

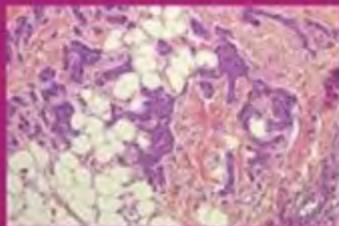
Matériel protégé par le droit d'auteur

# Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie

THÉORIE ET PRATIQUE

Véronique Marck

*Préface de  
X. Sastre-Garau*



**MASSON**

Matériel protégé par le droit d'auteur

# **Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie**

**Théorie et pratique**

## *Chez le même éditeur*

---

**Pathologie générale**, par le Collège universitaire français des pathologistes – coordonné par J.-F. Émile, E. Leleurtre, S. Guyétant. 2009, 208 pages.

**La Vaccination – Manuel pratique de tous les vaccins**, par N. Ajjan. 2009, 368 pages.

**Bactériologie médicale – Techniques usuelles**, par F. Denis, M.-C. Ploy, C. Martin, É. Bingen, R. Quentin. 2007, 608 pages

**Guide des analyses spécialisées**, par Pasteur Cerba Laboratoire. 5<sup>e</sup> édition, 2007, 748 pages.

**Cancérologie et biologie. Marqueurs tumoraux organe par organe**, par M. Monge. 2006, 336 pages.

# **Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie**

## **Théorie et pratique**

**Véronique Marck**

Laboratoire de pathologie

Institut Curie, Paris



**ELSEVIER  
MASSON**



Ce logo a pour objet d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, tout particulièrement dans le domaine universitaire, le développement massif du « photo-copillage ». Cette pratique qui s'est généralisée, notamment dans les établissements d'enseignement, provoque une baisse brutale des achats de livres, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que la reproduction et la vente sans autorisation, ainsi que le recel, sont passibles de poursuites. Les demandes d'autorisation de photocopier doivent être adressées à l'éditeur ou au Centre français d'exploitation du droit de copie : 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris. Tél. 01 44 07 47 70.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays. Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective et, d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

© 2010, Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés  
ISBN : 978-2-294-70844-2

---

Elsevier Masson SAS, 62, rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux cedex  
[www.elsevier-masson.fr](http://www.elsevier-masson.fr)

# Préface

Véronique Marck a réalisé le manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie qui lui a manqué au cours de sa carrière. Durant trente années, elle a constitué, jour après jour, le compendium des informations qui lui paraissaient nécessaires pour répondre à un impératif : mieux comprendre pour trouver le geste approprié. Son effort n'a pas tendu à rassembler une série de recettes immuables. Il s'est délibérément placé dans la volonté d'élargir au maximum les voies d'entrée dans la discipline, et de les ordonner, afin de permettre à l'utilisateur, ici d'imaginer une

solution à un problème technique, là de situer une problématique dans le champ de la biologie, ailleurs de comprendre le sens d'une terminologie complexe.

Une expérience solide et raisonnée est à la base de ce manuel original, utilisable de mille façons. Il devrait rendre de nombreux services, ce pourquoi il a été conçu.

**Docteur Xavier Sastre-Garau**

**Chef du département de Biologie des Tumeurs  
Institut Curie, Paris**

# Avant-propos

La littérature médicale ne possède aucun guide pour épauler les technicien(ne)s de laboratoire qui travaillent en anatomo-cytopathologie. Dans cette optique, j'ai rédigé un manuel comportant des rappels théoriques, la méthodologie ainsi qu'un glossaire de la pathologie tumorale. Cet ouvrage s'adresse tout particulièrement aux étudiants, aux technicien(ne)s de laboratoire, aux internes de pathologie et aux médecins de laboratoire, désireux de se familiariser avec cette spécialité médicale méconnue ou d'approfondir leurs connaissances.

Ce travail de synthèse est le fruit de mes trente années d'activité à l'Institut Curie, Centre de lutte contre le cancer (CLCC) à Paris, que je souhaite partager. Travailler dans ce domaine est vraiment enrichissant, d'autant que la pathologie est un secteur en évolution constante. L'étroite et croissante collaboration technicien(ne)/médecin représente un ensemble dans le fonctionnement d'un laboratoire d'anatomo-cytopathologie. Le (la) technicien(ne) de laboratoire apporte sa contribution dans l'établissement du diagnostic en fournissant au pathologiste ses connaissances intellectuelles et techniques. Il (elle) a donc le devoir d'apporter une qualité et une reproductibilité dans ses travaux, en gardant à l'esprit que derrière chaque prélèvement se trouve un patient.

Ma préoccupation principale a été d'écrire des textes concis, de lecture aisée, contenant un maximum d'informations. La construction de ce manuel, à l'intérieur duquel vous pouvez naviguer selon vos besoins sans forcément tout lire de façon linéaire, comprend cinq parties. La première partie est consacrée à un rappel des notions théoriques (biologiques, physiologiques et anatomiques). La deuxième partie décrit la pathologie tumorale (notions sur les tumeurs et les différentes variétés de cancers). La troisième partie présente l'anatomo-cytopathologie afin de connaître les risques sanitaires inhérents à la pratique de cette discipline, les différents types de prélèvements soumis à un examen anatomo-cytopathologique et les moyens pour les obtenir, les principes de prise en charge des prélèvements selon les techniques de base d'un laboratoire et les techniques particulières réalisables sur les cellules et les tissus. La quatrième partie explique les différentes techniques de prélèvements et les actes médicaux. La dernière partie est réservée aux glossaires nécessaires à la compréhension de cette discipline.

Mon souhait est que cet ouvrage, à la fois théorique et pratique, apporte des réponses claires à vos questions et qu'il reçoive un excellent accueil dans les laboratoires.

**Véronique Marck**

# Remerciements

Je remercie tout particulièrement le docteur Antoine Zajdela, ancien chef du service de cytopathologie à l'Institut Curie, de m'avoir recrutée et fait découvrir cette spécialité médicale, ainsi que le docteur Philippe Vielh, son successeur, qui m'a encouragée à reprendre mes études.

Je remercie le docteur Xavier Sastre-Garau, chef du département de biologie des tumeurs à l'Institut Curie, de m'avoir soutenue dans ce travail et d'avoir revu et complété ce manuscrit.

Je tiens à remercier chaleureusement le docteur Jerzy Klijanienko pour ses suggestions et son soutien qui m'ont grandement aidée dans la réalisation et la concrétisation de ce projet.

Je remercie monsieur Martial Caly, technicien de laboratoire hautement qualifié du service de pathologie à l'Institut Curie, qui m'a fait bénéficier de ses connaissances professionnelles et de ses nombreux conseils.

Je remercie monsieur Jean-Pierre Laborde, responsable du service d'iconographie à l'Institut Curie, pour le traitement des images numériques nécessaires à l'illustration de ce livre.

Je tiens à remercier les personnes qui ont participé à la relecture et la correction, et pour l'attention qu'elles ont apportée à mon manuscrit, malgré leur emploi du temps souvent très chargé.

Je remercie également tous mes collègues, techniciens et secrétaires, ainsi que les médecins, présents et passés, du service d'anatomo-cytopathologie de l'Institut Curie pour leur soutien.

Enfin, je remercie ma fille Virginie pour sa présence attentive, ma famille et mes proches pour leur soutien moral et leur patience tout au long de ces années d'écriture.

Merci à tous...

# Table des matières

## Préface V

## Avant-propos VII

## Chapitre 1

### Bases biologiques, anatomiques et physiologiques 1

#### Constituants chimiques de la matière vivante 1

Substances minérales (1), Substances organiques (1).

#### Cycle de la vie cellulaire 2

Division cellulaire (2), Mitose (2), Cycle cellulaire (3), Mort cellulaire (3).

#### Génétique et biologie moléculaire 3

Bases moléculaires (3), Principales applications médicales (4).

#### Cellule 5

Définition (5), Classification des cellules (6).

#### Tissus 6

Définition (6), Histogenèse (7), Tissu épithélial (7), Tissu fibreux de soutien (appelé aussi tissu conjonctif) (9), Tissu musculaire (10), Tissu nerveux (10), Tissus spécialisés (10).

#### Systèmes et organes des sens 11

Système osseux (12), Système tégumentaire (12), Système nerveux (12), Système endocrinien (13), Système neuro-endocrinien diffus (14), Système circulatoire (ou cardiovasculaire) (14), Système lymphatique (14), Système immunitaire (15), Système respiratoire (16), Système digestif (ou gastro-intestinal) (17), Système urinaire (17), Appareil génital féminin (17), Appareil génital masculin (18), Organes des sens (18).

## Chapitre 2

### Pathologie 21

#### Pathologie générale 21

Inflammation (21), Généralités sur les tumeurs (21), Catégories de tumeurs (21), Classification et nomenclature (22).

#### Pathologie tumorale 23

Cellule cancéreuse (23), Principaux critères cytologiques de malignité (23), Tissu malin (24), Différenciation tumorale (24), Organisation du tissu cancéreux (24), Stade d'invasion locale (25), Extension

locorégionale au-delà de l'organe (25), Phase systémique du cancer (26), Critères histologiques de malignité (27), Classification TNM (28), Variétés de cancers (28), Carcinome (29), Sarcome (29), Tumeur osseuse (31), Affection des tissus hématopoïétiques (31), Tumeurs neuro-ectoplasiques (32), Tumeur des séreuses (32), Tumeur embryonnaire (32), Cancer de l'enfant (33), Pathologie mammaire (33).

## Chapitre 3

### Anatomie et cytologie pathologiques 35

#### Anatomo-cytopathologie 35

Définition (35), Le technicien de laboratoire (35), Assurance qualité en ACP (36), Recommandations de bonnes pratiques en ACP (37), Hygiène et sécurité (37), Fonctionnement (42), Conservation des prélèvements (44), Thérapeutique (44), Lames de verre (45), Principes généraux des colorations (45), Coloration usuelle (48), Coloration spéciale (48), Montage (50), Découpage d'une lamelle couvre-objet (51), Immunochimie (51), Techniques complémentaires (58), Microscopie optique (59), Compte rendu (63), Archivage (63).

#### Histologie 63

Définition (63), Fixation (64), Macroscopie (67), Imprégnation (75), Inclusion (78), Coupe (80), Bloc multifissuré (85), Étapes préparatoires à la coloration (86), Étapes préparatoires au montage (87), Préparation des plateaux de lecture (88), Examen microscopique (88), Étapes de préparation d'un spécimen tissulaire pour analyse histologique (89).

#### Cytologie 89

Définition (89), Utilité de l'examen cytologique (89), Prélèvement cytologique (90), Cytopréparation des échantillons cellulaires (91), Confection des étalements (92), Cytopréparation des liquides (93), Fixation des étalements (96), Cytologie en milieu liquide (96), Cytobloc (100), Coloration standard (101), Préparation des plateaux de lecture (102), Examen microscopique (102), Étapes de préparation d'un échantillon cellulaire pour analyse cytologique (102).

#### Catalogue des procédés techniques 103

Eau, pH et solutions tampons (103), Coloration standard (104), Coloration spéciale (108), Immunochimie (115), Technique spécifique (123).

<b>Chapitre 4</b>		<b>Chapitre 5</b>	
<b>Actes médicaux</b>	<b>133</b>	<b>Glossaires</b>	<b>145</b>
Préambule .....	133	Lexique étymologique.....	145
Prélèvement cytologique.....	133	Principaux types de cellules.....	145
Cytologie gynécologique (134), Ponction (134),		Topographie anatomique.....	154
Cytopathologie clinique (134), Cytologie pulmonaire (136),		Interventions chirurgicales.....	159
Cytologie urinaire (136), Autres prélèvements (136),		Termes cliniques, macroscopiques	
Biopsie.....	137	et microscopiques.....	161
Matériel de prélèvement (137), Mode de guidage (138),		Terminologie des lésions bénignes,	
Imagerie médicale .....	139	malignes et pseudo-tumorales.....	169
Traitement.....	141		
Chirurgie carcinologique (141), Chimiothérapie (142),			
Radiothérapie et curiothérapie (142),			
Hormonothérapie (143), Immunothérapie (143),			

# Chapitre 1

## Bases biologiques, anatomiques et physiologiques

### Constituants chimiques de la matière vivante

La matière vivante est faite d'un complexe d'eau, de sels, de lipides, de protides et d'enclaves inertes de substances de réserve (glycogène et graisse) élaborée par elle.

### Substances minérales

L'eau constitue le support des liquides nourriciers (sang et lymphe) des produits de sécrétion (sucs digestifs, urines) et des enclaves aqueuses situées dans les cellules elles-mêmes (vacuoles). Les sels minéraux peuvent être identifiés dans tous les liquides de l'organisme dont les plus répandus sont les chlorures, les sulfates, les phosphates et les sels de calcium.

### Substances organiques

La cellule est principalement constituée par des substances complexes formées de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Les lipides (ou corps gras) se trouvent dans de grosses molécules (macromolécules). Ils possèdent un rôle biologique important, structural et énergétique. Les protides sont des composés organiques azotés qui englobent les peptides et les protéines. Les peptides sont des molécules constituées par l'union d'un petit nombre de molécules d'acides aminés (éléments structurels, « maillons » de base des protéines) reliées par des liaisons peptidiques (liaison covalente entre un atome de carbone et un atome d'azote de deux acides aminés). Les acides aminés sont des molécules de petite taille qui possèdent

une fonction acide carboxylique ( $-\text{COOH}$ ) et une fonction amine ( $-\text{NH}_2$ ). Les protéines sont des macromolécules constituées par l'enchaînement d'acides aminés. On peut distinguer une protéine par sa longueur (nombre d'acides aminés dans sa chaîne) ou sa fréquence (ordre selon lequel les acides aminés sont disposés). Les protéines assurent un rôle catalysant les réactions chimiques, le transport et le stockage, la défense immunitaire, la fonction musculaire et mécanique (collagène), le contrôle du développement et de la différenciation et un rôle de récepteur protéique. Les enzymes sont des protéines volumineuses avec activité chimique. Elles sont constituées d'une partie protéique, leur conférant leur spécificité, et d'une partie non protéique (coenzyme), participant à la réaction. Ce sont les acteurs indispensables du métabolisme (biocatalyseurs). Il existe plus de 3500 enzymes différentes répertoriées.

#### Classification très simplifiée des protéines

- Holoprotéine (ou protéine simple) formée uniquement d'acides aminés :
- protéines fibreuses : insolubles dans l'eau (collagène, élastine, kératine) ;
- protéines globulaires : solubles dans l'eau (enzymes, hormones, anticorps, actine, myosine).
- Hétéroprotéine (ou protéine complexe) dans laquelle sont présentes d'autres molécules :
- phosphoprotéines : associées à l'acide phosphorique (caséine du lait) ;
- glycoprotéines : associées à un ou plusieurs glucides (molécules des groupes sanguins) ;
- lipoprotéines : associées à un ou plusieurs lipides ;
- chromoprotéines : associées à un pigment (hémoglobine).

Les glucides nommés plus couramment sucres constituent un facteur énergétique important. Ils sont souvent liés aux protéines et aux lipides. Les monosaccharides de formule  $[(CH_2O)_n]$  comprenant notamment le glucose, le fructose, le galactose sont constitués d'oses (sucre simple) comportant une seule chaîne carbonée sans ramification, dont tous les carbones sauf un portent une fonction alcool, le dernier carbone portant une fonction aldéhyde (aldose) ou cétone (cétose). Les disaccharides sont formés par la liaison de deux monosaccharides (saccharose, lactose). Les polysaccharides sont formés par des chaînes de plusieurs sucres simples – oligosaccharide (chaîne courte), polysaccharide (chaîne longue) – et sont à l'origine des structures cellulaires essentielles, dont le glycogène.

## Cycle de la vie cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des événements biochimiques et morphologiques responsables de la prolifération cellulaire.

### Division cellulaire

La division cellulaire assure la reproduction des cellules. On différencie deux types de divisions. La mitose (ou division mitotique), survenant dans les cellules somatiques, assure la croissance et le remplacement des cellules mortes. La méiose (syn. gamétogenèse), survenant dans les cellules germinales, produit les cellules reproductrices intervenant dans la reproduction. Elle est formée de deux mitoses spéciales (réductionnelle et équationnelle) sans interphase, donc sans réplication de l'ADN.

### Mitose

La mitose représente la phase de division cellulaire pendant laquelle la cellule se reproduit. Elle a deux fonctions principales :

- la caryodiérèse, phase durant laquelle les chromosomes dupliqués pendant la phase S (S pour synthèse) sont répartis de façon égale entre les deux cellules potentiellement filles ;

- la cytodièreèse, au cours de laquelle la cellule se sépare en cellules filles génétiquement identiques du fait de la division cytoplasmique.

