

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 grandissement.

CHEBAB

HISTOLOGIE 2023

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.

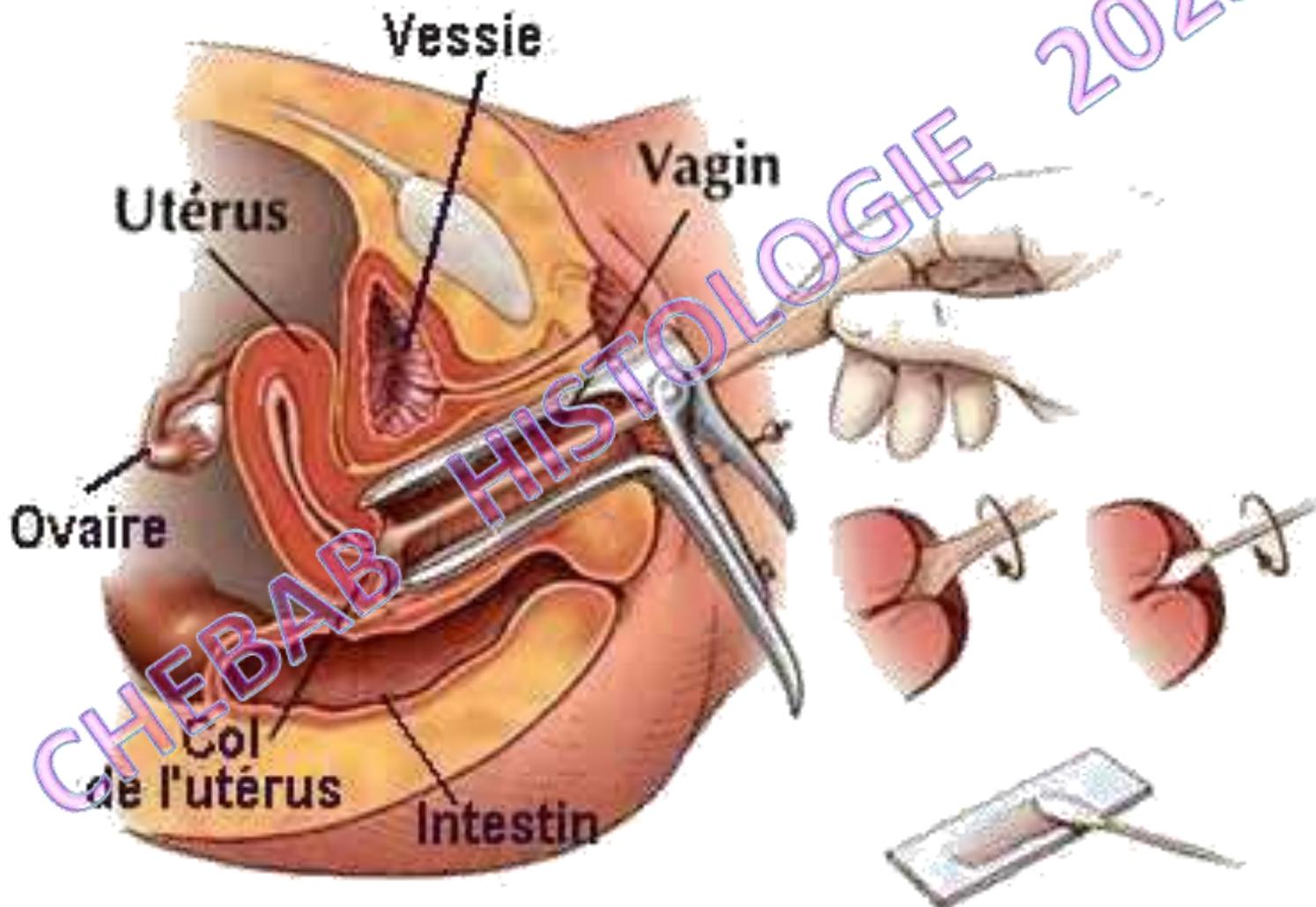


La pièce est prélevée de différentes façons :

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).

