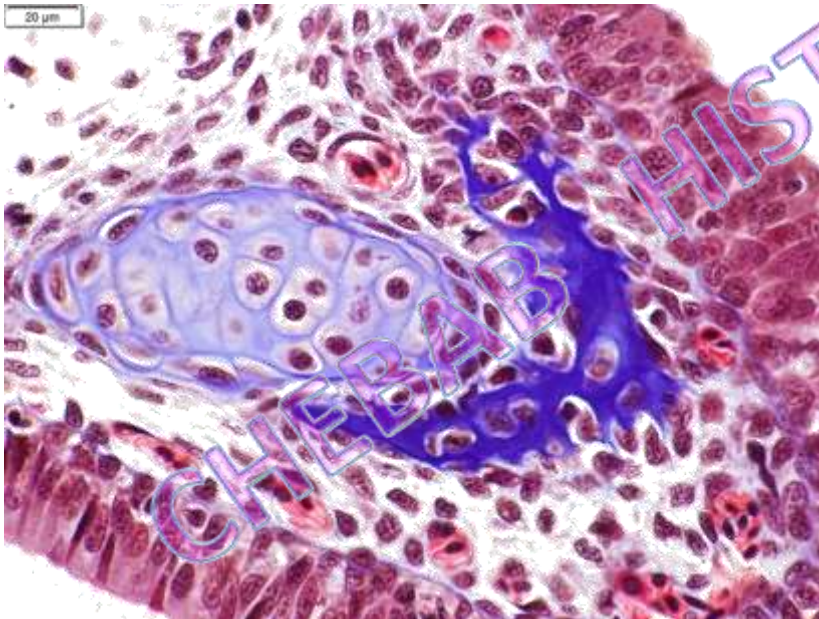
Au cours de l'observation microscopique il est intéressant de produire des images et des vidéos de la préparation afin d'analyser les très petites structures.



La **photographie** et la **vidéo** permettent de **conserver** les **images**.

L'**image** peut être **observée**, **communiquée**, **mesurée**, **archivée**, **éditée**.

L'**image**, captée par un détecteur, peut être transmise à un **système informatique** pour être **analysée**, et **numérisée**.



INTERPRETATION

L'interprétation donne une signification aux images observées.

On peut détecter dans la cellule, le tissu ou l'organe, une structure, une molécule et même une fonction chimique.

L'interprétation est basée sur la reconnaissance de formes, de contrastes, de couleurs.

Dans une **préparation histologique**, il peut exister des **artéfacts** dus :

au prélèvement (ciseaux,)

à la fixation (fixateur trop concentré ou peu concentré,)

à l'inclusion (rétraction des cellules,)