La mitose est un phénomène continu subdivisé en quatre phases durant lequel plusieurs phénomènes sont observés dans le noyau et le cytoplasme :

#### Prophase

Les chromosomes s'épaississent, se raccourcissent et les noyaux disparaissent. La disparition de la membrane nucléaire marque la fin de la prophase. Les deux paires de centrioles (résultant d'une multiplication lors de l'interphase) migrent aux deux pôles opposés de la cellule. Les centrioles sont reliés par un fuseau de microtubules (le fuseau achromatique) qui s'allonge au fur et à mesure que les centrioles s'éloignent ;

#### Métaphase

Le fuseau achromatique est terminé et les chromosomes se disposent dans la partie centrale de celui-ci (la plaque équatoriale). À ce stade, les bras de chaque chromosome sont toujours joints au niveau du centromère ;

#### Anaphase

Les bras de chaque chromosome se séparent et migrent le long du fuseau vers les deux pôles cellulaires réalisant ainsi une division exacte du matériel génétique qui s'est dupliqué. À la fin de l'anaphase, les deux groupes identiques de chromosomes se sont déplacés vers les deux pôles opposés du fuseau ;

#### Télophase

Les chromosomes deviennent moins compacts et reprennent leur aspect d'interphase. La membrane nucléaire se reforme et les nucléoles redeviennent visibles. Une membrane se forme et sépare les deux cellules filles. Au niveau de la plaque équatoriale, la membrane plasmique s'invagine pour former un sillon de clivage qui étrangle progressivement la cellule jusqu'à la réalisation de deux cellules filles. Au début de la phase G1 (G pour *gap* = intervalle), le fuseau se désagrège et, dans de nombreuses cellules, le centriole se multiplie se préparant ainsi à une nouvelle mitose.

## Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire regroupe l'intégralité de la période de division. Il est composé de quatre phases :

- G1 : croissance et différenciation cellulaire ;
- S : réplication ou synthèse de l'ADN ;
- G2 : préparation de la cellule à la division cellulaire ;
- M : division cellulaire.

La vie de la cellule se déroule suivant ce cycle dont les deux étapes principales sont l'interphase – période « fonctionnelle » pendant laquelle les activités biochimiques de la cellule sont particulièrement intenses (phases : G1, S et G2) –, suivie de la mitose (phase M). Une cellule qui ne se divise pas (cellule quiescente) se maintient en phase G0 (repos de la cellule), on ne parle plus de phase G1 car la cellule ne prépare pas une division.

## Mort cellulaire

La mort cellulaire correspond à la perte irréversible de toute activité ordonnée de la cellule. Théoriquement, elle peut être associée à deux mécanismes. L'apoptose, appelée aussi « mort cellulaire programmée », correspond aux phénomènes qui conduisent normalement à la mort « en douceur » de la cellule indispensable à l'équilibre ou homéostasie du corps pour tenir compte du renouvellement des tissus. Il peut s'agir de cellules ayant atteint leur durée de vie programmée ou de cellules lésées reconnues comme étrangères. La nécrose survient après un stade de souffrance cellulaire. Elle résulte de la digestion enzymatique de la cellule et de la dénaturation de ses protéines.

## Génétique et biologie moléculaire

La génétique est une spécialité biologique qui étudie essentiellement les gènes d'une cellule ou d'un organisme portés par les chromosomes de l'espèce qui sont responsables de la transmission du patrimoine héréditaire (lois de Mendel, fondateur de la génétique). Chez l'homme, chaque

cellule humaine comporte 23 paires de chromosomes. Deux chromosomes sexuels (gonosomes), XX chez la femme et XY chez l'homme, et 22 paires qui sont toujours homogènes (autosomes), numérotées de 1 à 22. Le génome (ensemble des gènes), qui constitue l'ensemble des nucléotides situés dans l'ADN des chromosomes, contient trois milliards de paires de bases nucléotidiques chez l'être humain. La biologie moléculaire est une discipline scientifique qui se consacre au monde vivant par la connaissance des molécules qui lui sont propres.

## Bases moléculaires

L'ADN (acide désoxyribonucléique) contient l'information génétique pour la fabrication de toutes les molécules nécessaires à l'activité de chaque cellule (protéines, enzymes, hormones, facteurs de croissance...). Un gène est une unité d'information génétique, cette unité étant définie par sa fonction et sa structure. Il s'agit d'un segment d'ADN (de taille variable) situé sur un locus précis au niveau d'un chromosome. Chaque gène commande la synthèse d'une protéine ayant une fonction spécifique (constitutive ou enzymatique). Les gènes se trouvent sur les chromosomes, dans les noyaux cellulaires. Ils sont constitués d'une longue chaîne moléculaire complexe, l'acide désoxyribonucléique (ADN). Un locus correspond au positionnement d'un gène sur un chromosome ou dans un groupe de liaison. Un allèle est le nom donné à une ou plusieurs versions alternatives d'un même gène situé au niveau d'un même locus de deux chromosomes homologues. Il existe deux types d'allèles, récessif ou dominant. Les chromosomes sont constitués de spirales d'ADN compactées et entourées de différents types de protéines. Ils forment la chromatine nucléaire durant l'interphase (cellule au repos) et sont individualisables pendant la mitose sous forme de bâtonnets. Un chromosome possède normalement deux bras (segment compris entre une extrémité libre et le centromère) qui peuvent être soit de longueurs inégales (chromosome sub-métacentrique ou acrocentrique), soit de longueurs au moins approximativement égales (chromosome métacentrique).

Toutes les cellules de l'organisme (excepté les gamètes) contiennent deux lots haploïdes et sont dites diploïdes.

L'ADN (ou DNA, abréviation internationale) est une structure allongée, formée de deux bandes vrillées en double hélice. Chaque bande est constituée de quatre bases azotées : adénine (A), thymine (T), cytosine (C), guanine (G). L'ADN est constitué de l'enchaînement linéaire de ces bases liées à un sucre (désoxyribose). Ces complexes base azotée-sucres (appelés nucléosides) sont liés entre eux par des molécules d'acide phosphorique. Au cours de la mitose, pendant la phase de synthèse S, l'ADN contenu dans le noyau a la capacité de se dupliquer en se séparant par le milieu (comme une échelle dont on scie les barreaux). Les bases s'apparient avec les bases libres pour former une nouvelle échelle identique. L'ADN sert donc de mémoire et de matrice pour la fabrication (synthèse) des protéines. Celle-ci s'effectue en deux temps. Au cours de la transcription, l'information « codée » de l'ADN est copiée dans un autre acide nucléique (ARN messenger) qui passe du noyau de la cellule dans le cytoplasme. Au cours de la traduction, cette information permet l'élaboration des protéines. Lors de chaque mitose, l'information de l'ADN est recopiée à l'identique, c'est la réplication. Le remplacement par erreur de copiage d'une base par une autre peut conduire au remplacement dans la protéine d'un acide aminé par un autre, donc à une protéine anormale. Ce phénomène (appelé mutation) peut être à l'origine de graves anomalies ou de la mort de la cellule. Dans les cellules germinales, il peut déterminer une maladie congénitale. Dans une cellule somatique, c'est-à-dire de n'importe quel autre tissu de l'organisme, il peut conduire à un cancer si la protéine anormale est impliquée dans la régulation des multiplications cellulaires.

L'ARN – acide ribonucléique (ou RNA, abréviation internationale) contient les acides ribonucléiques qui sont les intermédiaires entre l'information génétique du génome contenu dans l'ADN et les protéines chargées des fonctions cellulaires. Ils sont constitués de quatre bases azotées – cytosine (C), uracile (U), adénine (A), guanine (G) – liées à un sucre (ribose). Ces unités élémentaires sont enchaînées les unes

aux autres par l'intermédiaire d'acide phosphorique formant une structure en simple brin.

Les ARN sont de trois types, tous impliqués dans le passage de l'information de l'ADN aux protéines. L'ARN messenger (ARNm) transmet l'essentiel du message génétique sous la forme d'une chaîne de nucléotides caractérisés par leur base azotée. L'ARN de transfert (ARNt) se lie à un acide aminé codé par une séquence de trois bases azotées au cours de la traduction. L'ARN ribosomique relie les deux premiers en permettant la lecture de l'ARN messenger sur lequel l'ARN de transfert vient apporter un acide aminé identifié par chaque triplet (ou codon) de base successif. Ainsi, la protéine se constitue (acide aminé après acide aminé) selon l'information portée par l'ARNm.

## Principales applications médicales

La génétique cherche à réaliser la synthèse entre les observations cytologiques et les données relatives à la transmission des caractères héréditaires. La cartographie, détermination de la localisation des gènes (loci) sur les chromosomes, et le séquençage, détermination de la séquence des paires de bases nucléotidiques du génome humain, sont très importants pour connaître la localisation d'un gène impliqué dans l'étiologie d'une maladie. Des anomalies chromosomiques (anomalies de structure et/ou de nombre) sont fréquemment observées dans les cellules cancéreuses. Quelques-unes sont spécifiques de certains cancers, d'autres sont plus aléatoires et retrouvées dans plusieurs types de cancers. L'apparition de nouvelles techniques de biologie moléculaire en cancérologie, pour l'étude de la structure du génome (profil génomique de gains et de pertes de segments chromosomiques) et du transcriptome (profil d'expression génique), apporte une aide précieuse au pathologiste, notamment pour le diagnostic des hémopathies malignes (leucémies et lymphomes) et de certaines tumeurs solides (tumeurs pédiatriques, tumeurs neuro-ectodermiques, carcinome du rein; cf. tableau 3-35).

La cytogénétique permet d'établir un caryotype, « carte d'identité » chromosomique des cellules

eucaryotes. L'établissement du caryotype consiste à regrouper les différentes paires de chromosomes d'une cellule afin d'établir un classement ordonné en fonction de leur nombre, leur taille, la position du centromère et la disposition de leurs bandes (*cf.* fig. 3-80). Les anomalies des chromosomes peuvent être classées en fonction de leurs types : anomalies de structure et anomalies quantitatives. Le type principal d'anomalie de structure est la translocation, déplacement d'un segment chromosomique sur un autre chromosome (*cf.* fig. 3-81). Les anomalies quantitatives se répartissent en gains et pertes de chromosomes ou segments chromosomiques. Les gains mènent à des trisomies ou polysomies. Le génome entier peut être dupliqué (tétraploïdie, polyploïdie). Un remaniement particulier, assez fréquemment observé dans les tumeurs, est représenté par les amplifications, duplications localisées d'un segment du génome en un grand nombre de copies. Les pertes de segments chromosomiques sont liées à des délétions.

Les nouvelles techniques de biologie moléculaire dévoilent peu à peu le génome humain et ses erreurs de structure ou de fonctionnement pouvant aboutir au développement d'un cancer. La découverte des gènes, impliqués dans le cancer, proto-oncogènes (gène cellulaire normal susceptible de se modifier par mutation ou modification structurale et de se transformer en oncogène) et oncogènes (gène produisant des protéines stimulant la multiplication cellulaire, pouvant induire l'apparition et/ou le développement d'une tumeur quand il est surexprimé ou exprimé de façon intempestive) ou, à l'opposé, anti-oncogènes (gène intervenant dans le contrôle et la régulation des divisions cellulaires et dont l'absence ou le mauvais fonctionnement favorise l'apparition d'un cancer), a été déterminante dans l'identification de l'origine d'une tumeur maligne (*cf.* p. 131). Ces découvertes, en évolution constante, commencent à ouvrir de nouvelles voies de traitement des cancers. Les biothérapies cherchent à rectifier ou modifier les désordres qui caractérisent une tumeur maligne. L'oncogénétique (ou génétique des cancers) a pour but de mieux déterminer les facteurs héréditaires qui favorisent les tumeurs et de les reconnaître chez des individus qui sont

considérés comme sujets à risque justifiant une surveillance particulière afin de leur faire bénéficier d'un dépistage individuel.

## Cellule

---

### Définition

Les cellules représentent les plus petites unités structurales et fonctionnelles des organismes pluricellulaires. La cellule procaryote ne possède pas de noyau (bactérie). La cellule eucaryote est la plus petite unité de matière vivante qui puisse exister de façon indépendante et se reproduire. Elle est constituée d'un noyau entouré d'une enveloppe nucléaire et du cytoplasme séparé du milieu extérieur par la membrane cytoplasmique (tableau 1-1).

### Noyau

Il contient l'information génétique. Ses membranes externe et interne renferment des pores permettant le transport de substances entre le noyau et le cytoplasme. Il contient un nucléole et une matrice fibreuse formée de différents complexes ADN-protéines. La plus grande partie de l'ARN ribosomal est synthétisée dans le nucléole. Les chromosomes (situés dans le noyau) ne sont pas individualisables mais forment un réseau diffus (chromatine). Les gènes sont portés par les chromosomes.

### Cytoplasme

Il contient un système complexe de membranes internes constituant les structures cellulaires (organites). Les principaux organites sont les mitochondries (où d'importantes réactions chimiques productrices d'énergie se produisent), le réticulum endoplasmique (constitué d'un ensemble membranaire et lieu de synthèse des glycoprotéines et des lipides), l'appareil de Golgi (ayant des fonctions de transport) et des peroxyosomes permettant respectivement la synthèse et la dégradation de certaines substances. Les lysosomes sont le siège du catabolisme d'un grand nombre de protéines, acides nucléiques et lipides. Le cytoplasme

Tableau 1-1 Fonctions cellulaires.

<b>Noyau</b>	Enveloppe nucléaire	Échange entre le noyau et le cytoplasme	
	Chromatine	Support de l'information héréditaire qui donne les chromosomes au moment de la division cellulaire	
	Nucléoplasme	Rôle métabolique Synthèse des substances	
	Nucléole	Siège de l'hérédité Rôle de synthèse de l'ARN ribosomal	
<b>Cytoplasme</b>	Hyaloplasme	Substance fondamentale du cytoplasme Support des organites (structures cellulaires)	
	Membrane plasmique ou cytoplasmique	Règle les échanges entre la cellule et le milieu extérieur	
	Cytosquelette	Rôle de stabilité	
	Réticulum endoplasmique	Synthèse des glycoprotéines et des lipides	
	Ribosome	Siège de la synthèse protéique	
	Appareil de Golgi	Fonctions de transport	
	Lysosome	Siège du catabolisme d'un grand nombre de protéines, acides nucléiques et lipides	
	Peroxisome	Synthèse et dégradation de certaines substances	
	Mitochondrie	Productrice d'énergie	
	Centriole ou centrosome	Rôle dans la division cellulaire (mitose)	
	Inclusion cytoplasmique	Granulation (glycogène)	
		Vacuole (inclusion lipidique)	
		Pigments variés (hémosidérine, lipofuscine, mélanine)	

renferme un cytosquelette (réseau de filaments et de tubules intracellulaires) composé de microtubules, de microfilaments d'actine et de filaments intermédiaires, constitué de différentes protéines qui confèrent sa stabilité structurelle ou architecturale à la cellule. Les centrioles sont de petites particules qui jouent un rôle important dans la division cellulaire. Les ribosomes sont le siège de la synthèse protéique.

### Membrane cytoplasmique

Elle est formée d'une double couche de phospholipides (bicouche lipidique). Elle est constituée d'une série de canaux composés de protéines caractéristiques permettant le transport de substances vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule.

### Classification des cellules

Lorsque les cellules acquièrent une forme et une organisation interne caractéristique du type auquel

elles appartiennent, elles sont dites différenciées (cellules épithéliales, nerveuses ; cf. p. 145) et sont alors capables d'effectuer la mobilisation de leurs organites (tableau 1-2).

## Tissus

### Définition

Un tissu est un ensemble de cellules différenciées et spécialisées dans une même fonction identifiable sur des caractéristiques architecturales et topographiques. Les tissus constituent des organes et des systèmes, cette association forme un groupe fonctionnel d'ordre supérieur (les appareils). Le suffixe « -thélium » est utilisé pour désigner divers tissus. Il existe quatre entités de tissus simples fondamentaux : épithélial, de soutien, musculaire et nerveux. Leur combinatoire locale dirigée aboutit à des tissus spécialisés avec de grandes différences morphofonctionnelles. L'identification du

**Tableau 1-2** Classification fonctionnelle des cellules.

Groupe cellulaire	Cellule épithéliale	Cellule de soutien	Cellule contractile	Cellule nerveuse	Cellule germinale	Cellule sanguine	Cellule immunologique	Cellule sécrétant des hormones
<b>Exemple</b>	Épithéliums de l'intestin, des vaisseaux et de la peau	Tissu fibreux de soutien, cartilage, os	Muscles	Cerveau	Spermatozoïdes Ovocytes	Hématies et leucocytes circulants	Tissus lymphoïdes (ganglions, rate)	Thyroïde et surrénales
<b>Fonction</b>	Barrière Absorption Sécrétion	Organiser et maintenir la structure du corps	Mouvement	Communication cellulaire directe	Reproduction	Transport d'oxygène Défense Hémostase	Défense	Communication cellulaire indirecte

tissu composé tient donc compte de sa localisation topographique et de sa spécificité fonctionnelle. La cohésion des tissus ainsi que la mobilité des cellules s'effectuent grâce à des mécanismes d'adhérence cellulaire.