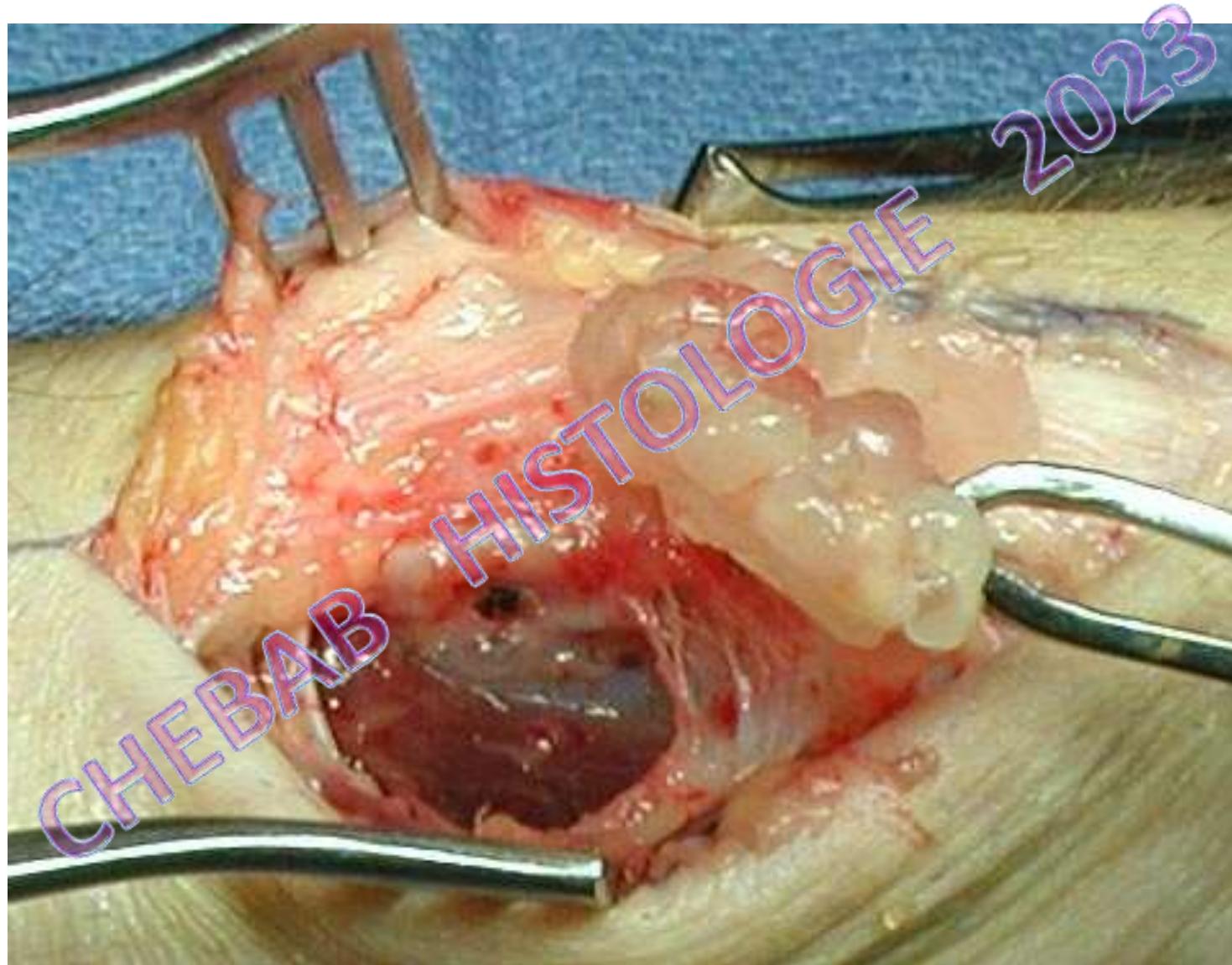


Les biopsies (prélèvement d'un tissu de petite taille).



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.



CHEBAB HISTOLOGIE 2023

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).

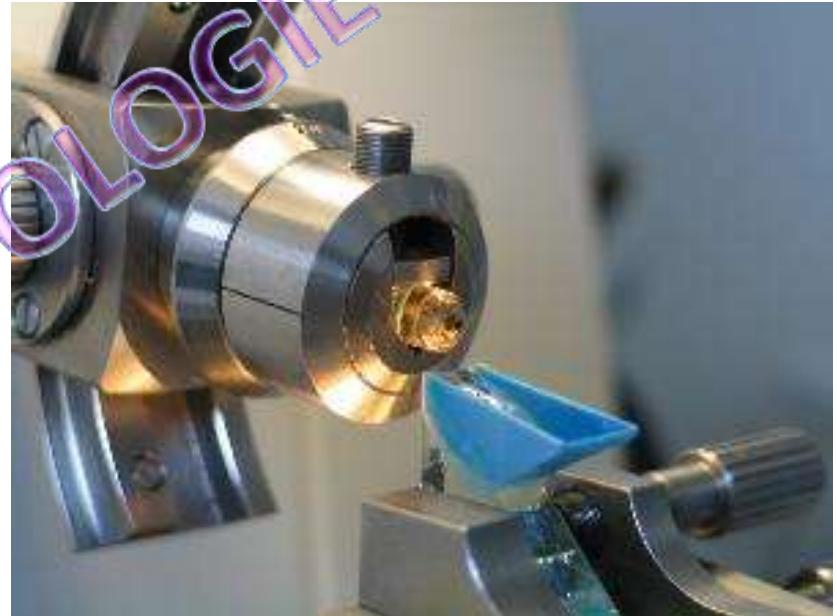


La pièce est enfin placée dans de la paraffine fondu à 56/58°C puis mise à l'air libre pour son durcissement.