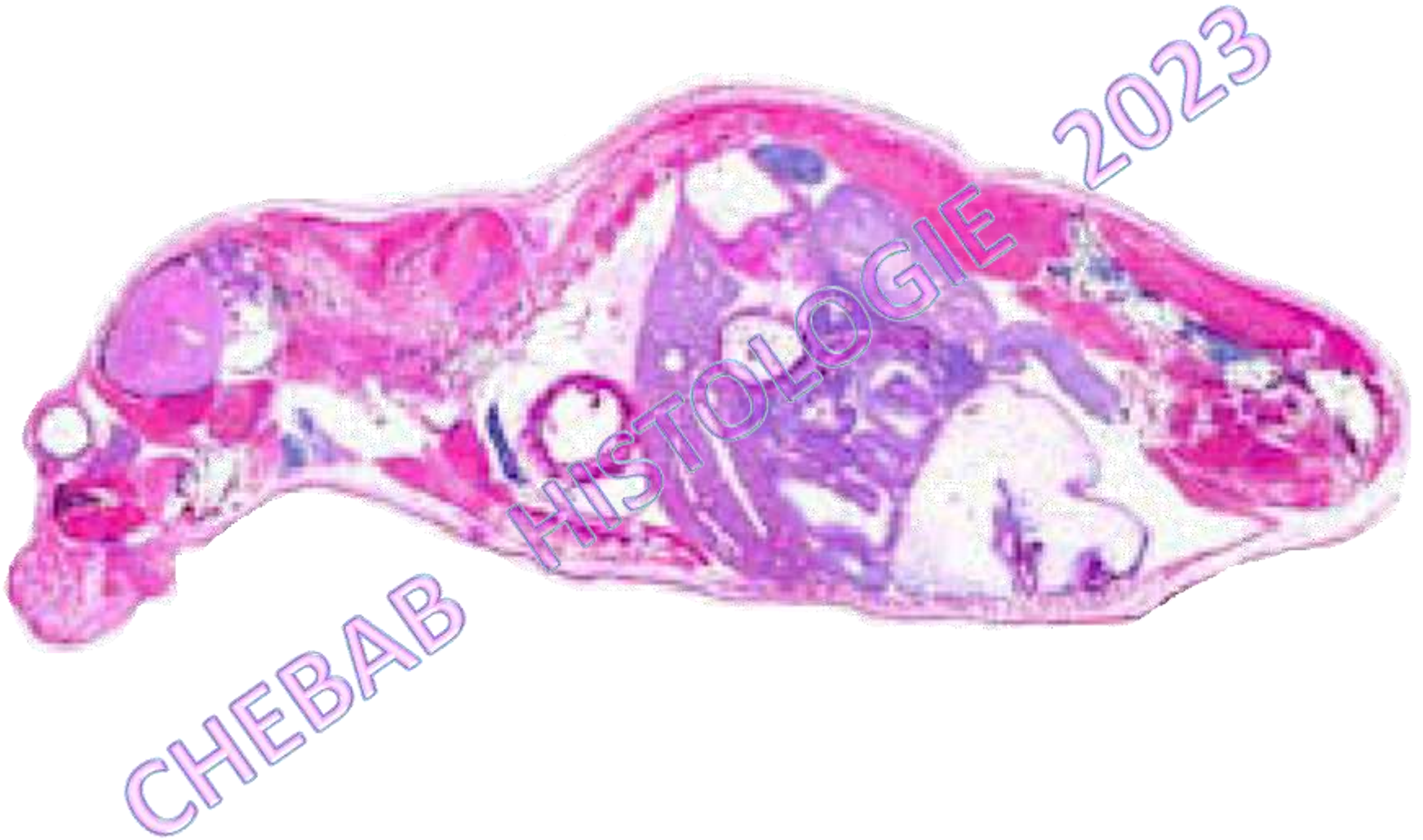
à la coupe (coupes trop épaisses ou trop minces,)

au collage (décollements, de la coupe,)

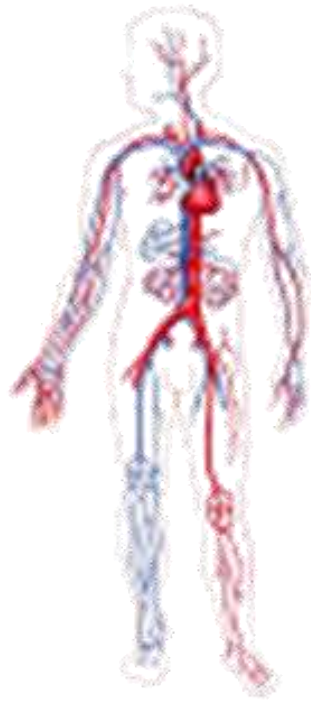
au montage (bulles d'air entre la lame et la lamelle,)

à la coloration (dépôts, taches de colorant).

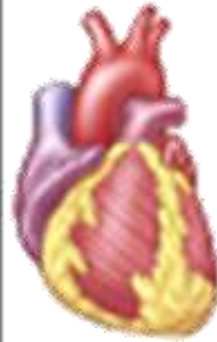
MACRO COUPES



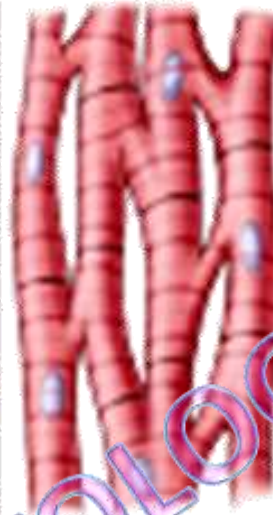
LES TISSUS



système



organe



tissu



cellule



Ensemble de cellules dotées d'une structure et d'une fonction communes.

Les tissus de l'organisme se développent à partir des trois feuillets embryonnaires primitifs :

ectoblaste,

mésoblaste,

endoblaste.