Sur le plan morphologique, on distingue deux grands types de répartitions cellulaires dans les tissus :

- les tissus à union cellulaire serrée : les espaces intercellulaires, très étroits, correspondent à l'ensemble des tissus épithéliaux et du système nerveux central ;
- les tissus à union lâche où les cellules sont distantes et les espaces intercellulaires contiennent une substance intercellulaire (tissu fibreux de soutien).

## Histogenèse

Les tissus de l'organisme se développent à partir des trois feuilletts embryonnaires qui s'individualisent au cours de la troisième semaine de la vie intra-utérine. Chaque feuillet aboutit à des fonctions spécifiques :

- l'ectoderme (ou ectoblaste/épiblaste), feuillet externe d'où l'épiderme et ses annexes (phanères, glandes cutanées) dérivent, ainsi que le système nerveux et les organes sensoriels ;
- l'endoderme (ou endoblaste), feuillet interne appelé à constituer la paroi du tube digestif, les glandes annexes (foie, pancréas, prostate, thyroïde...), l'arbre respiratoire ;
- le mésoderme (ou mésoblaste), feuillet moyen qui au cours du développement donne naissance

aux muscles, au sang, au squelette, aux appareils urogénital et cardiovasculaire.

**À noter : l'évolution des feuilletts embryonnaires ne correspond pas à une spécificité tissulaire.**

## Tissu épithélial

Le tissu épithélial est un tissu de revêtement. Il a cinq fonctions : la protection, l'absorption, la filtration, l'excrétion et la sécrétion. Il est constitué de cellules épithéliales accolées les unes aux autres sans séparation entre elles pour constituer des feuilletts appelés épithéliums. Il existe deux variétés d'épithéliums, l'épithélium de surface et l'épithélium glandulaire.

Un **épithélium** est avasculaire (aucun vaisseau ne l'irriguant directement). Les cellules reposent sur une membrane basale (ou lame basale) qui les sépare du tissu conjonctif sous-jacent (chorion).

La **membrane basale** sert de moyen d'ancrage aux cellules épithéliales. Elle intervient comme un filtre pour leur nutrition, elle est indispensable pour leur survie et leur cicatrisation. De plus, cette membrane est perméable et représente une barrière physiologique extrêmement importante (en particulier dans le domaine de la pathologie tumorale). Elle est formée par l'union de deux feuilletts :

- la lame basale, mince feuillet de glycoprotéines sécrété par les cellules épithéliales. Elle est composée essentiellement par des protéoglycans, du collagène de type IV, des molécules de fibronectine, laminine et entactine ;
- la lame réticulaire, feuillet de matériel extracellulaire sécrété par les cellules du tissu

conjonctif sous-jacent. Elle contient des fibres de collagène de type III (aussi appelées fibres réticulaires).

Le **chorion** est un tissu conjonctif lâche renfermant des fibres musculaires lisses et des vaisseaux.

### Épithélium de surface (ou de revêtement)

Les épithéliums de revêtement tapissent la surface du corps (épiderme) et bordent les cavités et conduits internes ainsi que les organes creux :

- cavités « ouvertes » (prolongements de l'extérieur) : épithélium (voies aériennes, tube digestif, voies urinaire et génitale);
- cavités « fermées » : endothélium (cavités cardiaque et vasculaire [vaisseaux sanguins et lymphatiques]);
- cavités cœlomiques : mésothélium (cavités pleurale, péritonéale et péricardique);
- muqueuse vésicale et voies urinaires : urothélium (ou transitionnel).

La classification des épithéliums de revêtement se base sur trois critères morphologiques :

- le nombre de couches (d'assises) cellulaires :
  - unistratifiée (simple) : une seule couche de cellules toutes en contact avec la membrane basale par leur pôle inférieur,
  - pluristratifiée (stratifiée) : deux ou plusieurs couches de cellules dont la forme varie selon la profondeur de la couche où elles siègent, seules les cellules basales sont au contact de la membrane basale,
  - pseudostratifiée : toutes les cellules se trouvent en contact avec la membrane basale;
- le niveau de différenciation des cellules constructives :
  - pavimenteux (cellules aplaties, plus larges que hautes) : endothélium et mésothélium,
  - cubique ou isoprismatique (cellules aussi hautes que larges),
  - cylindrique ou prismatique (cellules plus hautes que larges);
- la spécialisation ou différenciation de la membrane plasmique au niveau du pôle apical permet de typer les épithéliums. Les structures suivantes peuvent être observées, kératinisation ou pas, microvillosités, cils vibratiles, stéréocils :

- les épithéliums unistratifiés ou pseudostratifiés peuvent être ciliés, à stéréocils, à bordure en brosse,
- les épithéliums pluristratifiés peuvent être non seulement pavimenteux mais également kératinisés ou non,
- les épithéliums pavimenteux stratifiés sont appelés épithélium malpighien ou épidermoïde.

### Épithélium glandulaire

L'épithélium glandulaire tapisse une cavité. Il est constitué par des cellules spécialisées dans les sécrétions. Il est intermédiaire sur une muqueuse ou interne pour une glande.

Une **muqueuse** est une membrane formée d'un épithélium cylindrique ou pavimenteux tapissant la paroi interne des cavités naturelles et de la plupart des organes creux :

- muqueuse malpighienne : anus, bouche, exocol, larynx, œsophage, pharynx, vagin...;
- muqueuse glandulaire : côlon, duodénum, endocol, endomètre, estomac, intestin grêle, rectum, trachée...

Une **glande** (ou acinus) est un organe qui correspond à des regroupements de cellules épithéliales hautement différenciées à sécrétion interne (endocrine), externe (exocrine) ou mixte (amphicrine = endocrine et exocrine).

Une **glande endocrine** est constituée de cellules qui forment des travées séparées par des capillaires sauf dans la thyroïde où elles sont arrangées en vésicules. Elle déverse le produit de sécrétion (hormones, peptides), regroupé sous le terme de « facteur de croissance », directement dans le milieu intérieur (système vasculaire). On observe divers modes sécrétoires : endocrinie, paracrinie, autocrinie et neurocrinie.

Une **glande exocrine** déverse le produit de sécrétion dans le milieu extérieur ou dans une cavité organique en continuité avec le milieu extérieur soit directement, soit par l'intermédiaire d'un canal excréteur. Les critères suivants sont utilisés pour la classification des glandes exocrines :

- niveau d'arborescence du canal excréteur. On peut décrire les glandes simples, ramifiées, composées;

- forme de l'adénomère (partie sécrétante de la glande) acineuse (en groupe), tubuleuse (en tube), alvéolaire (sphère ou sac plus ou moins bosselé);
- nature du produit de sécrétion. Substances de nature muqueuse (visqueux) soit : séreuse (aqueux), muqueuse (mucus), séreuse (zymogène), sébacée (sébum);
- modalité de sécrétion des cellules glandulaires :
  - métocrine : produit excrété par diffusion (exocytose),
  - apocrine : produit expulsé avec une partie de la cellule où elle est accumulée (apocytose),
  - holocrine : le cytoplasme de la cellule se charge d'une quantité considérable de produit de sécrétion et ensuite se désintègre.

Une **hormone** est une substance déversée dans le sang par des cellules spécialisées, véhiculée ensuite par la circulation pour exercer une action à distance sur un organe ou des cellules cibles. Il existe trois grands types d'hormones si on les distingue par leur nature chimique : les stéroïdes (aldostérone, cortisol, œstradiol, progestérone, testostérone), les dérivées d'acides aminés (adrénaline), les dérivés de nature peptidique (glucagon, insuline).

## Tissu fibreux de soutien (appelé aussi tissu conjonctif)

Sur le plan embryologique, les différents types de tissu conjonctif dérivent du mésenchyme (mésoderme). Le mésenchyme est un tissu embryonnaire caractérisé par ses cellules souches (cellules mésenchymateuses) et formé soit par du mésoblaste, soit par des éléments provenant de la crête neurale (ectomésenchyme) et pouvant se différencier en tissu conjonctif, cartilagineux, osseux, musculaire...

Le tissu conjonctif représente le principal constituant de l'organisme. Il comprend un «tissu d'emballage» enveloppant des organes ou remplissant les intervalles qui les séparent. Ce tissu conjonctif «de liaison» est composé de vaisseaux (artères, veines et vaisseaux lymphatiques), de cellules séparées par une substance intercellulaire (substance fondamentale) qui renferme les fibres et qui sert de soutien ou de support (stroma) à d'autres tissus

bien identifiés, les épithéliums, les tissus spécialisés (excepté la substance grise et blanche du système nerveux central). Il existe différents types de tissus conjonctifs :

- dense : beaucoup de fibres collagènes et peu de fibres réticulaires;
- lâche : peu de fibres collagènes et beaucoup de fibres réticulaires;
- muqueux : c'est la substance fondamentale qui prédomine.

Les **cellules** sécrètent la substance fondamentale, des protéines sous forme de fibres composant le squelette du tissu conjonctif. Chaque tissu conjonctif possède une variété particulière de cellules présentant à l'état immature et sous forme adulte.

La **substance fondamentale** est produite par les fibroblastes. C'est un matériau inerte qui comble les espaces entre les cellules et qui assure le maintien des macromolécules du tissu conjonctif et la nutrition des cellules. Elle se compose de sels minéraux, d'eau, de mucopolysaccharides et de glycoprotéines.

Les **fibres** sont des filaments ou cellules allongées (trois principales variétés) :

- Les fibres de collagène (ou fibres blanches), les plus abondantes, sont présentes dans l'organisme, sauf dans le système nerveux central. Elles sont constituées d'une protéine extrêmement robuste conférant au tissu conjonctif une résistance à la traction. Elles sont produites par les fibroblastes (les chondrocytes, les cellules endothéliales et musculaires, les ostéoblastes peuvent aussi les produire). Elles se groupent en faisceaux. On les trouve au niveau des capsules d'organes, os, cartilage, tendon. Le collagène est une substance principalement protidique (l'acide aminé que l'on trouve le plus souvent est la glycine). Les différents types de collagène forment les fibrilles :
  - type I : cartilage, os et tendons,
  - type II : cartilage et vitrée oculaire,
  - type III : tissu fibreux à l'origine de réticuline (argyrophile),
  - type IV : collagène des membranes basales,
  - type V (péricellulaire) : ancrage de la membrane basale, stroma et placenta.

- Les fibres élastiques (ou fibres jaunes) sont constituées par l'élastine qui donne son aspect élastique. Elles sont produites par les fibroblastes, les chondroblastes et les cellules musculaires lisses des vaisseaux. Elles se réunissent entre elles pour former un réseau et sont distribuées dans les organes qui se dilatent souvent (derme, cartilages élastiques, ligaments jaunes, poumon, vésicule biliaire, aorte, paroi des artères élastiques). L'élastine est la partie amorphe des fibres élastiques;
- Les fibres de réticuline (fibres réticulaires) sont des fibres de collagène très minces (réticulum = petit filet) reliées aux fibres de collagène plus épaisses et forment des réseaux en fibrilles. Elles contribuent à soutenir les tissus mous des organes. Elles sont formées par des cellules qui dérivent des fibroblastes (cellules réticulées). On les rencontre associées aux lames basales (glandes, épithélium de revêtement) ainsi que dans les organes hématopoïétiques, lymphoïdes et dans le foie. La réticuline est assez semblable au collagène, car elle est composée en majeure partie de tropocollagène (unité fondamentale du glycogène), elle présente aussi une fonction lipidique.

Le **stroma** est le nom donné à la trame d'un tissu dont les mailles soutiennent les cellules et les formations cellulaires. Elle est généralement constituée de cellules conjonctives normales, de fibres de collagènes et élastiques, de vaisseaux sanguins et lymphatiques et même de nerfs.

## Tissu musculaire

Le tissu musculaire est vascularisé et contient des cellules contractiles (myocytes) composées de protéines (actine et myosine). Il assure la mobilité du corps et des viscères. Les myofilaments sont des filaments, fins d'actine et épais de myosine, responsables de la contraction musculaire, ils se groupent en faisceaux irréguliers pour constituer les myofibrilles. L'aponévrose est une membrane de consistance fibreuse séparant les masses musculaires au sein d'un muscle. Le terme fascia est employé pour désigner l'aponévrose qui engaine les muscles et les sépare des organes voisins.

Le **muscle cardiaque** (contraction involontaire, rythmique et automatique) est formé de cellules mononucléées qui constituent un réseau dont les mailles enferment du tissu conjonctif et des vaisseaux.

Le **muscle lisse** (blanc) ou muscle de la vie végétative (mouvements involontaires) est formé de cellules fusiformes, courtes, non striées, à noyau central. Elles peuvent être soit isolées, soit regroupées en couche, toutes orientées dans la même direction. On le trouve au niveau des organes creux (tube digestif, utérus).

Le **muscle strié** (rouge) ou muscle de la vie de relation (mouvements volontaires) est formé de cellules allongées, striées, cylindriques, multinucléées, dotées de myofibrilles toutes alignées dans la même direction. On le trouve dans les muscles squelettiques (biceps, thoraco-abdominaux, visage).

## Tissu nerveux

Le tissu nerveux permet la régulation de l'organisme et le mouvement. Hautement différencié, il est responsable de la réception, de la transmission et du traitement de l'information en provenance de l'environnement et/ou de l'organisme lui-même. Il est vascularisé et constitue les organes du système nerveux. Il est formé de cellules nerveuses (ou neurones), représentant le tissu nerveux proprement dit, et du tissu de la névrologie (ou tissu de soutien) qui est un tissu de remplissage, de nutrition et de soutien entre les cellules et les fibres. La fibre nerveuse est formée par un axone entouré d'une gaine de myéline (substance formée de glycérophospholipides et protéines; système nerveux central) et d'une gaine de Schwann (système nerveux périphérique). L'épendyme est la membrane qui tapisse l'intérieur des ventricules du cerveau et le canal de la moelle épinière.

## Tissus spécialisés

### Tissu adipeux

Le tissu adipeux (ou gras) est composé par des adipocytes et quelques fibres de collagène. Il

sert de réserve d'énergie et d'isolant thermique (stockage intercellulaire des lipides).

### Tissu cartilagineux

Les cellules (chondroblastes/cytes) du tissu cartilagineux sont enfermées dans des lacunes séparées par des travées de substance fondamentale, abondante et amorphe.

Le **cartilage** a une consistance rigide mais souple. Il est avasculaire (nourri par les tissus adjacents). Il contient 80 % d'eau. Il existe chez l'adulte trois types de cartilages :

- **hyalin** : riche en glycogène et enclaves lipidiques. Il permet un soutien ferme et flexible. On le rencontre chez l'adulte au niveau des surfaces articulaires, des côtes, de l'arbre trachéobronchique et de la cloison nasale. Il constitue chez l'enfant les cartilages de conjugaison ;
- **élastique** : il contient de très nombreuses fibres élastiques et a ainsi une importante résistance aux flexions. Il se rencontre dans le pavillon de l'oreille, le conduit auditif externe, l'épiglotte et le larynx ;
- **fibreux** : riche en fibres collagènes qui permettent une résistance à la pression (ce cartilage est compressible). Il est localisé au niveau des disques intervertébraux, de la symphyse pubienne, des ménisques articulaires (genoux) et de l'insertion de certains tendons (tendon d'Achille).

Le **périchondre** est vascularisé et enveloppe tous les types de cartilage en dehors du cartilage articulaire.

Le **cartilage articulaire** est un cartilage hyalin avasculaire formant la limite des cavités articulaires permettant de supporter les forces et un mouvement régulier des pièces osseuses. Dans certaines articulations peu mobiles, il peut être remplacé par un cartilage fibreux (disques intervertébraux).

### Tissu lymphoïde

Il correspond à un ensemble de cellules et d'organes dont les réactions de défense de l'organisme dépendent. Il permet l'intégration des interactions cellulaires complexes intervenant dans les

réponses immunes. Ce tissu constitue des organes centraux ou primaires (moelle osseuse et thymus) et des organes périphériques ou secondaires (ganglions lymphatiques, rate) et l'ensemble des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT). Dans tous les cas et à l'exception du thymus qui constitue un organe très particulier, l'organisation du tissu lymphoïde comporte toujours une trame de tissu réticulaire dans les mailles de laquelle se situent macrophages, cellules dendritiques et cellules lymphoïdes (le plus souvent regroupées en follicules).

Le concept MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) recouvre tout le tissu lymphoïde non encapsulé que l'on met en évidence dans les zones sous-muqueuses des systèmes respiratoire, gastro-intestinal et urogénital. Le concept BALT (*bronchus-associated lymphoid tissue*) recouvre l'anneau de Waldeyer (terme décrivant l'ensemble du tissu lymphoïde du cou et du pharynx) comprenant les amygdales palatines (linguale et pharyngée), les végétations adénoïdes et les ganglions régionaux. Le concept GALT (*gut-associated lymphoid tissue*) recouvre l'ensemble des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses de l'intestin et les plaques de Peyer (amas de lymphocytes dans la paroi de l'intestin grêle).