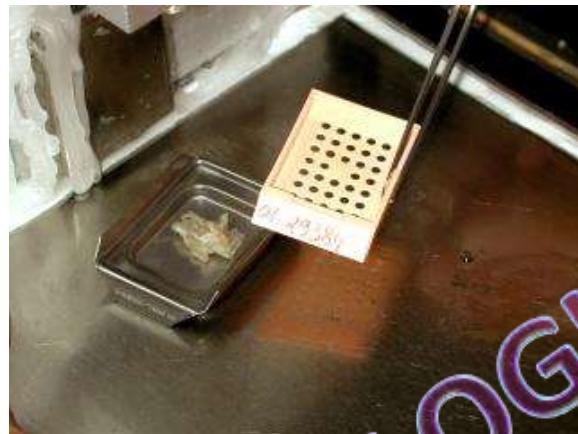
En microscopie électronique :

- l'araldite,
- l'épon.



CHEBAB HISTOLOGIE 2023

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



LES COUPES

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



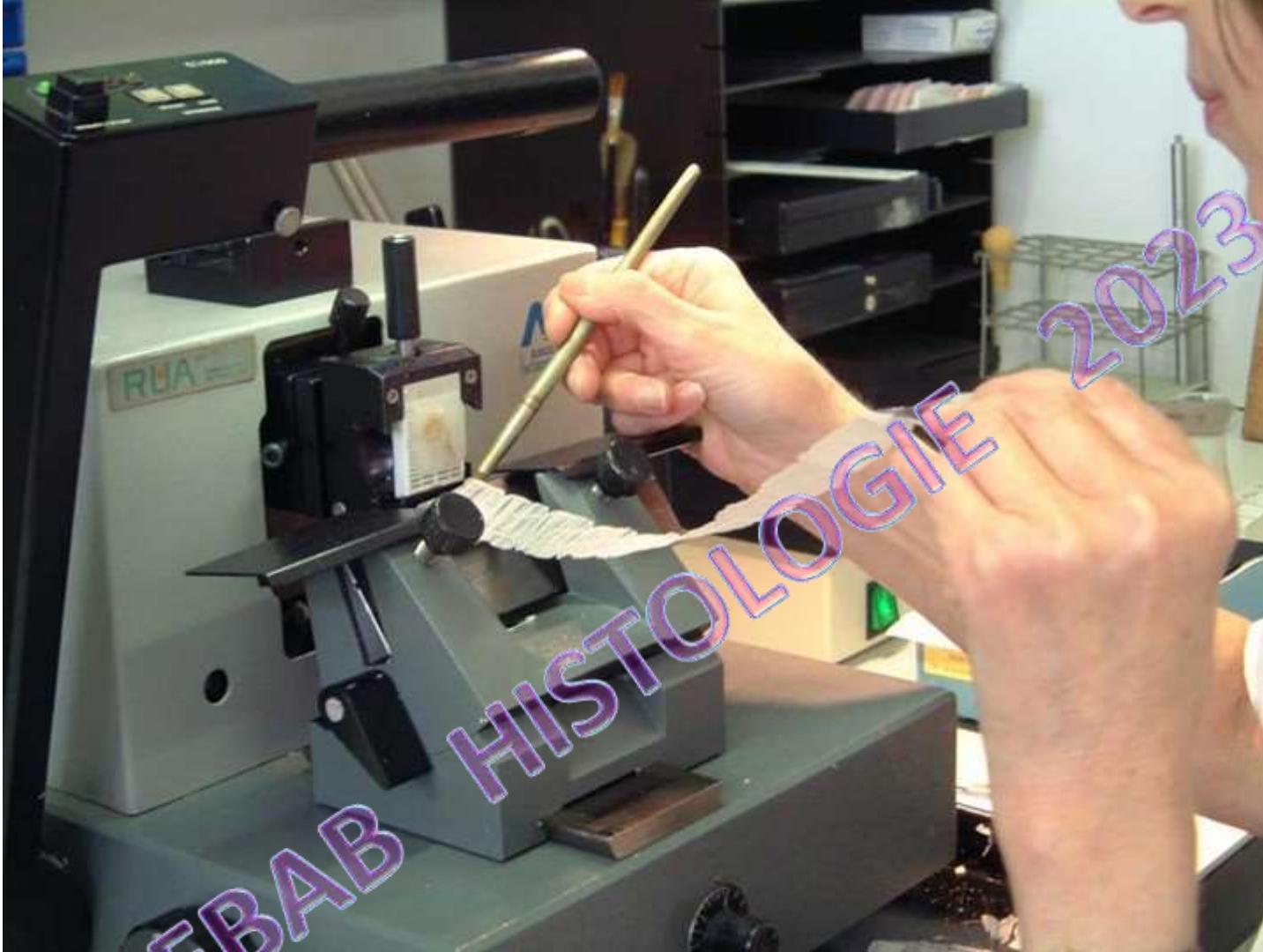
CHEBAB HISTOLOGIE 2023

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



CHEBAB HISTOLOGIE 2023

CHEBAB HISTOLOGIE 2023



METHODES

Ruban de coupes

D'ETUDE EN HISTOLOGIE

CHEBAB HISTOLOGIE 2023

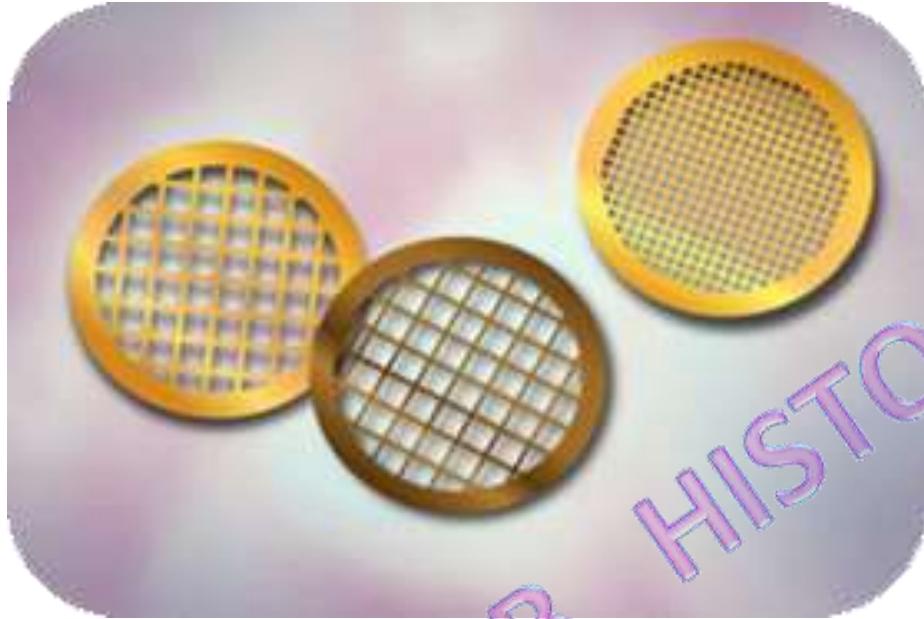
CHEBAB HISTOLOGIE 2023