CHEBAB HISTOLOGIE 2023

		Epithéliums		tissus de soutien	tissus musculaires	tissu nerveux
		de revêtement	glandulaires			
Ectoblaste (ectoderme)	Epiblaste	Epiderme	Glandes sudoripares, sébacées et mammaires		Certains muscles lisses et cellules myoépithéliales	Placodes et certains neurones du SNP
	Neurectoblaste		Médullosurrénales		Certains muscles lisses	Tout le SN sauf les placodes
Mésoblaste (mésoderme)		Epithéliums de revêtement de l'appareil urogénital. Endothéliums Mésothéliums	Corticosurrénales	Fibroblastes, ostéocytes, chondrocytes, adipocytes et populations cellulaires libres	Muscle strié squelettique, muscle strié myocardique et muscle lisse	
Endoblaste (endoderme)		Epithéliums de revêtement de l'appareil digestif et respiratoire	Glandes digestives, foie, pancréas, glandes trachéobronchiques et cellules neuroendocrines			

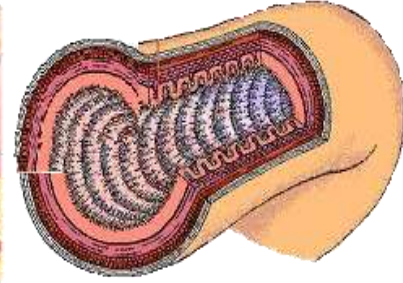
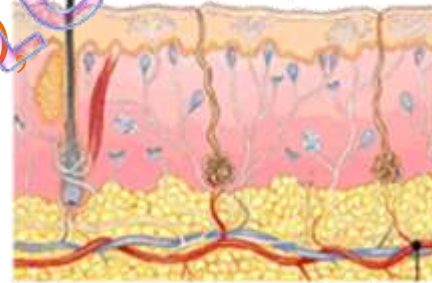
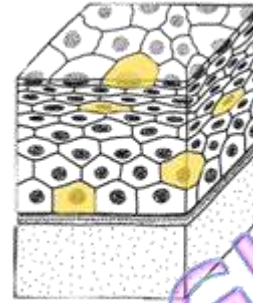
LES TISSUS EPITHELIAUX.

Ils sont formés de **cellules** étroitement accolées entre elles.

Il existe 2 types d'épithéliums :

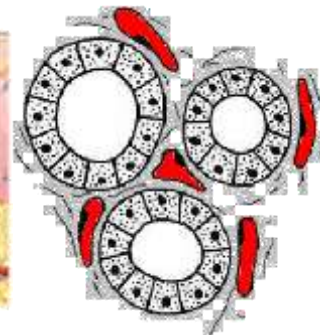
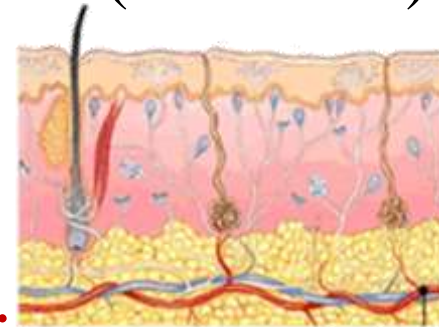
Les **épithéliums de revêtement** qui recouvrent,

- les surfaces externes (épiderme),
- les cavités internes (intestin).



Les **épithéliums glandulaires** secrètent (élaborent) **diverses substances** grâce aux :

- G exocrines (glande sudoripare).
- G endocrines (pancréas endocrine).



LES TISSUS DE CONJONCTIFS.

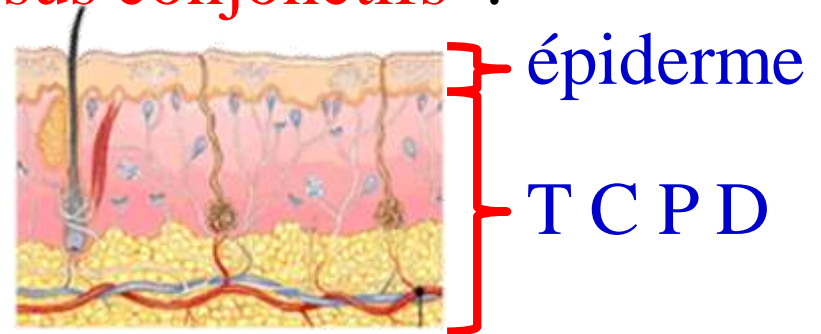
Ils sont formés de :