### Tissu osseux

Il est très dur, son rôle est le soutien et la protection. Il doit sa dureté aux sels calciques présents dans sa substance fondamentale. Les ostéocytes sont enfermés dans des logettes mais restent en contact les uns avec les autres par des prolongements logés dans de petits canaux. Les os sont constitués de tissu spongieux engainé à sa périphérie par du tissu compact.

## Systèmes et organes des sens

Un appareil est un ensemble d'organes qui remplissent une même fonction dans l'organisme. Un système est un groupe d'organes morphologiquement et fonctionnellement semblables, répandus dans tout l'organisme et connectés entre eux (*cf.* p. 154).

## Système osseux

Le squelette axial (crâne, vertèbres, cage thoracique) et appendiculaire (membres supérieurs et inférieurs) constitue la charpente du corps. Il sert de soutien aux parties molles et de protection pour certains organes. Il est composé de 206 os et accessoirement de pièces cartilagineuses unies entre elles par des articulations. La majorité des articulations sont mobiles, souples et lubrifiées. Dites synoviales (membrane qui tapisse les articulations), elles permettent la mobilité du squelette grâce à l'action des muscles.

Les os diffèrent par la répartition du tissu osseux qui les compose en os compact ou spongieux. Les os plats (crâne, omoplate) sont constitués de deux couches d'os compact (table externe et interne) qui emprisonnent du tissu spongieux. Les os courts (vertèbres) ont un centre spongieux cerclé par une coque périphérique d'os compact. Les os longs (clavicule, fémur, humérus, péroné, tibia), dont toute la périphérie de l'os est compacte, présentent un corps (ou diaphyse) creusé en son centre d'une vaste cavité, dite médullaire, occupée par la moelle osseuse et deux extrémités (ou épiphyses) constituées d'os spongieux. La diaphyse et l'épiphyse sont reliées par la métaphyse. L'ensemble d'une pièce osseuse est entouré de périoste (membrane fibreuse), sauf au niveau des articulations où les os sont recouverts de cartilage. La moelle osseuse est une substance molle et grasseuse constituée de cellules hématopoïétiques situées dans une trame collagène vascularisée, localisée dans le canal des os longs et dans les alvéoles des os plats. Elle joue un rôle capital dans la formation des globules sanguins.

## Système tégumentaire

Il constitue l'enveloppe protectrice du corps. Il est composé par la peau, les cheveux, les ongles et les poils. La peau est le seul épithélium malpighien kératinisé dont sa structure varie selon la localisation. Elle recouvre entièrement le corps et se continue au niveau des orifices naturels (bouche, narines, anus) par les muqueuses. Elle a un rôle sensoriel, d'échanges et de protection. Une

protéine fibreuse et insoluble dans l'eau, la kératine, assure à la peau sa propriété d'imperméabilité. La peau est constituée de trois couches distinctes depuis la surface vers la profondeur :

- l'épiderme produit des organes cornés (ongles et poils) et des organes sécréteurs (glandes);
- le derme contient les annexes cutanées (glandes sudoripares et follicules pilosébacés), des vaisseaux sanguins et des terminaisons nerveuses;
- l'hypoderme est composé de tissu adipeux en quantité variable et contient des vaisseaux sanguins et des nerfs.

Les glandes sébacées sécrètent le sébum qui lubrifie les poils et empêche le dessèchement de la peau, et les glandes sudoripares sécrètent la sueur qui a pour rôle principal de lutter contre l'élévation de température du corps.

## Système nerveux

Le système nerveux est responsable de l'envoi, de la réception et du traitement des influx nerveux. Il comporte le système nerveux central (encéphale et moelle épinière) et le système nerveux périphérique (racines, plexus, nerfs crâniens et rachidiens).

### Système nerveux central (SNC)

Le système nerveux central (ou névraxe) est logé dans la cavité crânienne et dans le canal rachidien qui « abrite » la moelle épinière. Il est protégé et nourri par les méninges et le liquide céphalorachidien. Les méninges sont des membranes qui enveloppent le cerveau et la moelle épinière. Elles sont composées d'une triple enveloppe (dure-mère, pie-mère et arachnoïde). Le liquide céphalorachidien (LCR) baigne le système nerveux central (cerveau et moelle épinière). Il circule dans l'espace sous-arachnoïdien et joue un rôle de protection mécanique.

L'**encéphale** est composé du cerveau, du cervelet et du tronc cérébral. Il est relié à l'extrémité supérieure de la moelle épinière au travers du trou occipital du crâne. C'est le centre de contrôle du corps. Il permet de penser, détermine la personnalité et régule l'ensemble des fonctions vitales.

Le **cerveau** est le siège des facultés intellectuelles. Il comprend le cortex et deux hémisphères cérébraux, le thalamus, l'hypothalamus et le système limbique (ou corps calleux) qui contrôle les réactions émotionnelles. Les hémisphères cérébraux sont le siège de la raison et de la créativité. Chaque hémisphère est divisé en quatre lobes. Le lobe frontal est responsable de la coordination motrice volontaire, il contient également les centres de la pensée, de la mémoire, du raisonnement et des associations. Le lobe occipital contient les centres responsables de la vision. Le lobe pariétal reçoit les informations relatives au toucher et à l'orientation spatiale. Le lobe temporal contient les centres de l'audition, du goût et de la mémoire. L'hypothalamus est responsable de nombreuses fonctions : sommeil, éveil, pulsions sexuelles, soif, faim. Il contrôle également l'activité endocrinienne en assurant la régulation de l'hypophyse et joue un rôle important dans les émotions, la douleur et le plaisir. Le corps calleux est une substance réunissant les hémisphères cérébraux.

Le **tronc cérébral** est la portion du névraxe comprise entre la moelle épinière et le cerveau. Il contrôle les fonctions automatiques (respiration, rythme cardiaque). Le bulbe rachidien sert de connexion entre le cerveau et la moelle épinière. Il contient de nombreux centres nerveux chargés de la régulation des fonctions fondamentales involontaires. La protubérance annulaire est la partie centrale du tronc cérébral. Le mésencéphale est la partie supérieure du tronc cérébral.

Le **cervelet** est chargé de la coordination des mouvements.

La **moelle épinière** est la portion du système nerveux central qui occupe le canal rachidien. C'est un relais entre le cerveau et le reste du corps.

### Système nerveux périphérique (SNP)

Le système nerveux périphérique joue un rôle de coordination et de synthèse très important, contrôlant les activités cérébrale et spinale, réglant le tonus de posture et l'état vigile, recevant et intégrant toutes les sensations qui parviennent à l'encéphale et influant sur les fonctions végétatives. Il est composé de ganglions et de nerfs qui relient le système nerveux central aux organes périphériques sensitifs

ou moteurs. Selon leur origine, les nerfs périphériques se divisent en nerfs crâniens (12 paires) et en nerfs rachidiens ou spinaux (31 paires). À différents niveaux, plusieurs paires s'anastomosent pour former des plexus (brachial, cervical, lombaire, sacré) d'où les principaux nerfs de l'organisme naissent. Les ganglions nerveux sont des relais situés en dehors du système nerveux central, constitués par des petits amas de cellules nerveuses.

### Système nerveux neurovégétatif

Le système nerveux neurovégétatif (ou autonome) est indépendant de la volonté. Il règle et coordonne le fonctionnement des organes. Il est divisé en deux systèmes. Le système orthosympathique a avant tout un rôle de défense. Il est stimulé dans les états d'excitation émotionnelle et d'agitation (stress). Il favorise l'effort bref et intense en stimulant la circulation et la respiration. Le relais s'établit soit dans un ganglion de la chaîne, soit dans un ganglion viscéral. Le système parasympathique concerne la récupération de l'organisme et la vidange des organes creux. Il est stimulé pendant le sommeil. Le ganglion est toujours situé au voisinage de l'organe innervé.

### Système endocrinien

Le système endocrinien est constitué par l'ensemble des glandes endocrines.

L'**hypothalamus** joue un rôle intermédiaire entre le système nerveux et tout le système endocrinien. Il sécrète des substances qui contrôlent la production des hormones sécrétées par l'antéhypophyse (lobe antérieur de l'hypophyse).

L'**hypophyse** (ou glande pituitaire) est sous le contrôle de l'hypothalamus à laquelle elle est attachée. Elle sécrète l'hormone somatotrope (ou hormone de croissance), les hormones métaboliques et les stimulines qui agissent sur le fonctionnement des autres glandes endocrines.

La **thyroïde** est constituée par un ensemble de vésicules groupées en lobules. Elle synthétise la thyroglobuline (régulation du métabolisme énergétique) et la calcitonine (intervenant dans l'homéostasie calcique).

Les **parathyroïdes** sont des petites glandes en rapport étroit avec la thyroïde. Elles synthétisent la parathormone qui intervient dans l'homéostasie calcique.

Le **thymus** est le premier organe lymphoïde à se développer. Il joue un rôle endocrinien et immunitaire. Il est très développé chez l'enfant et involue avec l'âge. Il sécrète la thymosine qui assure la maturation des lymphocytes T.

Le **pancréas** est une glande mixte dont le rôle endocrine principal est la régulation de la glycémie. Il sécrète le glucagon et l'insuline (élaborés par les cellules des îlots de Langerhans).

Les **glandes surrénales** sont constituées de deux parties bien distinctes. La corticosurrénale sécrète des hormones stéroïdes (aldostérone, cortisol, corticostérone) qui jouent un rôle important dans le métabolisme des glucides et des protéides. La médullosurrénale sécrète principalement des hormones présentes lors d'un stress (adrénaline et noradrénaline).

Les **gonades** sécrètent les œstrogènes et la progestérone (ovaire) et élaborent la testostérone (testicule).

## Système neuro-endocrinien diffus

Le système neuro-endocrinien diffus (APUD : *amine precursor uptake and decarboxylation*) est l'ensemble des cellules neuro-endocrines dispersées produisant des hormones et des peptides actifs dont la plupart agissent sur l'environnement local plus qu'à distance. Les plus importantes sont celles associées au tube digestif, les cellules entéro-endocrines (argentaffines ou argyrophiles) et du tractus respiratoire.

## Système circulatoire (ou cardiovasculaire)

Le système circulatoire a pour fonction de transporter vers les cellules l'oxygène et les substances nutritives et d'emmener les déchets de l'activité cellulaire vers les organes de détoxification. La grande circulation irrigue tout l'organisme et la petite circulation est le circuit d'oxygénation

du sang (circulation pulmonaire). Le sang est le liquide nourricier et épurateur de l'organisme. Il contient de nombreuses cellules qui interviennent dans la lutte contre les infections et dans les réactions immunitaires. Il est constitué de quatre éléments principaux (hématies, leucocytes, plaquettes et plasma). Le système cardiovasculaire comprend le cœur et les vaisseaux sanguins.

Le **cœur** est un organe musculaire creux à quatre cavités. C'est le moteur du système cardiovasculaire dont le rôle est de pomper le sang qu'il fait circuler dans tous les tissus de l'organisme. Il existe fonctionnellement et anatomiquement un cœur droit et un cœur gauche que la cloison auriculoventriculaire sépare complètement. Le cœur droit est chargé de renvoyer le sang pauvre en oxygène aux poumons pour éliminer le dioxyde de carbone. Le cœur gauche reçoit le sang fraîchement oxygéné provenant des poumons et le redistribue dans le corps. Chaque partie est divisée en deux cavités comprenant chacune une oreillette et un ventricule muni d'une valve. Les oreillettes reçoivent le sang venant des veines. Les ventricules refoulent le sang dans les artères (l'artère pulmonaire quitte le ventricule droit et l'aorte, le ventricule gauche). Le muscle cardiaque (ou myocarde) est limité à l'extérieur par le péricarde et à l'intérieur par l'endocarde. Le tissu nodal assure le rythme cardiaque. Les vaisseaux coronaires sont les vaisseaux nourriciers du cœur.

Les **vaisseaux sanguins** sont de trois types. Une artère est un vaisseau très large qui transporte le sang oxygéné du cœur vers les organes à l'exception de l'artère pulmonaire qui irrigue les poumons. Une veine est un vaisseau chargé de transporter le sang pauvre en oxygène et les déchets des organes vers le cœur, à l'exception de la veine pulmonaire. Les capillaires représentent un système de canaux très fins et très ramifiés permettant l'échange de divers nutriments et de déchets avec les cellules.

## Système lymphatique

Système de vaisseaux parallèles aux veines responsable du drainage des tissus et du retour de l'exsudat dans le sang. Ces vaisseaux lymphatiques sont répartis dans tout l'organisme, excepté

le cerveau. Leur trajet présente en certaines régions des ganglions lymphatiques qui constituent à la fois des filtres mécaniques et des barrières immunitaires.

## Système immunitaire

Système de défense utilisé par l'organisme au moyen de cellules spécialisées pour lutter contre un grand nombre de micro-organismes vivants et de corps étrangers. Cette protection est assurée par trois mécanismes :

- la protection de surface est garantie par des facteurs non spécifiques physiques ou parfois chimiques ;
- l'inflammation aiguë ou chronique (réaction tissulaire non spécifique) qui apparaît au cours de processus pathologiques très divers ;
- les réponses immunitaires spécifiques sont dirigées contre la plupart des agents étrangers pathogènes (endogènes ou exogènes) qui portent de nombreux antigènes.

### Glossaire

**Anticorps** : protéine fabriquée par les lymphocytes qui deviennent des plasmocytes en stockant les immunoglobulines et dirigée de façon spécifique contre un antigène.

**Antigène** : substance (ou structure cellulaire) qui peut engendrer des anticorps.

**Immunoglobuline** : glycoprotéine essentiellement présente à la surface des lymphocytes B et dans le plasma sanguin :

- les IgA (alpha « $\alpha$ ») sont surtout localisées sur les surfaces muqueuses (bronches et intestin) où elles assurent une protection locale ;
- les IgD (delta « $\delta$ ») existent quasi exclusivement dans une localisation membranaire, co-exprimées avec les Ig M à la surface des lymphocytes B pleinement différenciés ;
- les IgE (epsilon « $\epsilon$ ») sont le support des manifestations d'hypersensibilité immédiate (asthme allergique, rhume des foins) ;
- les IgG (gamma « $\gamma$ ») constituent les Ac « conventionnels » protecteurs ;
- les IgM (mu « $\mu$ ») sont les plus volumineuses. Elles fixent le complément et sont d'excellents Ac agglutinants.

## Réponses immunitaires

Les réponses immunitaires ont lieu quels que soient les tissus de l'organisme mais l'extraction et la différenciation des cellules immunitaires se font surtout dans des organes spécialisés :

- les organes lymphoïdes centraux (ou primaires) qui sont colonisés par des cellules souches lymphoïdes assurent leur différenciation en lymphocytes de phénotype B ou T :
  - le thymus semble être avant tout le lieu de maturation des lymphocytes T. C'est un organe de jeunesse qui régresse après la puberté. Chez l'adulte, le parenchyme est progressivement remplacé par du tissu adipeux,
  - la moelle osseuse est le site de l'hématopoïèse. C'est aussi le lieu de différenciation des lymphocytes B ;
- les organes périphériques (ou secondaires) :
  - les ganglions lymphatiques sont de petits organes qui se disposent aux sites de convergence des vaisseaux lymphatiques drainant une région anatomique. Ils sont entourés d'une capsule et constitués de trois zones principales :
    - la corticale, site principal des lymphocytes B groupés sous forme de follicules,
    - la paracorticale, essentiellement constituée de lymphocytes T et de cellules interdigitées (présentatrices d'antigène),
    - la médullaire, contenant surtout des macrophages et des plasmocytes ;
  - la rate est un organe situé en dérivation de la circulation sanguine. Elle a un rôle dans l'épuration du sang. C'est aussi un organe qui filtre les antigènes circulant dans le sang,
  - les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses MALT mais aussi les appareils lymphatique et sanguin.

## Cellules du système immunitaire

Les cellules du système immunitaire sont caractérisées par leur hétérogénéité au niveau morphologique et au niveau moléculaire.

Les **leucocytes** (ou globules blancs) sont des cellules mobiles du sang possédant des propriétés migratrices remarquables et qui ont pour rôle de

lutter contre les agressions extérieures, surtout microbiennes :

- les mononucléaires (cellules mononuclées avec cytoplasme agranuleux) :
  - les lymphocytes B et T (réactions immunitaires),
  - les monocytes précurseurs des macrophages, histiocytes, cellules dendritiques (fonctions phagocytaires);
- les polynucléaires ou granulocytes (cytoplasme granuleux qui contient des enzymes et un noyau polylobé). Ils ont des propriétés de phagocytoses. On les distingue suivant leurs affinités vis-à-vis des colorants :
  - basophile : actif dans l'inflammation (précurseurs des mastocytes),
  - éosinophile : rôle de phagocytose et actif dans les allergies,
  - neutrophile : rôle dans la défense non spécifique (ingestion et destruction des bactéries).