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



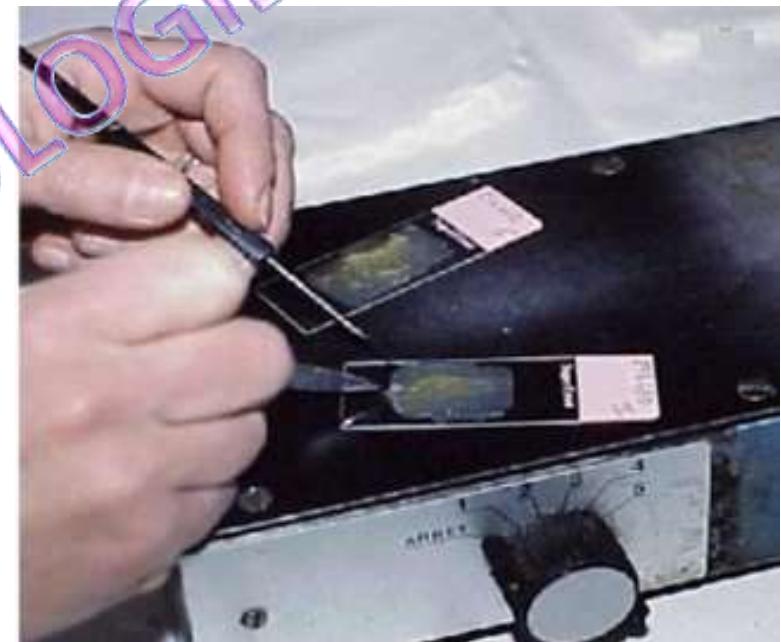
METHODES D'ETUDE EN HISTOLOGIE

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



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



METHODES

Automate d'inclusion

D'ETUDE EN HISTOLOGIE

COLORATIONS

Les colorations permettent de reconnaître les différents éléments du tissu.



Avant de procéder a 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).





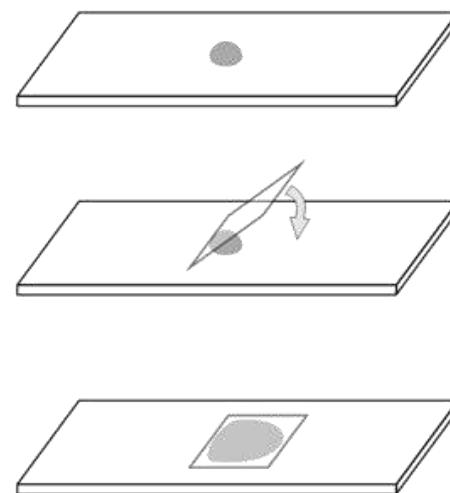
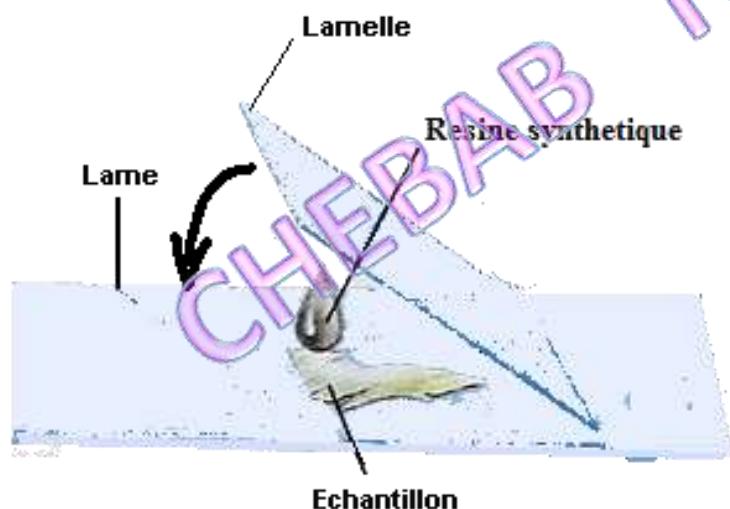
CHEBAB HISTOLOGIE 2023