- cellules
- fibres
- substance fondamentale

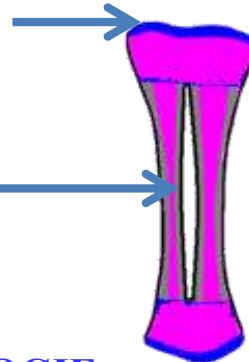


on distingue trois variétés de **tissus conjonctifs** :

tissu conjonctif proprement dit
(derme de la peau)



tissu cartilagineux



tissu osseux



LE TISSU SANGUIN

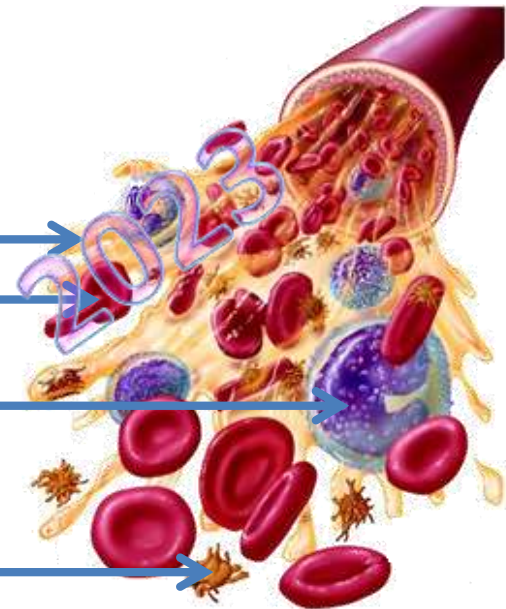
C'est un tissu constitué :

plasma

globules rouges (cellules)

globules blancs (cellules)

plaquettes sanguines (fragments de cellules)

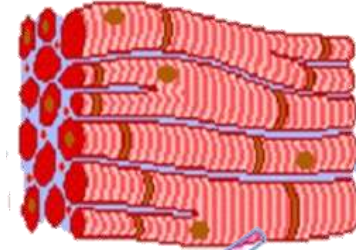


Rôles :

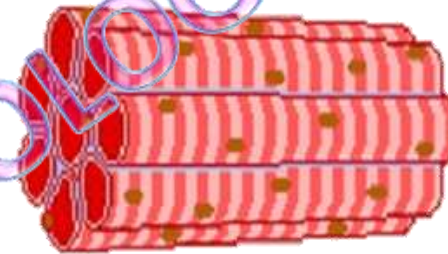
- la nutrition (**plasma**),
- le transport des gaz (**globules rouges**),
- la défense de l'organisme (**globules blancs**),
- la coagulation du sang (**plaquettes sanguines**).

LES TISSUS MUSCULAIRES.

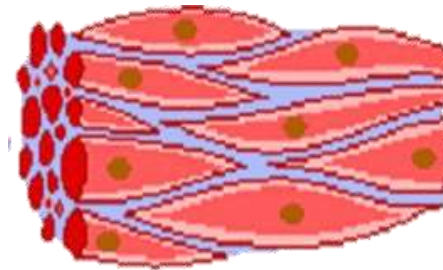
Il sont formés de cellules appelées **fibres musculaires**



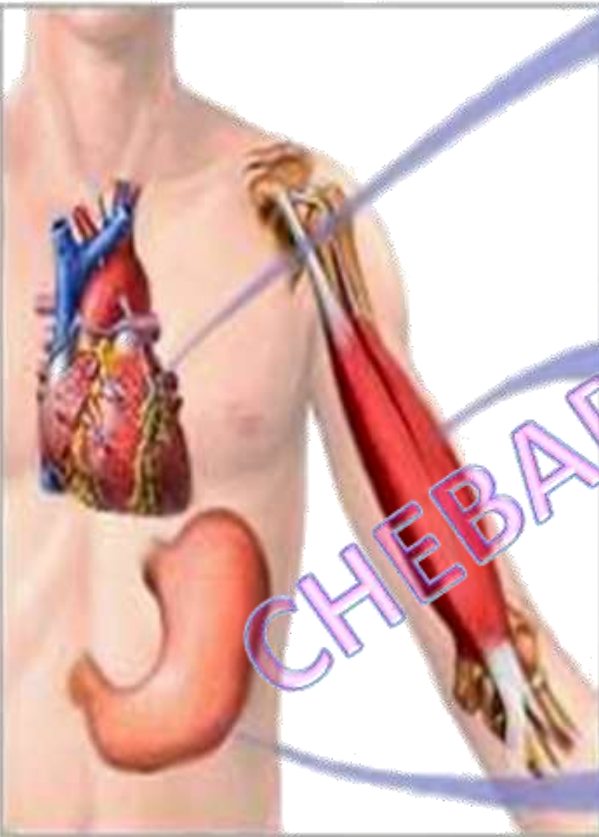
TISSU MUSCULAIRE STRIE MYOCARDIQUE
(cœur)



TISSU MUSCULAIRE STRIE SQUELETTIQUE
(muscle squelettique)



TISSU MUSCULAIRE LISSE
(estomac)



le tissu musculaire strié squelettique :

il est formé de fibres musculaires striées squelettiques longues ,
c'est un muscle volontaire.

le tissu musculaire strié myocardique :

il est formé de fibres musculaires myocardiques anastomosées,
c'est un muscle involontaire.