Les **lymphocytes** sont les cellules les plus importantes de la réponse immunitaire. Ils reconnaissent les éléments étrangers grâce à des molécules de surface spécifiques « récepteurs pour l'antigène » :

- les lymphocytes B sont responsables de l'immunité humorale. Ils se transforment en plasmocytes et sécrètent des anticorps. Certains restent des cellules à mémoire et gardent l'information de l'antigène;
- les lymphocytes T sont responsables de l'immunité cellulaire. Ils reconnaissent un antigène donné et le détruisent. Lorsqu'ils sont stimulés, ils sécrètent des messagers chimiques;
- les lymphocytes T auxiliaires stimulent la production d'anticorps par les lymphocytes B et activent les systèmes de défense macrophagique;
- les lymphocytes T cytotoxiques peuvent détruire des cellules cibles;
- les lymphocytes suppresseurs sont capables d'inhiber la réponse des lymphocytes T auxiliaires et donc de moduler la réponse immunitaire;
- les lymphocytes NK (*natural killer*), ni B ni T, ont une activité cytotoxique spontanée. Leur rôle principal est d'éliminer les cellules infectées par des virus et certaines cellules tumorales;

- les lymphocytes naïfs (ou vierges) sont des cellules n'ayant jamais rencontré l'antigène pour lequel elles sont spécifiques.

Les messagers chimiques sont :

- les cytokines : protéines sécrétées sous l'action d'un signal activateur par de nombreux types cellulaires, principalement les lymphocytes T, les monocytes et les macrophages, et agissant sur des cellules cibles pourvues de récepteurs spécifiques;
- les interleukines (IL) : médiateurs entre les leucocytes;
- les lymphokines : médiateurs produits par les lymphocytes;
- les interférons : molécules qui limitent l'extension des infections virales, inhibent la croissance des cellules tumorales et favorisent l'action des cellules immunitaires cytotoxiques.

## Système respiratoire

Le système respiratoire fournit de l'oxygène au sang et expulse du corps les déchets gazeux comme le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Il comprend les voies aériennes et les poumons.

Les **voies aériennes** sont les fosses nasales (cavités séparées par une cloison médiane) qui s'ouvrent vers l'avant par les narines et vers l'arrière dans le pharynx qui est le carrefour où la voie digestive et la voie respiratoire se croisent. Le larynx forme en avant du cou une saillie (la pomme d'Adam); il est soutenu par quatre cartilages et son orifice (glotte) est limité par deux replis membranaires (cordes vocales). La trachée, formée par la superposition d'anneaux cartilagineux, bifurque à sa base pour donner les deux bronches principales qui pénètrent dans chaque poumon où elles se ramifient en bronches secondaires, puis en bronches tertiaires et bronchioles.

Les **poumons** sont constitués de lobes divisés en segments et également de bronches, bronchioles et alvéoles pulmonaires. Le poumon droit est divisé en trois lobes (supérieur, moyen et inférieur), tandis que le poumon gauche n'en contient que deux (supérieur et inférieur). Ils sont entourés par la plèvre dont l'un des feuillet adhère à la paroi thoracique et l'autre au poumon.

## Système digestif (ou gastro-intestinal)

Le rôle essentiel de l'appareil digestif est d'assimiler les nutriments dans la circulation sanguine et lymphatique et d'éliminer les éléments non assimilables. Il a aussi un rôle de défense de l'organisme et un rôle endocrinien. Il est composé du tube digestif (long conduit qui s'étend de l'orifice buccal à l'anus), d'organes « branchés » sur ce tube et d'une série de formations appelées annexes du tube digestif.

La **cavité buccale** comprend les lèvres, la langue sous laquelle se trouve le plancher buccal, le palais osseux, le voile du palais qui présente un prolongement médian et postérieur dirigé vers le bas (luette) et un orifice (isthme du gosier : fosse amygdalienne), les joues, les dents, les glandes salivaires (glandes annexes), le pharynx et l'œsophage.

Le **tube digestif** est composé par l'œsophage terminé par le cardia. L'estomac se divise en quatre régions : le cardia, le fundus (ou grande tubérosité), le corps et le pylore (antre pylorique). L'intestin grêle (ou petit côlon), composé de quatre tuniques superposées (muqueuse, sous-muqueuse, musculuse et séreuse), comporte le duodénum, le jéjunum et l'iléon. Le côlon (ou gros intestin) débute par le cæcum qui est un cul-de-sac (ou poche profonde) et l'appendice (segment du gros intestin resté à l'état embryonnaire) est implanté sur son bord interne. Le cæcum est suivi du côlon ascendant (ou côlon droit), du côlon transverse et du côlon descendant (ou côlon gauche) qui comprend le côlon lombaire et le côlon pelvien (ou anse sigmoïde) et se termine par le rectum (composé de l'ampoule rectale et du canal anal) qui aboutit à l'anus par lequel les déchets solides sont évacués.

Les **annexes du tube digestif** sont les glandes salivaires (exocrines à sécrétion muqueuse et/ou séreuse) au nombre de trois paires : la parotide, la sous-maxillaire (ou sous-mandibulaire) et la sublinguale. Le foie a pour fonction principale de détoxifier ce que l'appareil digestif a ingéré. C'est une glande exocrine qui synthétise la bile qui est transportée par un système de canaux

(voies biliaires) constitué par le canal hépatique, la vésicule biliaire, le canal cystique et le canal cholédoque. Il a de nombreuses autres fonctions métaboliques, glycogéniques (transformer l'excès du glucose provenant de la digestion intestinale en glycogène), etc. Le pancréas est une glande mixte, il sécrète le suc pancréatique contenant des enzymes digestives qui sont libérées dans le duodénum. Il comporte des canaux excréteurs : le canal de Wirsung et le canal de Santorini.

## Système urinaire

Le système urinaire est chargé de purifier le sang et de maintenir constante sa composition grâce à un mécanisme de filtration, de sécrétion et de réabsorption. Il se compose d'organes qui élaborent l'urine, des voies urinaires et de nombreux vaisseaux sanguins.

Les **reins** filtrent les déchets recueillis par le sang qui se retrouvent dans l'urine, et participent au maintien de l'homéostasie du corps. Le néphron (ou tube urinifère) est l'unité physiologique qui élabore l'urine, il comprend le glomérule et le tubule.

Les **voies urinaires** sont les bassinets (réservoirs qui collectent l'urine et la déverse dans l'uretère), les uretères (canaux qui s'étendent des bassinets à la vessie), la vessie (réservoir principal stockant l'urine jusqu'à son évacuation au moment de la miction) et l'urètre (canal qui permet d'évacuer l'urine hors de l'organisme au niveau du méat urétral).

## Appareil génital féminin

L'appareil génital féminin assure la production des ovules, la nidation de l'œuf fécondé, le développement de l'embryon et du fœtus jusqu'à la naissance. Il prend naissance près des ovaires et s'ouvre à la surface externe au niveau de la vulve.

L'**utérus** (ou matrice) est un organe creux. Il est formé par le myomètre (muscle lisse involontaire) et l'endomètre (muqueuse qui tapisse la cavité interne dont la couche superficielle est renouvelée lors de chaque cycle menstruel). Il est constitué

d'un corps et d'un col séparés par un isthme. Il est relié aux ovaires par les trompes utérines qui s'insèrent à chaque angle supérieur.

Les **ovaires** sont des organes pairs responsables de la maturation et de la production des ovules.

Les **trompes utérines** (ou trompes de Fallope) assurent le transport de l'ovule de la surface des ovaires à la cavité utérine et sont également le lieu de fécondation par des spermatozoïdes.

Le **vagin** est l'organe de la copulation. C'est un tube musculaire expansible adapté au passage du fœtus. Chez la jeune fille vierge, un repli membraneux obstrue partiellement l'orifice vaginal (hymen).

La **vulve** est l'ensemble des organes génitaux externes. Elle comprend les grandes et petites lèvres, le mont de Vénus (pubis), le clitoris, le vestibule et la fente vulvaire.

Les **seins** (ou glandes mammaires) sont les organes de la lactation.

## Appareil génital masculin

L'appareil génital masculin est chargé de générer, stocker et transporter le matériel génétique contenu dans les spermatozoïdes. Il comprend les testicules, une succession de conduits et d'organes annexes qui contribuent à élaborer le liquide séminal et à véhiculer le sperme.

Les **testicules** sont des organes pairs qui assurent la production des spermatozoïdes (sécrétés dans les tubes séminifères).

Les **épididymes** sont le lieu de stockage des spermatozoïdes jusqu'au moment de l'éjaculation.

Le **canal déférent** sert à conduire les spermatozoïdes jusqu'au canal éjaculateur. Il s'abouche dans l'urètre au niveau de la prostate.

Le **canal éjaculateur** assure le transport des spermatozoïdes à travers la prostate vers l'urètre.

L'**urètre** constitue la voie unique à la fois génitale et urinaire qui s'ouvre par le méat urétral à l'extrémité du gland.

Le **pénis** (ou verge) est l'organe de la copulation.

Le **gland** est recouvert par un repli cutané (prépuce).

Les **organes annexes** comportent la prostate (glande qui élabore un milieu fluide nutritif pour les spermatozoïdes) et les vésicules séminales (diverticules sécrétant un liquide contenant les spermatozoïdes qui constituent le sperme).

## Organes des sens

### Oreille et ouïe

La principale fonction de l'oreille est de recueillir, transmettre et transformer les vibrations sonores. Elle participe également à l'équilibration. C'est un organe dont les parties essentielles sont logées dans le rocher (portion inférieure de l'os temporal). L'oreille externe est formée par le pavillon et le conduit auditif externe doté de glandes sébacées qui sécrètent le cérumen, ce dernier est fermé au fond par une membrane (tympan). L'oreille moyenne est une cavité remplie d'air (caisse du tympan) prolongée par la trompe d'Eustache qui maintient une pression égale sur les deux faces du tympan. Elle renferme une chaîne d'osselets qui perçoit et transmet les bruits (marteau, enclume et étrier). L'oreille interne comprend le labyrinthe, formé par le limaçon ou cochlée (canal rempli de liquide), et le vestibule (cavité).

### Œil et vue

La vision est un processus très complexe qui nécessite la participation de nombreux éléments des yeux et du cerveau. L'œil (ou globe oculaire) est l'organe de la vision proprement dit. Il fonctionne à la façon d'un appareil photo. L'iris est son diaphragme, les milieux transparents (enveloppés dans trois membranes) constituent son objectif, la rétine joue le rôle de la plaque (ou de la pellicule sensible). Il est irrégulièrement sphérique et loge dans la cavité osseuse (orbite). Il est relié au cerveau par le nerf optique et est accompagné d'organes annexes.

La paroi du globe oculaire est formée de trois membranes (de l'extérieur vers l'intérieur) :

- la sclérotique est la membrane protectrice qui entoure la quasi-totalité du globe oculaire, elle constitue le « blanc de l'œil », devient transparente à la partie antérieure formant la cornée

qui réfracte une partie de la lumière. Le limbe est la jonction sclérocornéenne ;

- l'uvée est la membrane nourricière, constituée par :
  - la choroïde : membrane vascularisée qui irrigue l'œil,
  - l'iris : partie colorée de l'œil perforée en son centre par un orifice (pupille) et canalisant la lumière,
  - le corps ciliaire : épaissement circonférentiel de l'uvée, il donne attache au cristallin ;
- la rétine est une membrane sensorielle comportant deux points spéciaux, la tache jaune et le point aveugle où s'épanouit le nerf optique qui envoie des signaux de la rétine au cerveau.

À l'intérieur, le globe oculaire renferme trois milieux transparents qui sont :

- le cristallin, lentille biconvexe située en arrière de l'iris qui fait converger les rayons lumineux sur la rétine ;
- l'humeur aqueuse, contenue dans la chambre antérieure de l'œil (entre la cornée et le cristallin) ;
- le corps vitré, contenu dans la chambre postérieure de l'œil (entre le cristallin et la rétine).

L'œil est accompagné d'organes annexes, les uns protecteurs et les autres moteurs. Les paupières garnies de cils et la conjonctive (muqueuse qui recouvre la face postérieure des paupières et la face intérieure du globe oculaire s'arrêtant à la cornée) protègent la surface des yeux. L'appareil lacrymal (constitué de la glande lacrymale et des voies lacrymales) est chargé de l'humidifier et d'entraîner les poussières vers les fosses nasales. Les muscles et les nerfs oculomoteurs permettent la mobilité de

l'œil. Les voies optiques (chiasma) conduisent les sensations visuelles jusqu'au cerveau.

## Goût et odorat

Ces deux sens dépendent de chimiorécepteurs qui réagissent à certaines stimulations chimiques en envoyant des impulsions nerveuses au cerveau.

### Goût

Les récepteurs gustatifs permettent de discerner les quatre saveurs fondamentales (sucré, salé, acide et amer). Ils sont situés à la surface de la langue et dans la muqueuse qui tapisse la cavité buccale maintenue humide par la salive. La langue est constituée de muscles qui assurent sa mobilité dans la mastication, la déglutition et la phonation. Elle est composée de nombreux organes sensoriels (papilles). Les papilles caliciformes sont regroupées à l'arrière de la langue (amer et acide), les papilles foliées sont situées sur les bords de la langue (acide ou aigre) et les papilles fongiformes couvrent les côtés (salé) et la pointe de langue (sucré).

### Odorat

Les récepteurs olfactifs sont sensibles à certaines substances volatiles. Ils sont situés dans la partie supérieure de la cavité nasale.

## Peau et toucher

La peau est l'organe du toucher. Elle est dotée d'une grande sensibilité (tactile, thermique et douloureuse) assurée par des arborisations nerveuses situées dans l'épiderme et des corpuscules sensoriels logés dans le derme (*cf.* système tégumentaire, p. 12).

# Chapitre 2

## Pathologie

### Pathologie générale

#### Inflammation

Le processus inflammatoire est l'ensemble des phénomènes réactionnels (vasculaire, cellulaire et humoral) déclenchés dans un organisme vivant par l'agression d'un agent pathogène exogène (biochimique, chimique, infectieux, physique) ou endogène (dégénératif, immunologique, métabolique, trophique, tumoral). Les cellules de l'inflammation comprennent les lymphocytes, les cellules phagocytaires ou phagocytes (polynucléaires principalement neutrophiles, monocytes, macrophages), les mastocytes et les polynucléaires basophiles, les fibroblastes.

La réaction inflammatoire se déroule dans un tissu vascularisé en deux phases successives étroitement liées :

- vasculosanguine (exsudative) : congestion, œdème, diapédèse (passage du sang des vaisseaux à travers les tissus), phagocytose (microphagocytose par les polynucléaires) ;
- cellulaire (lymphocytes, plasmocytes, macrophages) : différenciation (adaptation des cellules), chimiotactisme (mobilisation), prolifération.

#### Types d'inflammation

- Prédominance de lymphocytes et macrophages (cytokines ++++) → réponse immunitaire de type cellulaire.
- Prédominance de lymphocytes et plasmocytes → réponse immunitaire de type humoral.

#### Généralités sur les tumeurs

Une tumeur (ou néoplasie) est définie comme une prolifération excessive échappant aux mécanismes de régulation normaux (contrôles de l'homéostasie

tissulaire et de différenciation cellulaire), aboutissant à une néoformation tissulaire ressemblant plus ou moins à un tissu normal homologue (adulte ou embryonnaire) aux dépens duquel elle s'est développée, ayant tendance à persister et à s'accroître. Toutes les proliférations cellulaires excessives ne sont cependant pas des tumeurs.

#### Catégories de tumeurs

Les tumeurs bénignes sont des néoformations tissulaires très proches des tissus normaux par leur structure. Elles ont un développement strictement local.

Les tumeurs malignes ou cancers sont des proliférations indéfinies de lignée cellulaire. Il s'agit de tumeurs plus ou moins différenciées par rapport au tissu normal n'en reproduisant que la caricature. Elles donnent dans la plupart des cas des métastases (dissémination à distance). Un cancer peut intéresser n'importe quel organe ou tissu dans l'organisme et dans une même localisation, les tumeurs malignes présentent des aspects variés.

Les lésions pseudo-tumorales correspondent à un remaniement d'un tissu préexistant sans édifier de tissu nouveau. Les lésions inflammatoires sont dues à un dérèglement d'un des stades de l'inflammation. Les lésions dystrophiques sont liées à des désordres endocriniens. Les lésions malformatives sont constituées par un tissu adulte en position anormale.