Unité de coloration

METHODES D'ETUDE EN HISTOLOGIE

MONTAGE

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



CHEBAB * HISTOLOGIE 2023

05608

002521

001984

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 $0,2 \mu$.

Le microscope électronique a un pouvoir séparateur de $0,2 \text{ nm}$.

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

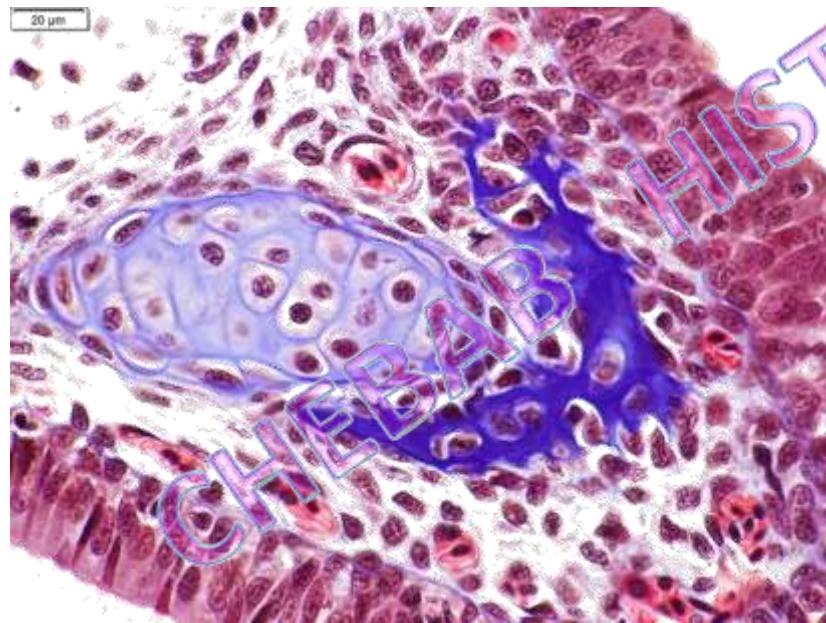
Au cours de l'observation microscopique il est intéressant de produire des images et des vidéos de la préparation afin d'analyser les très petites structures.



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 artefacts dûs :

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,)

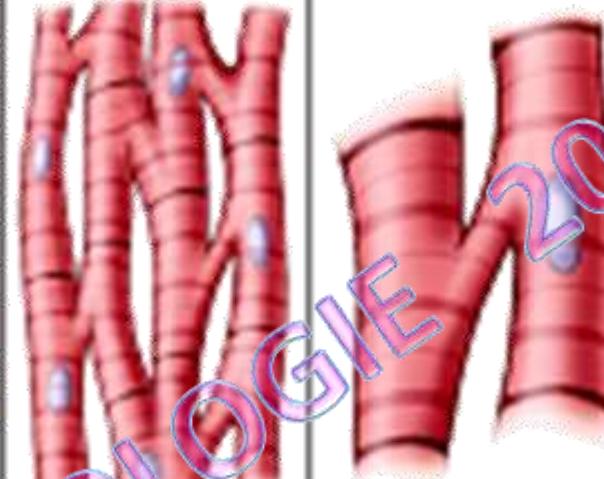
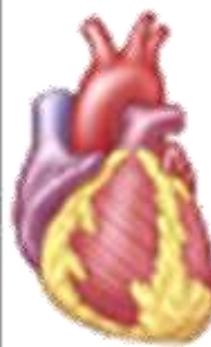
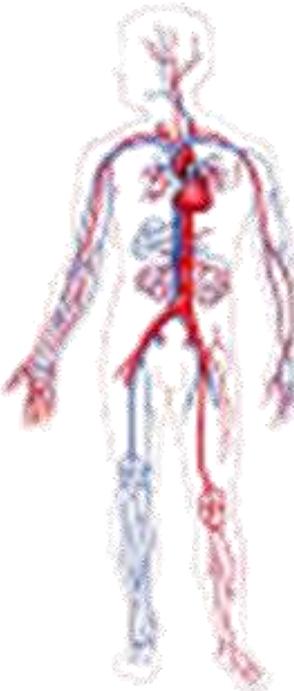
à la coloration (dépôts, taches de colorant).