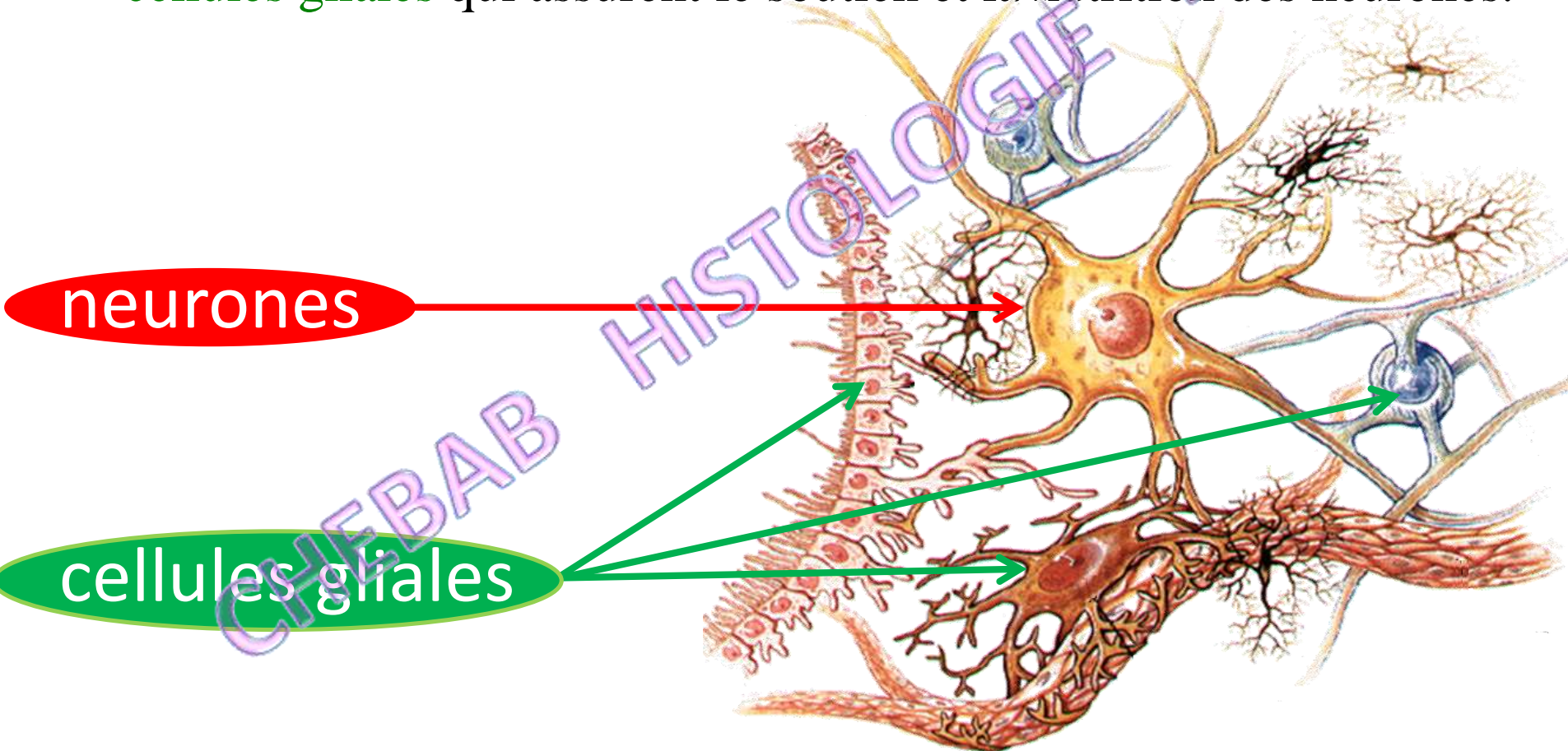
le tissu musculaire lisse :

il est formé de fibres musculaires lisses courtes,
c'est un muscle involontaire.

LE TISSU NERVEUX.

Il est constitué de :

- **neurones** qui assurent la transmission des informations.
- **cellules gliales** qui assurent le soutien et la nutrition des neurones.



CHEBAB HISTOLOGIE 2023

FIN