Si la distinction entre tumeurs bénignes et tumeurs malignes a une certaine réalité, elle doit cependant être nuancée (tableau 2-1). En effet, la plupart de ces caractères distinctifs n'ont pas de valeur formelle :

- des tumeurs bénignes sont mal limitées et des tumeurs malignes bien limitées ;
- une tumeur maligne peut avoir une croissance lente et refouler les tissus comme le fait une tumeur bénigne ;

**Tableau 2-1** Critères de distinction entre tumeurs bénignes et malignes.

	Tumeur bénigne	Tumeur maligne
<b>Macroscopie</b>	Bien limitée	Mal limitée
	Encapsulée	Non encapsulée
<b>Histologie</b>	Semblable au tissu d'origine	Plus ou moins semblable au tissu d'origine (différenciation)
	Cellules régulières (ressemblant à celles du tissu d'origine)	Cellules irrégulières (cellules cancéreuses)
<b>Évolution</b>	Croissance lente	Croissance rapide
	Refoulement sans destruction des tissus voisins	Envahissement des tissus voisins
	Pas de récurrence locale après exérèse complète	Récurrence possible après exérèse supposée totale
	Pas de métastase	Métastase(s)

- une tumeur maligne peut ne présenter que peu de critères de malignité, voire aucun, et à l'inverse certaines tumeurs bénignes ont de très importantes anomalies cellulaires;
- certaines tumeurs bénignes sont localement invasives et récidivent fréquemment après exérèse (fibromatose);
- certaines lésions sont précancéreuses (ou tumeurs à malignité potentielle) et peuvent donner lieu à un cancer (adénome colique qui peut se transformer en adénocarcinome);
- certaines tumeurs sont dites *borderline* car il n'y a pas de critère morphologique pour en fixer le pronostic;
- des tumeurs sont difficilement classables, les critères macroscopiques et microscopiques ne permettent pas d'en affirmer la nature bénigne ou maligne (cas des tumeurs endocrines).

Il faut savoir qu'il existe des cas particuliers de malignité. De rares tumeurs malignes sont très agressives localement mais ne donnent pas de métastases (carcinome basocellulaire, dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand). Des tumeurs à malignité atténuée ont un développement local très lent, et donnent des métastases inconstantes d'expression tardive (carcinoïde bronchique, carcinome adénoïde kystique). Des tumeurs de morphologie bénigne peuvent parfois donner des métastases (adénome pléomorphe).

## Classification et nomenclature

Les tumeurs sont classées selon leur localisation et leur aspect morphologique microscopique. Une classification étiologique n'étant pas envisageable,

la classification nosologique des tumeurs est fondée sur leur caractère bénin ou malin et leur différenciation. Elle s'appuie sur une terminologie précise (*cf.* p. 169). Un nom de tumeur se compose d'un préfixe et d'un suffixe et peut être associé à un adjectif (*cf.* p. 145) :

- le préfixe (racine) correspond à la différenciation tumorale : adéno- (glandulaire), angio- (vasculaire), lipo- (adipocytaire), léiomyo- (musculaire lisse), rhabdomyo- (musculaire striée);
- un suffixe précise sa nature : -blastome pour les tumeurs embryonnaires (néphroblastome, neuroblastome...), -mastose pour la présence de tumeurs multiples ou diffuses (adénomastose, angiomatose...), -ome pour les tumeurs bénignes (adénome, angiome, léiomyome...) et les tumeurs malignes (carcinome, mélanome, lymphome...);
- un terme isolé ou associé à un qualificatif : carcinome pour une tumeur maligne épithéliale (glandulaire [adénocarcinome], malpighien ou épidermoïde, neuro-endocrine), sarcome pour les tumeurs malignes conjonctives.

Il existe des tumeurs complexes associant plusieurs tissus (adénofibrome, angiomyolipome...) et des tumeurs avec des noms éponymes (lymphome de Burkitt, maladie de Hodgkin, sarcome d'Ewing...). Des exceptions importantes : les lymphomes, les mélanomes sont des tumeurs malignes; et les termes de tératome, de dysembryome ne préjugent pas de la bénignité ou de la malignité.

L'Organisation mondiale pour la santé (OMS) a entrepris une classification internationale des tumeurs couvrant tous les types tumoraux ([tableau 2-2](#)). Elle est réactualisée périodiquement car la terminologie évolue et de nouvelles entités apparaissent.

**Tableau 2-2** Classification histologique des tumeurs.

Tissu d'origine		Bénigne	Maligne
<b>Épithélial</b>	Glandulaire	Adénome	Adénocarcinome
	Malpighien	Papillome malpighien/Condylome	Carcinome malpighien ou épidermoïde Carcinome basocellulaire
	Transitionnel (urothélium)	Papillome urothélial	Carcinome transitionnel ou urothélial
<b>Conjonctif commun</b>	Fibrocytaire Histiocytaire	Fibrome Histiocytofibrome	Fibrosarcome Histiocytome fibreux malin
<b>Conjonctif spécialisé</b>	Adipeux Cartilagineux Musculaire lisse Musculaire strié Osseux Tissu synovial Vasculaire	Lipome Chondrome Léiomyome Rhabdomyome Ostéome  Angiome	Liposarcome Chondrosarcome Léiomyosarcome Rhabdomyosarcome Ostéosarcome Synoviosarcome Angiosarcome
<b>Hématopoïétique</b>	Lymphoïde  Myéloïde		Leucémie Lymphome malin Maladie de Hodgkin Syndromes myéloprolifératifs
<b>Nerveux</b>	Méningé Nerfs périphériques  Tissu de soutien du SNC Tissu cérébral	Méningiome Schwannome (neurinome) Neurofibrome Gliome	Méningiome malin Schwannome malin  Glioblastome Médulloblastome
<b>Mésothélial</b>		Mésothéliome bénin	Mésothéliome malin
<b>Mélanique</b>		Nævus nœvocellulaire	Mélanome
<b>Germinal et embryonnaire</b>	Gonies  Annexes embryonnaires : – sac vitellin – placenta Disque embryonnaire Complexe (pluritissulaires)	Môle hydatiforme  Tératome mature ou bénin	Séminome Dysgerminome  Tumeur du sac vitellin Choriocarcinome Carcinome embryonnaire Tératome immature ou malin
<b>À différenciation de type embryonnaire</b>			Tumeurs du « blastème » Hépatoblastome Néphroblastome Neuroblastome Rétinoblastome

## Pathologie tumorale

### Cellule cancéreuse

La cellule cancéreuse possède de nombreux caractères la différenciant d'une cellule normale. À partir de cellules normales, des cellules de morphologie et de comportement généralement anormaux apparaissent. C'est une mutation génétique avec perte de caractères normaux et acquisition de nouveaux caractères qui se transmettent aux cellules filles. Chaque type de

cellule peut donc donner naissance à une tumeur maligne. Les cellules cancéreuses ultérieures dérivent d'un même clone (ensemble de cellules dérivées d'une seule cellule initiale), elles sont monoclonales.

### Principaux critères cytologiques de malignité

L'appréciation des anomalies morphologiques cellulaires constitue un critère essentiel du diagnostic des cancers. Les altérations génétiques et les

troubles de la mitose sont responsables d'anomalies du matériel nucléaire visibles au microscope optique. Elles sont associées à des anomalies cytoplasmiques et sont appelées anomalies cytonucléaires (ou atypies cytonucléaires). Elles peuvent être qualitatives ou quantitatives (hypertrophie, atrophie, hyperplasie, dystrophie, métaplasie, anaplasie, nécrose). Ces anomalies sont soit réversibles (dégénérescences cellulaires liées généralement à des perturbations métaboliques), soit irréversibles (mort cellulaire).

### Anomalie nucléaire

L'aspect du noyau varie d'une cellule à l'autre :

- taille : augmentation, inégalité (anisocaryose) ;
- contenu : chromatine irrégulièrement répartie en mottes (hyperchromatisme nucléaire) ;
- forme : contours irréguliers, incisures ;
- nucléole : augmentation de taille, multiplicité, anomalies de forme ;
- mitoses : augmentation du nombre, anomalies de forme (mitoses tripolaires, asymétries).

### Anomalie cytoplasmique

- Anisocytose avec cytoplasme plus ou moins abondant mais le rapport nucléocytoplasmique est toujours augmenté.
- Basophilie par augmentation du contenu en acides nucléiques et en protéines.
- Peut contenir diverses inclusions et vacuoles de mucine, de glycogène ou de lipide.

### Cas particuliers

Ces caractères ne sont pas spécifiques, il n'existe aucun caractère cytologique constant de malignité. Des cellules non cancéreuses peuvent présenter des anomalies identiques au cours de certains processus (inflammatoire, après irradiation ou chimiothérapie). Une cellule peut être cancéreuse sans avoir d'anomalies significatives en cytologie ou en histologie conventionnelle. Une cellule peut présenter des anomalies impressionnantes sans être cancéreuse. Ce sont les critères histologiques (infiltration, extension à distance) qui permettent de conclure à la malignité.

## Tissu malin

Les tissus cancéreux sont anormaux par leur architecture, leur désorganisation, leur débordement hors de leurs limites habituelles dans les tissus voisins. Dans une première approche, on peut distinguer :

- les tumeurs épithéliales qui sont à l'origine des cancers les plus nombreux (carcinomes) ;
- les tumeurs conjonctives qui sont identifiées par le type de tissu reproduit (sarcomes) ;
- les tumeurs nerveuses (médulloblastome, schwannome malin) ;
- les tumeurs hématopoïétiques : lignée lymphocytaire ou myéloïde (lymphome, myélome) ;
- les autres tumeurs (mélanome, tumeurs germinales et embryonnaires).

## Différenciation tumorale

La différenciation tumorale correspond à la tendance d'une tumeur à reproduire l'aspect d'un tissu normal adulte ou embryonnaire (tableau 2-3) :

- bien différenciée : qui ressemble nettement et de façon homogène au tissu normal d'origine ;
- peu différenciée : la ressemblance est peu marquée ou focale ;
- indifférenciée ou anaplasique : sans caractère morphologique permettant de reconnaître son origine ou son type ;
- métaplasique : qui ressemble à un tissu différent du tissu d'origine.

Lorsque l'identification d'une prolifération tumorale est difficile (cas des cancers indifférenciés), la différenciation peut être objectivée par d'autres méthodes que le simple examen morphologique d'une préparation histologique standard (HES) ou cytologique (MGG et/ou Papanicolaou), tels que les colorations spéciales, l'immunochimie, la génétique et la biologie moléculaire (*cf.* p. 108 à 132).

## Organisation du tissu cancéreux

Le tissu cancéreux est constitué de cellules malignes proprement dites – groupées en formations ressemblant plus ou moins à une structure normale –, et du stroma.

**Tableau 2-3** Critères de différenciation des tumeurs épithéliales.

<b>Épidermoïde</b>	Bien ou moyennement différencié : reconnu par la présence de ponts d'union entre les cellules Différencié mature : comprend une kératinisation Différencié immature : dépourvu de kératine Peu différencié : aspect voisin des cellules basales ou début de différenciation
<b>Glandulaire</b>	Bien différencié : aspects très proches de ceux d'une glande normale, peut se traduire également par une activité sécrétoire (mucus) Moyennement différencié : les cellules sont groupées en lobules creusés de multiples cavités Peu différencié : les cellules sont isolées ou groupées en lobules pleins ou en travées
<b>Neuro-endocrine</b>	Essentiellement lié à la présence de grains mucosécrétoires intracytoplasmiques de nature neuropeptidique et polypeptidique (propriétés argentaffines, argyrophiles)

### Agencement des cellules cancéreuses

Les cellules cancéreuses s'agencent entre elles pour réaliser ou ébaucher des structures architecturales (glandulaire, papillaire, trabéculaire, en faisceaux...) qui permettent, en association avec les données de l'analyse cytologique, de définir le type de la tumeur.

### Stroma

Le stroma est un tissu conjonctif non tumoral en remaniement constant qui s'adapte à la prolifération tumorale et à la destruction du tissu normal. Il est particulièrement bien identifiable dans les carcinomes. Il fait partie intégrante de la tumeur et participe à sa biologie ainsi qu'à son aspect macroscopique et microscopique. Il est constitué de cellules conjonctives (fibroblastes et myofibroblastes), de capillaires néoformés, de fibres extracellulaires (collagènes et élastiques) et de cellules inflammatoires (lymphocytes et macrophages). Le stroma a donc un rôle de soutien (charpente fibreuse) et de nutrition (angiogenèse). Il peut être le siège d'une réaction inflammatoire, de métaplasie (élaboration de cartilage, d'os), de dépôts amyloïdes (carcinome médullaire de la thyroïde), d'imprégnations calcaires (calcosphérites). Si le réseau vasculaire qu'il abrite n'est pas adapté à la croissance de la tumeur, le tissu cancéreux se nécrose. Différentes modifications peuvent être responsables de stroma particulier :

- stroma pauvre : d'où la nécrose des cellules tumorales (consistance molle, encéphaloïde) ;
- stroma adaptatif : proportion adaptée de capillaires juxtaposés aux cellules tumorales ;

- stroma riche en fibres : d'où un aspect de bloc fibreux très dur dans lequel de rares cellules tumorales sont observées (squirrhe mammaire, linite gastrique).

L'angiogenèse est indispensable à la croissance tumorale et nécessite une prolifération de cellules endothéliales. Elle a un rôle nutritionnel et dans l'envahissement et la dissémination à distance des cellules tumorales.

### Stade d'invasion locale

Cette phase correspond au développement du processus cancéreux dans l'organe touché, nodule unique ou parfois foyers multiples. Les cellules cancéreuses qui ont remplacé les cellules normales du tissu se multiplient, s'organisent, envahissent les tissus voisins et entraînent un bouleversement de l'architecture de l'organe avec remaniements de la trame conjonctive et constitution d'une stroma-réaction. La rupture et le franchissement de la membrane basale représentent un critère formel pour différencier les cancers invasifs des cancers *in situ*. La présence d'embolus tumoraux, c'est-à-dire la présence de cellules tumorales dans les vaisseaux, signifie que la tumeur a accès à la circulation.

### Extension locorégionale au-delà de l'organe

Par contiguïté, la tumeur envahit les organes voisins et les structures adjacentes. Elle peut s'étendre jusqu'à la peau pour réaliser un nodule de perméation, franchir la séreuse adjacente à l'organe

(péricarde, plèvre et péritoine) et essaïmer dans la cavité correspondante. Une carcinose péritonéale peut se manifester par de l'ascite et/ou de multiples nodules dans la cavité abdominale.

## Phase systémique du cancer

Cette phase se caractérise par la diffusion du processus cancéreux dans l'organisme avec atteinte à distance d'autre(s) organe(s) (constitution de métastases). Elle est spécifique des tumeurs malignes infiltrantes. La capacité d'une tumeur à métastaser apparaît après une période de développement variable selon son agressivité, son volume et son type. La diffusion métastatique constitue le principal critère de gravité de la maladie.

### Métastase (ou localisation secondaire)

Les métastases peuvent évoluer de façon rapide ou au contraire être longtemps tolérées et apparaissent tardivement (notion de micrométastases, cf. fig. 3-77), ou même exceptionnellement régresser. Le terme de micrométastase correspond à une métastase dont la taille ne dépasse pas 2 mm dans son plus grand axe. Les métastases peuvent être révélatrices d'un cancer dit « sans porte d'entrée ». L'identité de structure microscopique permet parfois d'orienter les investigations vers l'organe d'origine ou même d'affirmer le siège de la tumeur primitive qui est difficile voire impossible de retrouver du fait de sa petite taille. L'aspect macroscopique d'une métastase est une masse généralement arrondie, blanchâtre, homogène si elle est petite, avec des remaniements nécrotiques, hémorragiques ou kystiques lorsqu'elle est volumineuse (cf. fig. 3-6 et 3-13).

### Voies de dissémination métastatique

Pour pouvoir migrer les cellules doivent acquérir la capacité de se détacher de la tumeur primitive. Elles cheminent alors jusqu'à ce qu'elles pénètrent dans un vaisseau sanguin ou lymphatique. Certains cancers disséminent plus fréquemment que d'autres par voie lymphatique (cancers de la langue, du sein, du col utérin, du testicule).

- Dissémination hématogène : après avoir pénétré dans les petits capillaires de la tumeur, la cellule

cancéreuse parvient aux voies sanguines principales. Elle circule alors à travers l'organisme, jusqu'à ce qu'elle s'échappe du vaisseau et envahisse un nouveau site. C'est la diffusion commune aux carcinomes et aux sarcomes.

- Dissémination lymphatique : après avoir migré dans le système lymphatique, la cellule tumorale se retrouve emprisonnée dans le premier ganglion rencontré. Elle va alors s'y multiplier et l'envahir jusqu'à ce que sa paroi cède. Selon l'agressivité de la tumeur, la paroi capsulaire d'un ou plusieurs ganglions peut être rompue (rupture capsulaire : RC), les cellules tumorales colonisent les ganglions voisins, de relais en relais, les cellules cancéreuses peuvent atteindre des groupes ganglionnaires de plus en plus éloignés de la tumeur primitive. C'est l'extension la plus fréquente des carcinomes.
- Dissémination dans le canal lombaire (espaces méningés) et dans les cavités péritonéale (extension la plus fréquente des cancers ovariens et digestifs) et pleurale.