MACRO COUPES



LES TISSUS

CHEBAB HISTOLOGIE 2023



système

organe

tissu

cellule



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

CHEBAB HISTOLOGIE 2023

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		Médullosurrénale		Certains muscles lisses	Tout le SN sauf les placodes
Mésoblaste (mésoderme)		Epithéliums de revêtement de l'appareil urogénital. Endothéliums Mésothéliums	Corticosurrénale	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			

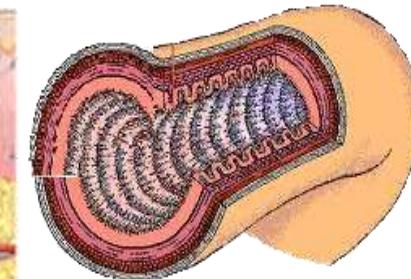
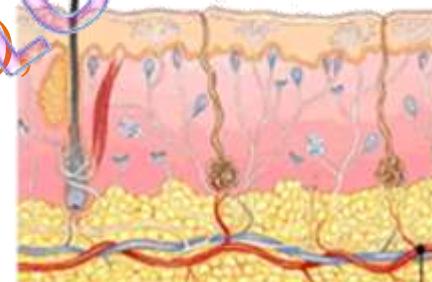
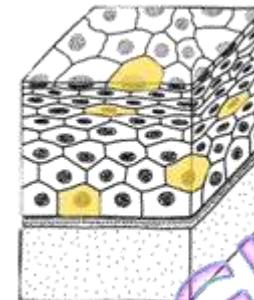
LES TISSUS EPITHELIAUX.

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

Il existe 2 types d'épithéliums :

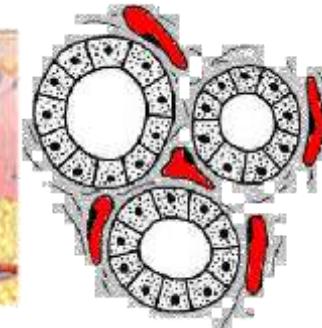
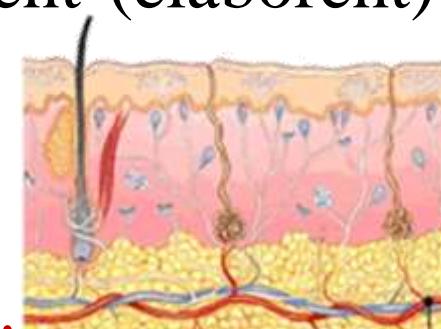
Les **épithéliums de revêtement** qui recouvrent,

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



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

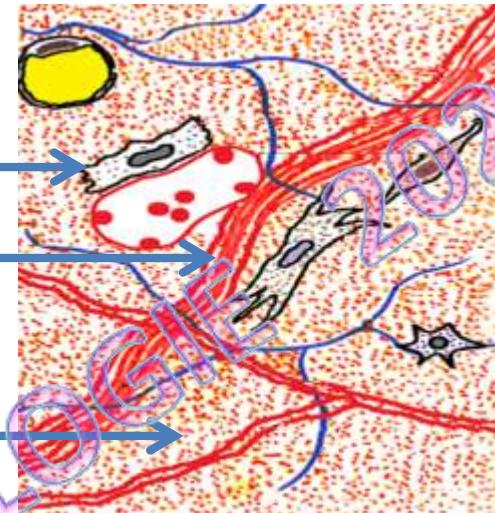
- G exocrines (glande sudoripare).



LES TISSUS DE CONJONCTIFS.

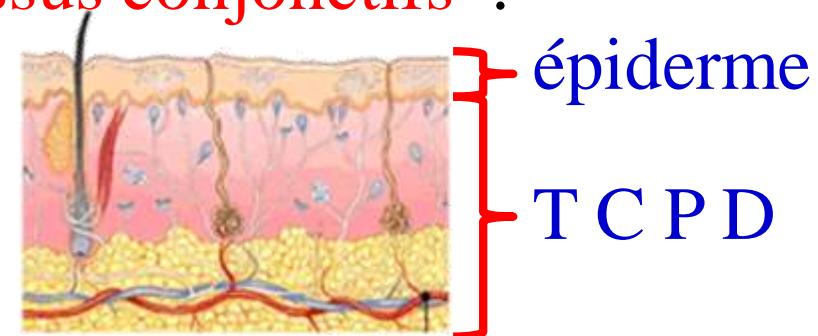
Ils sont formés de :

- cellules
- fibres
- substance fondamentale



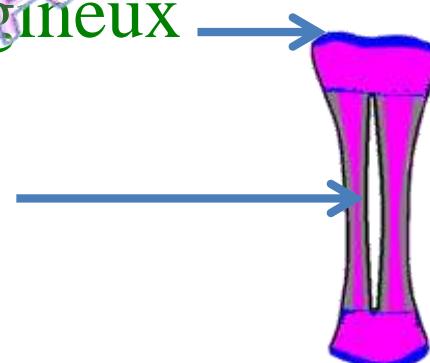
on distingue trois variétés de tissus conjonctifs :

tissu conjonctif proprement dit
(derme de la peau)



tissu cartilagineux

tissu osseux



LE TISSU SANGUIN

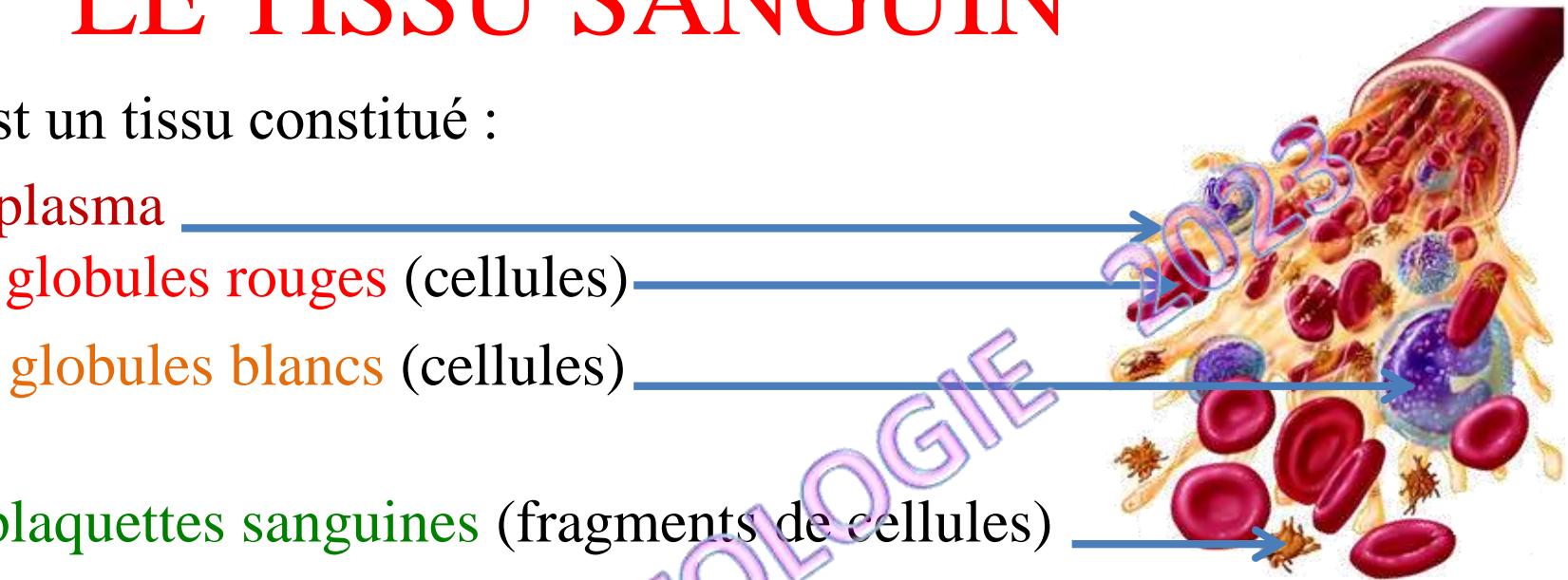
C'est un tissu constitué :

plasma

globules rouges (cellules)

globules blancs (cellules)

plaquettes sanguines (fragments de cellules)

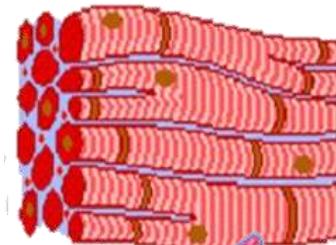


Rôles :

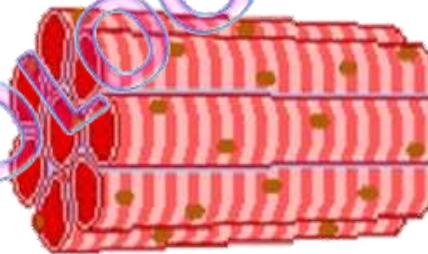
- la nutrition (**plasma**),
- le transport des gaz (**globules rouges**),
- la défense de l'organisme (**globules blancs**),
- la coagulation du sang (**plaquettes sanguines**).

LES TISSUS MUSCULAIRES.

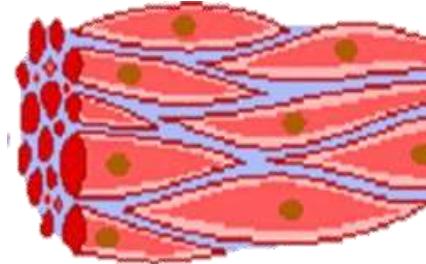
Il sont formés de cellules appelées fibres musculaires