Les cellules tumorales touchent de façon préférentielle des organes filtres situés sur les voies de dissémination :

- circulation porte → foie ;
- circulation générale → poumon, os, rein, cerveau ;
- circulation lymphatique → ganglion(s) lymphatique(s) dans le territoire du drainage lymphatique : ganglion(s) sentinelle(s), adénopathie(s) satellite(s).

### Principaux sièges d'envahissement métastatique

La tumeur d'origine détermine souvent le site de formation des métastases, mais il semble que chaque tumeur possède des affinités électives pour certains organes (cf. encadré ci-dessous).

#### Sièges d'envahissement métastatique

Colorectal → os, poumon, foie.

Digestif → ganglion sus-claviculaire gauche (ganglion de Troisier).

Estomac → foie.

Gastrique → ovaire.

Intestin → foie.

Mélanome → poumon, foie.

Neuroblastome → os, foie (selon l'âge).  
 Ovaire → poumon, cerveau.  
 Pancréas → foie.  
 Poumon → cerveau, foie, os.  
 Prostate → os, poumon.  
 Rein → poumon, os, surrénale, ganglion.  
 Sarcome (d'Ewing) → poumon.  
 Sein → ganglion axillaire, os, cerveau, poumon, foie.  
 Testicule → poumon, cerveau.  
 Tête et cou → os, poumon.  
 Thyroïde → os, poumon.  
 Vessie → os, poumon, foie.

## Critères histologiques de malignité

Les examens initiaux permettent d'établir le type de cancer et son grade tumoral, préciser le pronostic local et général de la maladie et recueillir d'éventuels marqueurs pouvant prédire la réponse à un traitement. L'ensemble de ces informations sert ensuite au clinicien à choisir la meilleure stratégie thérapeutique (*cf.* p. 141).

### Grade

Le grade établit un score en fonction du degré d'anomalies nucléaires et cytoplasmiques, de la différenciation et du nombre de mitoses. Le caractère du stroma, l'existence d'invasions vasculaires et de zones de nécrose ont également leur importance. Ces critères morphologiques sont différents pour chaque type tumoral. Ce grade histopronostique permet pour un type tumoral donné de définir des tumeurs de faible malignité (bas grade) et des tumeurs de haute malignité (haut grade), ce dernier étant souvent corrélé à un mauvais pronostic.

### Différents systèmes de classification histopronostique

- FAB (franco-américano-britannique) pour les leucémies aiguës myéloïdes.
- Grade de Führman pour les tumeurs rénales.
- Grade de Scarff, Bloom et Richardson (SBR), modifié par Elston et Ellis (EE) – grade de Nottingham – pour les adénocarcinomes mammaires, prend en compte trois critères

histologiques cotés de 1 à 3 : la différenciation tubuloglandulaire de la tumeur, le pléomorphisme nucléaire et le compte des mitoses (ou index mitotique). Le score obtenu permet de distinguer des tumeurs :

- grade I ou EE I : bon pronostic ;
- grade II ou EE II : évaluation difficile à prévoir ;
- grade III ou EE III : mauvais pronostic.
- Grade de la plupart des sarcomes (score de 1 à 3) basé sur l'étude de trois paramètres principaux, la différenciation, la présence de nécrose et le nombre de mitoses :
  - grade 1 : risque métastatique faible ;
  - grade 2 : risque d'évolution difficile à prévoir ;
  - grade 3 : tumeur de mauvais pronostic.
- Niveaux de Clark (cinq niveaux d'invasion) et indice de Breslow (en fonction de l'envahissement de l'épiderme et de sa profondeur) pour les mélanomes.
- Score de Gleason pour les tumeurs de la prostate.
- Stade de Dukes pour les carcinomes du côlon basé sur l'extension en profondeur de l'atteinte métastatique :
  - A : atteinte de la sous-muqueuse et/ou de la musculuse ;
  - B : atteinte de la séreuse sans atteinte ganglionnaire ;
  - C : métastase ganglionnaire quelle que soit l'atteinte de la paroi digestive.
- Stade de Marchall pour les tumeurs de la vessie.
- Types de Lukes-Rye et stades d'extension de la classification d'Ann Arbor pour la maladie de Hodgkin.

### Stade

Le stade (ou degré d'extension) établit un score en fonction de l'extension de la tumeur : la classification TNM (*cf.* p. 28).

### Facteurs pronostics et prédictifs

Le rôle des facteurs pronostics en complément des facteurs cliniques est de fournir des indications permettant d'adapter le traitement (*cf.* p. 122). Ils servent à prévoir l'évolution probable de la maladie (rechute locale ou métastatique).

Les facteurs prédictifs apprécient d'une part, la capacité des tumeurs à répondre à un traitement d'induction ou palliatif médical (chimiothérapie, hormonothérapie, immunothérapie) ou radiothérapique et d'autre part, l'influence d'un traitement médical adjuvant (*cf.* p. 122).

## Classification TNM

La classification TNM est basée sur les trois modes d'extension, locale, régionale et générale (tableau 2-4). L'OMS a tenté d'harmoniser ces systèmes en proposant une classification dite TNM (variable selon les organes) qui reconnaît ces trois étapes principales dans la propagation des cancers qui n'ont pas encore été traités. Elle peut être établie d'après des données cliniques ou d'imagerie ou d'après l'examen anatomopathologique ayant fait l'objet d'une exérèse chirurgicale (pTNM; p signifiant pathologie).

Le **T** pour tumeur va de 1 à 4 selon l'extension locale qui dépend de la taille de la tumeur (pour les organes pleins), de la profondeur d'infiltration (pour les organes creux) et de l'extension en surface (peau). Cette cotation dépend du volume tumoral représenté par le diamètre maximum de la lésion et de la fixation aux organes voisins (nerfs, os, peau, tissus mous, vaisseaux).

Le **N** pour ganglion (*node* en anglais) va de N0 à N3 qui dépend du territoire ganglionnaire plus ou moins proche de la tumeur, des dimensions des adénopathies, de leur nombre et de leur éventuelle fixation aux tissus voisins.

Le **M** pour métastase(s) : M0 pas de métastase, M1 (et parfois M2) correspondant à l'existence de

métastase(s) de localisation unique ou multiple à distance quel que soit leur siège.

### Particularités du pTNM (en pathologie mammaire)

- pN0 (1-) : absence de signe histologique d'envahissement ganglionnaire régional (étude négative en immuno-histochimie).
- pN0 (1+) : présence de cellules tumorales isolées ou de micro-amas tumoraux dont la taille est  $\leq 0,2$  mm (visibles en histologie ou détectés en immuno-histochimie).
- pN1 mi : ganglion(s) micrométastatique(s),  $> 0,2$  et  $\leq 2$  mm.

## Variétés de cancers

Il existe diverses tumeurs malignes qui diffèrent selon leur localisation. Ces tumeurs peuvent être spécifiques d'un organe ou être plus communes, c'est-à-dire retrouvé au niveau de différents sites de l'organisme.

## Carcinome

Les carcinomes sont des tumeurs malignes développées à partir des épithéliums de revêtement (épiderme et muqueuse) ou des organes creux et des parenchymes glandulaires endocrines et exocrines.

### Carcinome des revêtements épithéliaux

On distingue :

- les carcinomes cutanés : épiderme ;
- les carcinomes des muqueuses malpighiennes : sphère ORL (amygdale, cavité buccale, cordes

Tableau 2-4 Classification TNM.

<b>Dimension de la tumeur</b>	Tx : détermination de la tumeur primaire impossible T0 : tumeur primitive indétectable Tis : tumeur <i>in situ</i> T1-T2-T3-T4 : selon la taille ou l'extension aux structures adjacentes
<b>Atteinte ganglionnaire</b>	Nx : appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire N0 : absence d'atteinte ganglionnaire régionale N1-N2-N3-N4 : selon le nombre de siège, l'extension locale, la taille ou la fixation
<b>Métastase</b>	Mx : détermination impossible de l'extension métastatique M0 : absence de métastase M1 et M2 : présence de métastases

- vocales, langue, larynx, sinus piriforme), pharynx, œsophage, exocol utérin, vagin, marge anale ;
- les carcinomes des muqueuses glandulaires : tube digestif ou voies biliaires, endomètre, endocol utérin, revêtement bronchique ;
  - le carcinome urothélial (ou transitionnel) développé à partir des épithéliums urothéliums revêtant les voies excréto-urinaires (bassinets, uretères et vessie) et dont la plupart sont des carcinomes papillaires.

Généralement, les aspects macroscopiques de ces différents carcinomes se présentent sous la forme de tumeur végétante ou bourgeonnante, ulcérée, infiltrante (mal limitée).

**À noter : des tumeurs malpighiennes peuvent également se développer sur des épithéliums glandulaires et constituent alors des carcinomes métaplasiques. Par exemple, le carcinome bronchique est habituellement épidermoïde alors que la muqueuse bronchique est glandulaire.**

### Carcinome des organes creux et des parenchymes

Les tumeurs malignes sont des adénocarcinomes (ou carcinomes glandulaires). Leur aspect macroscopique et microscopique varie selon le type d'organes qu'elles touchent. Il peut s'agir d'une tumeur infiltrante (mal limitée, étoilée, dure), nodulaire (unique ou multiple), nécrosée au centre, kystique. Quand la prolifération tumorale forme des cavités plus ou moins dilatées à type de kyste, ces tumeurs sont appelées cystadénocarcinomes.

Les **tumeurs des organes creux** sont des tumeurs développées à partir des muqueuses digestives (entre l'œsophage et l'anus) et utérines (endomètre, plus rarement endocol), des voies biliaires et

pancréatiques, des bronches (qui sont par ailleurs le siège de carcinomes épidermoïdes métaplasiques), des sinus de la face.

Les **tumeurs des parenchymes exocrines** sont développées dans les organes pleins : glandes annexes du tube digestif (foie, pancréas exocrine, glandes salivaires), glandes dérivées de l'épiderme (sein, glandes sudorales), reins, ovaires (épithélium ovarien), prostate.

Les **tumeurs des parenchymes endocrines** sont développées à partir des glandes endocrines individualisées (foie, gonades [ovaire et testicule], hypophyse, pancréas endocrine, parathyroïde, surrénale, thyroïde) et du système endocrinien diffus où les cellules endocrines (présentes dans de multiples localisations) sont soit groupées en amas (cellules de la granulosa et de Leydig, îlots de Langherans), soit dispersées (bronche, cellules C de la thyroïde, col utérin, foie, peau, prostate, thymus, tube digestif).

**À noter : le foie, les ovaires, le pancréas sont également le siège de tumeurs de leur contingent endocrine.**

### Classification des tumeurs épithéliales

La classification des tumeurs épithéliales est basée sur le caractère bénin ou malin de la tumeur et sur la différenciation ou le grade pour les tumeurs malignes (tableau 2-5).

**À noter : le carcinome indifférencié (ou anaplasique) est un carcinome ni malpighien, ni glandulaire.**

### Sarcome

Les sarcomes sont des proliférations malignes issues des structures mésenchymateuses. Ils représentent un groupe hétérogène de tumeurs développées à

**Tableau 2-5** Classification des tumeurs épithéliales.

Tumeur	Glandulaire	Malpighienne	Urothéliale (à cellules transitionnelles)
<b>Bénigne</b>	Adénome	Papillome	Papillome urothélial
<b>Maligne</b>	Adénocarcinome : – bien différencié – moyennement différencié – peu différencié	Carcinome épidermoïde : – différencié : mature immature – peu différencié	Carcinome transitionnel : – grade I – grade II – grade III

partir des tissus de soutien et ils se différencient par les tissus qu'elles reproduisent. Certains sarcomes sont inclassables, les termes de sarcomes « à cellules rondes », « à petites cellules », « à cellules fusiformes » sont alors employés. Les tumeurs malignes intéressent essentiellement les parties molles (ou tissus mous) et doivent être distinguées des sarcomes osseux et des sarcomes des viscères. Il convient également de séparer ceux survenant chez l'adulte (angiosarcome, liposarcome, synoviosarcome, schwannome malin) de ceux survenant chez l'enfant (rhabdomyosarcome).

Les tissus mous relient et soutiennent les organes. Ils peuvent être définis comme les tissus non épithéliaux extrasquelettiques de l'organisme, à l'exclusion des viscères, du tissu lymphoïde, du système nerveux central. Ils sont représentés par les muscles striés, les tissus adipeux et fibreux, les vaisseaux et le système nerveux périphérique.

### Classification morphologique des tissus mous

La classification morphologique des tissus mous distingue des tumeurs : à cellules fusiformes, à

cellules pléomorphes, à cellules rondes, d'aspect épithélial, d'aspect vasculaire, avec cartilage, os ou calcifications, avec composante adipeuse prédominante, myxoïdes.

### Architecture de type particulier

Certaines tumeurs des tissus mous peuvent présenter une architecture de type particulier : alvéolaire (sarcome des parties molles, rhabdomyosarcome), biphasique (carcinosarcome, synoviosarcome), cordonale (chondrosarcome myxoïde, schwannome malin épithélioïde), endocrinoïde (sarcome alvéolaire), palissadique (léiomyosarcome, schwannome malin), hémangiopéricytaire (chondrosarcome mésenchymateux, schwannome malin, synoviosarcome), rosettes (neuroblastome, tumeur primitive neuro-ectodermique : PNET).

### Tumeur des tissus mous

La classification de l'OMS des tissus mous est basée sur le type de tissu formé et non sur la cellule à partir de laquelle la tumeur est supposée naître (tableau 2-6). Il existe plus de 150 types et sous-types répertoriés.

**Tableau 2-6** Classification des tumeurs des tissus mous.

Tissu	Tumeur bénigne	Tumeur récidivante ou multifocale	Tumeur maligne
<b>Fibreux</b>	Fasciite nodulaire Fibrome	Fibromatose Tumeur desmoïde Angiofibrome nasopharyngien	Fibrosarcome
<b>Fibrohistiocytaire</b>	Histiocytome fibreux Xanthogranulome juvénile	Histiocytome fibreux angiomaïoïde	Histiocytome fibreux malin
<b>Adipeux</b>	Lipome	Lipomatose	Liposarcome
<b>Muscle lisse</b>	Léiomyome Myofibroblastome	Léiomyomatose invasive	Léiomyosarcome
<b>Muscle strié</b>	Rhabdomyome		Rhabdomyosarcome
<b>Vaisseaux</b>	Hémangiome Lymphangiome Tumeur glomique	Angiomatose Lymphangiomatose	Angiosarcome Lymphangiosarcome
<b>Tissu synovial</b>	Ténosynovite à cellules géantes		Synoviosarcome
<b>Mésothélium</b>	Mésothéliome fibreux		Mésothéliome malin
<b>Nerfs périphériques</b>	Schwannome (neurinome) Neurofibrome Tumeur à cellules granuleuses	Neurofibromatose	Schwannome malin  Tumeur maligne des gaines nerveuses
<b>Neuroectodermique</b>	Ganglioneurome Paragangliome Pheochromocytome		Neuroblastome  Pheochromocytome malin

## Tumeur osseuse

Les tumeurs osseuses primitives malignes ont pour la plupart des sièges d'élection préférentielle et finissent souvent par donner une tuméfaction par envahissement des tissus mous. On distingue principalement l'ostéosarcome, le chondrosarcome, le sarcome d'Ewing et le myélome. Les tumeurs secondaires (métastases) sont fréquentes et atteignent surtout le squelette axial (rachis surtout lombaire, crâne, sternum, pelvis) et la partie proximale des os longs.

## Affection des tissus hématopoïétiques

Les affections des tissus hématopoïétiques sont développées à partir de cellules dérivées d'une même cellule souche de la moelle osseuse à l'origine des lignées myéloïdes (granuleuse, histiomonocytaire, érythroblastique, mégacaryocytaire) et lymphoïdes (B et T). Certains types cellulaires peuvent donner soit une leucémie, soit un lymphome.

### Principales hémopathies

Les **leucémies** sont définies comme des proliférations malignes d'éléments myéloïdes ou de la lignée lymphoïde dans la moelle osseuse avec passage d'éléments anormaux dans le sang. On distingue les leucémies aiguës et chroniques, et les leucémies d'origine lymphoïde ou myéloïde.

Le **myélome** est une tumeur plasmocytaire, de localisation osseuse.

Les **lymphomes** sont des tumeurs malignes qui se développent dans les organes lymphoïdes, principalement dans les ganglions lymphatiques, mais ayant la particularité de pouvoir également apparaître dans d'autres sites comme la peau, le poumon, la thyroïde, le tube digestif. On distingue les lymphomes non hodgkiniens et la maladie de Hodgkin.

Les **lymphomes malins non hodgkiniens (LNH)** regroupent l'ensemble des proliférations tumorales malignes dérivées des lymphocytes B, T et NK à leurs différents stades de différenciation

et d'activation. Il en résulte une grande diversité avec de nombreuses entités. On distingue les lymphomes malins ganglionnaires – adénopathie(s) superficielle(s) ou profonde(s) – et extraganglionnaires (estomac, parotide, thyroïde).