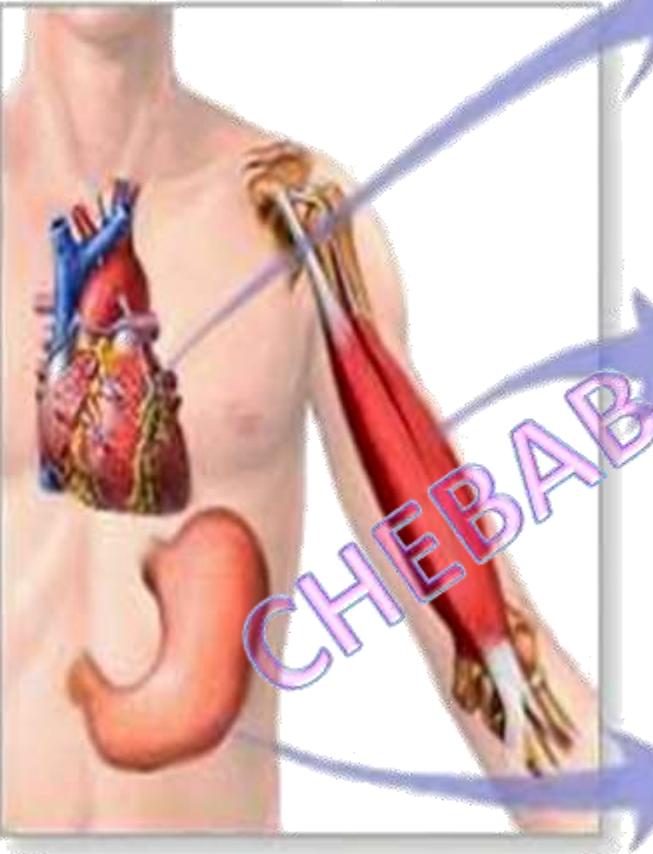
TISSU MUSCULAIRE STRIE MYOCARDIQUE
(cœur)



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.

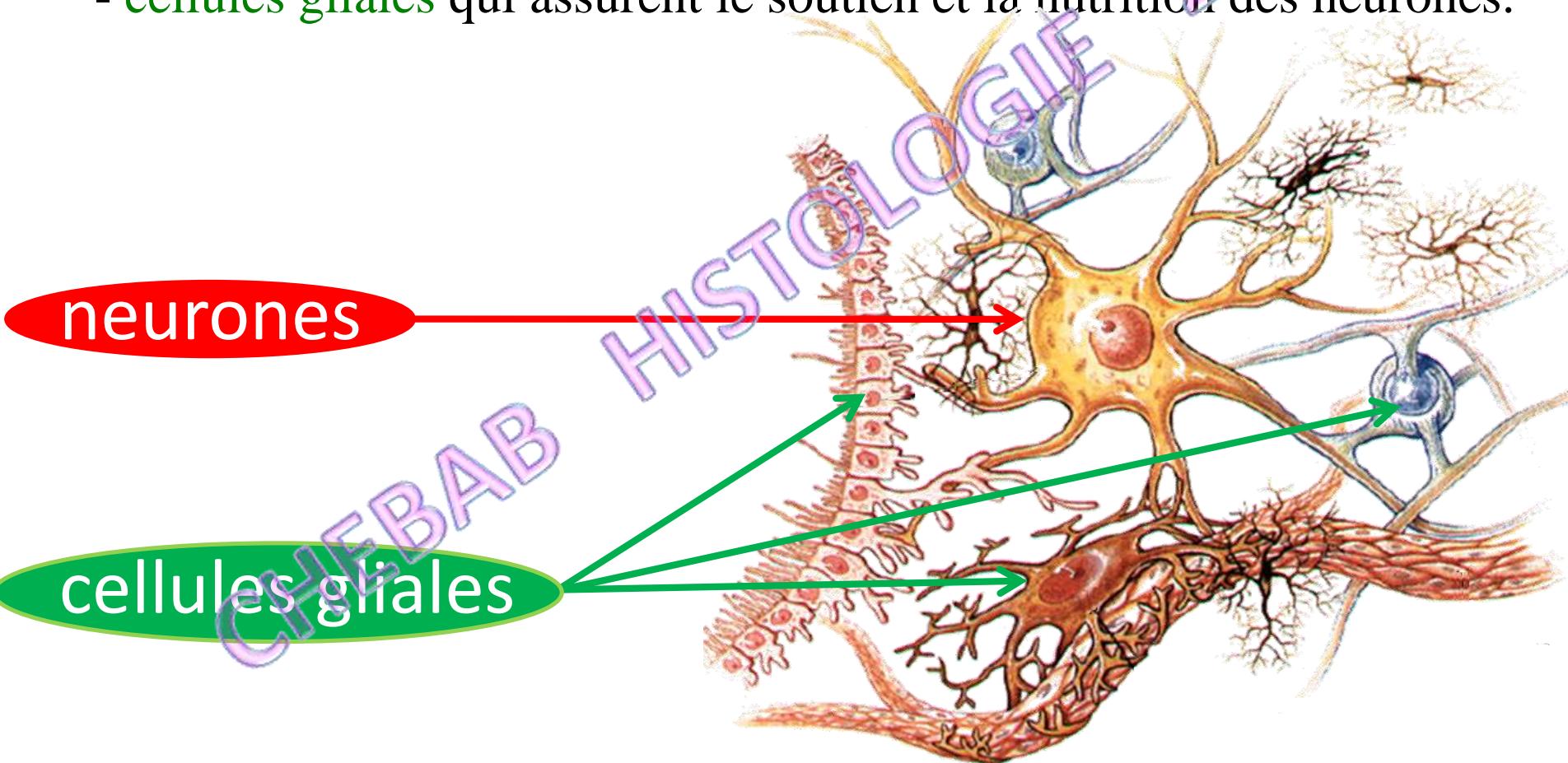
le tissu musculaire lisse :

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