La **maladie de Hodgkin (lymphome hodgkinien)** est une affection tumorale maligne du tissu lymphoïde où la prolifération cellulaire très polymorphe est caractérisée par la présence de cellules de Reed-Sternberg associées à des cellules de Hodgkin qui présentent des anomalies plus ou moins accentuées et des cellules réactionnelles abondantes (lymphocytes, plasmocytes, polynucléaires éosinophiles, macrophages). La classification de l'OMS sépare la maladie de Hodgkin en deux entités distinctes par leurs aspects cliniques et évolutifs, et par leur morphologie et leur immunophénotype :

- lymphome de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire ;
- lymphome de Hodgkin classique qui peut être scléronodulaire, à cellularité mixte, riche en lymphocytes ou avec déplétion lymphocytaire.

### Classification histologique des lymphomes malins non hodgkiniens

La classification des lymphomes malins non hodgkiniens repose sur des critères microscopiques cytologiques, architecturaux et sur le phénotype B ou T ([tableau 2-7](#)). Elle permet de distinguer des formes de faible ou de haut degré histologique de malignité. Leur classification est souvent remaniée, car leur étude scientifique est en constante évolution. Chez l'adulte, ils sont nodulaires ou diffus, tous les types y sont représentés. Chez l'enfant, ils sont diffus et de haut grade de malignité (agressif). Ils correspondent le plus souvent à des lymphomes de type Burkitt ou Burkitt-like, des lymphomes lymphoblastiques de type T (le plus souvent) ou de type pré-B. Il s'y associe quelques lymphomes B à grandes cellules et quelques lymphomes anaplasiques à grandes cellules.

La forme architecturale des LNH est soit diffuse (destruction de l'architecture normale avec plus ou moins effraction), soit nodulaire ou folliculaire (organisation conservée comme dans le ganglion normal). La prolifération tumorale peut être

**Tableau 2-7** Classification simplifiée des LNH.

Groupe de LNH	Cellule impliquée	Présentation clinique
<b>Lymphome de Burkitt</b>	B matures issues d'une seule cellule	Abdominal
<b>Lymphome lymphoblastique</b>	Précurseur T	Médiastinal
	Précurseur B	Sous-cutané, osseux
<b>Lymphome diffus à grandes cellules B</b>	B matures	Abdominal, médiastinal, osseux
<b>Lymphome anaplasique à grandes cellules</b>	T ou « nulles » (pas de marqueurs T ou B retrouvés)	Ganglionnaire, cutané

constituée pour les tumeurs de bas grade, de lymphocytes et plasmocytes ou de petites cellules lymphoïdes clivées (centrocytes) et pour les tumeurs de haut grade, de petites et grandes cellules lymphoïdes non clivées (centroblastes), d'immunoblastes ou de lymphoblastes, ce qui individualise autant de types de lymphomes dont le pronostic s'aggrave du type lymphocytaire au type lymphoblastique. Le phénotypage peut être réalisé par des méthodes immunochimiques qui permettent de mettre en évidence des molécules de différenciation (essentiellement membranaire) grâce à des clusters de différenciation (CD) (*cf.* p. 119), ou des études phénotypique et génotypique pour déterminer l'entité concernée (*cf.* tableau 3-35).

## Tumeur neuro-ectoblastique

Les tumeurs neuro-ectoblastiques dérivent du neuro-ectoderme, partie de l'ectoderme donnant naissance au système nerveux central et à la peau.

### Mélanome

Les mélanomes sont des tumeurs malignes du système mélanocytaire, c'est-à-dire développées à partir des cellules élaborant le pigment mélanique. Ils sont essentiellement localisés sur les téguments, rarement sur les muqueuses (conjonctivales, respiratoires, digestives), dans le globe oculaire ou les structures cérébroméningées.

### Tumeur des méninges et des tissus nerveux

Ces tumeurs sont nombreuses et correspondent souvent à un domaine d'hyperspécialisation. Les tumeurs du système nerveux central sont développées à partir des cellules de la glie (gliome,

épendymome), et les tumeurs du système nerveux périphérique développées sur le trajet des nerfs périphériques (intracrânienne ou intrarachidienne) [méningiome, schwannome].

## Tumeur des séreuses

Les tumeurs des séreuses sont des tumeurs développées à partir du revêtement mésothélial des séreuses. Le site le plus fréquemment atteint est la plèvre (mésothéliome); le péritoine et le péricarde sont plus rarement concernés.

## Tumeur embryonnaire

Les tumeurs embryonnaires se développent sur les dysgénèses ou à partir d'une cellule germinale séquestrée et ayant gardé un potentiel évolutif. Ces tumeurs siègent préférentiellement dans les gonades, mais peuvent aussi être localisées sur le trajet de migration des cellules germinales lors de l'embryogenèse (base du crâne, médiastin antérieur, rétropéritoine et région sacrococcygienne). Selon la différenciation, on observe des tumeurs indifférenciées (carcinome embryonnaire et séminome), à différenciation annexielle (choriocarcinome et tumeur du sac vitellin), à différenciation embryonnaire plus ou moins mature (tératome).

Les dysgénèses sont des malformations liées à un trouble de l'organogenèse, de formes simples (reliquat d'une structure embryonnaire ou fœtale qui aurait dû disparaître avant la naissance), de formes complexes ou hamartomes (constituées par les différents tissus de l'organe où ils se développent mais en proportions anormales et sans aucune harmonie).

## Cancer de l'enfant

Les tumeurs malignes observées chez l'enfant (de la naissance à 16 ans) n'ont rien de commun avec celles que l'on peut rencontrer chez l'adulte, les carcinomes y sont pratiquement absents. Elles sont d'évolution rapide, cela s'explique très largement par la forte proportion de cellules engagées dans un cycle de division. Ces tumeurs régressent aussi très vite sous l'effet des chimiothérapies et de la radiothérapie auxquelles elles sont particulièrement sensibles. Elles touchent principalement le système hématopoïétique (leucémies, lymphomes), les os et les tissus mous (sarcomes), les reins (néphroblastomes ou tumeur de Wilms) et les tissus nerveux (tumeurs cérébrales et médulloblastomes, neuroblastomes, rétinoblastomes). Leur fréquence varie avec l'âge, chaque tumeur ayant un âge d'apparition préférentiel; par exemple, la première enfance pour les néphroblastomes, neuroblastomes (*cf.* p. 127) et rhabdomyosarcomes, la deuxième enfance pour les lymphomes et les tumeurs osseuses. Il est souvent question en pathologie pédiatrique de tumeurs à cellules rondes ou de tumeurs dites «embryonnaires». L'étude immunochimique revêt ici une importance capitale, bien qu'il n'y a pas d'anticorps véritablement spécifiques de telle ou telle tumeur.

### Glossaire

**Tumeurs à cellules rondes (tumeurs à cellules basophiles)** : chondrosarcome myxoïde, neuroblastome, rétinoblastome, rhabdomyosarcome alvéolaire, sarcome à cellules claires, tumeur desmoplastique à petites cellules rondes, tumeur du groupe sarcome d'Ewing/PNET.

**Tumeurs à cellules fusiformes** : fibrosarcome infantile, rhabdomyosarcome dense, synoviosarcome, tumeur desmoïde, tumeur maligne des gaines nerveuses périphériques (PNET).

**Tumeurs à cellules épithélioïdes** : sarcome alvéolaire, sarcome épithélioïde, synoviosarcome biphasique.

**Tumeurs myxoïdes** : chondrosarcome myxoïde, liposarcome myxoïde, rhabdomyosarcome botryoïde.

(mammographie, échographie; *cf.* p. 140) permettent de dépister des tumeurs de plus en plus petites (de quelques millimètres) n'entraînant encore aucun symptôme. Grâce à divers procédés de prélèvements percutanés (cytoponction et/ou microbiopsie; *cf.* p. 134 et 137) et des techniques de plus en plus performantes réalisées au laboratoire (immunochimiques), des traitements ajustés à chaque cas peuvent être proposés.

## Cancer du sein

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, il est extrêmement rare chez l'homme. Cette pathologie peut survenir à tout âge, tout en restant exceptionnelle avant 25 ans. Des femmes atteintes de cancer seraient porteuses d'une prédisposition génétique (altération du gène BRCA) (*cf.* p. 131). Après un traitement pour cancer du sein, la surveillance périodique doit être poursuivie à vie afin de déceler le plus rapidement possible une éventuelle rechute.

## Anatomie et physiologie du sein

Le sein (ou glande mammaire) est une glande sudoripare modifiée, d'origine ectodermique, constituée de lobules et de canaux séparés par du tissu conjonctif lâche (tissu palléal). Le corps glandulaire se compose de 12 à 20 lobes coniques qui possèdent chacun un canal excréteur (canal galactophorique). Chacun de ces canaux se dilate en un sinus galactophore qui se continue par un canal excréteur au niveau de la base du mamelon. La région mamelonnaire se divise en deux zones, le mamelon et l'aréole. La fonction mammaire est sous l'influence d'hormones qui sont produites par les ovaires et sous la dépendance de sécrétions hormonales cérébrales depuis la période de la puberté jusqu'à celle de la ménopause.

Les hormones (fabriquées par les ovaires) ont une influence sur les seins tout au long de la vie. Elles sont de deux types. Les œstrogènes activent le développement des seins au moment de la puberté, elles sont fabriquées au cours de la première partie du cycle menstruel (après les règles). La progestérone a une action complémentaire à celle des œstrogènes, elle est principalement sécrétée en deuxième partie du cycle (avant les règles).

## Pathologie mammaire

Le sein peut être le siège de lésions bénignes ou malignes très variées. Des examens radiologiques

### Lésion bénigne

Il existe de nombreuses lésions bénignes (adénofibrome ou fibroadénome, ectasie canalaire, gynécomastie chez l'homme, hyperplasie, kyste, etc.), mais la majorité des lésions est classée sous le terme générique de mastose sclérokystique ou mastopathie fibrokystique.

### Lésion maligne

Les lésions malignes sont représentées dans la grande majorité des cas par les carcinomes. Les tumeurs malignes naissent à partir du revêtement épithélial des canaux ou des lobules et sont séparées en deux grandes catégories.

Les tumeurs épithéliales non infiltrantes sont localisées à l'intérieur des canaux ou des lobules

sans invasion du stroma : carcinome canalaire *in situ* (intra-canalaire), carcinome lobulaire *in situ* (intra-lobulaire).

Les tumeurs épithéliales infiltrantes franchissent la paroi des canaux ou des lobules pour envahir le tissu conjonctif sous-jacent et sont susceptibles de se disséminer dans les ganglions axillaires. Il existe une grande variété de carcinome infiltrant présentant des formes différentes : carcinome canalaire infiltrant (CCI), canalaire lobulaire infiltrant (CLI); carcinome de forme apocrine, médullaire, métaplasique, mucineux, neuro-endocrine, tubuleux, etc.; maladie de Paget du mamelon.

Rarement, le sein est le siège de lymphome, mélanome, sarcome ou de localisation secondaire (métastase).

# Chapitre 3

## Anatomie et cytologie pathologiques

### Anatomo-cytopathologie

#### Définition

L'*anatomie et cytologie pathologiques* (ACP) est le terme officiel en France, où elle est familièrement appelée « anapath », pathologie étant la dénomination internationale. C'est une spécialité médicale qui étudie les modifications morphologiques des organes au cours de processus pathologiques et a ainsi une place éminente dans le diagnostic des cancers. L'anatomo-cytopathologie humaine se sert des connaissances fondamentales d'anatomie, d'histologie et de cytologie normales pour reconnaître des anomalies morphologiques liées à la maladie. Elle s'appuie sur des techniques de macroscopie, de microscopie, de chimie, d'immunochimie, de cytogénétique et de biologie moléculaire.

Cette spécialité médicale a pour mission d'établir un diagnostic. L'obtention d'un diagnostic histologique avant le traitement d'un cancer est indispensable. Les examens initiaux doivent conduire à préciser le pronostic local et à distance de la maladie (stade d'extension d'une tumeur maligne, grade histologique), et à recueillir d'éventuels marqueurs permettant de prédire la réponse thérapeutique. Elle est aussi importante dans le dépistage et indispensable dans le cadre du suivi des patients, car elle permet d'apprécier l'effet d'un traitement en cours ou de surveiller l'évolution de la maladie, de diagnostiquer une éventuelle récurrence, voire l'apparition d'un nouveau cancer. Elle joue un rôle important d'interface dans les protocoles de recherche/développement entre clinique et biologie. L'anatomo-cytopathologie est une

spécialité en évolution constante et occupe une place essentielle dans la lutte contre le cancer.

#### Glossaire

**Cytopathologie** : étude des modifications des cellules.

**Histopathologie** : étude des modifications des tissus.

#### Déontologie

Les médecins spécialistes, anatomo-cytopathologistes ou pathologistes (appellation anglo-saxonne), ainsi que l'ensemble du personnel sont soumis aux règles du secret professionnel (article 72 du Code de déontologie, articles L. 226-13 et 14 du Code pénal, article L. 1110-4 du Code de santé publique).

#### Bioéthique

Pour des raisons d'éthique, l'utilisation de prélèvements d'origine humaine est strictement réglementée (loi Huriet-Sérusclat du 20 décembre 1988). Dans le cadre d'une participation à un essai thérapeutique, un formulaire propre à l'étude (consentement « éclairé »), écrit et signé par le patient et le médecin, doit être recueilli. Les examens effectués à titre de recherche biomédicale ne peuvent être réalisés que dans le cadre des dispositions réglementaires.

#### Activités diverses

Un service de pathologie peut pratiquer des autopsies (ou nécropsies) médicales. Les autopsies médicales (dites scientifiques) sont pratiquées dans les hôpitaux dans le but d'établir le bilan des lésions et un diagnostic définitif sur la cause du décès. Les autopsies médico-légales sont pratiquées sur

ordre de la justice par des médecins légistes pour rechercher les lésions en rapport avec un accident ou un crime. Les dissections anatomiques sont pratiquées dans les laboratoires d'anatomie pour l'enseignement et la recherche.

Dans certaines structures, un service de pathologie peut également participer à l'enseignement de la spécialité en donnant des cours (pratiques et théoriques) dans le cadre d'études postuniversitaires (EPU), des congrès, des séminaires, des réunions cliniques pluridisciplinaires (RCP, consultations qui ont lieu périodiquement regroupant des médecins spécialistes : chirurgiens, oncologues, pathologistes, pédiatres, radiologues) afin de discuter des cas difficiles, discordants, inhabituels ou de diagnostic incertain. Il peut aussi être sollicité par un autre pathologiste ou par un praticien extérieur à la structure soit pour un second avis diagnostique (ou expertale) d'un cas difficile ou exceptionnel, soit pour une relecture de lames.

Un laboratoire de pathologie peut en outre participer à des programmes nationaux ou internationaux de contrôle qualité organisés par la profession, mettre au point de nouvelles techniques, réaliser des études prospectives et rétrospectives (articles et livres), analyser des résultats (confrontation des examens cytologiques par l'histologie correspondante et corrélation anatomoclinique) pour des études statistiques, encadrer et former des stagiaires (filères médicales et médico-techniques).

## Le technicien de laboratoire

Le (la) technicien(ne) de laboratoire ou laborantin(e) assure, sous la responsabilité du médecin chef du laboratoire (secteur hospitalier ou privé), la technique des prélèvements confiés au laboratoire dans un but diagnostique dans le respect des normes de qualité en vigueur. Un(e) technicien(ne) n'est pas habilité(e) à lire les préparations mais doit vérifier la qualité des colorations usuelles, spéciales, immunochimiques. Il (elle) peut réceptionner et enregistrer les prélèvements, assurer la gestion des stocks et surveiller la date de péremption des réactifs, archiver les lames et les blocs d'inclusion, participer à l'écriture des protocoles et des procédures, réaliser des techniques de contrôle qualité

et des études de recherche appliquée. Dans certaines structures de pathologie, le (la) technicien(ne) de laboratoire peut être sollicité(e) pour assister le médecin au moment des prélèvements (cytoponctions et/ou biopsies) pour réaliser des étalements et des colorations, préparer des tubes pour congélation et des milieux destinés à des études complémentaires. À l'antenne du bloc opératoire, il (elle) assure au pathologiste un support technique optimal pour son travail macroscopique : note les commentaires et remarques donnés par le pathologiste (dimensions de la pièce opératoire et de la tumeur, prélèvements effectués pour des études complémentaires...), réalise des coupes au cryostat et des colorations pour un examen extemporané. Certaines activités peuvent lui être déléguées comme la macroscopie des pièces fixées, la prélecture (*screening*) de préparations cytologiques. Le (la) technicien(ne) de laboratoire a donc le devoir d'apporter une qualité et une reproductibilité dans ses travaux en gardant à l'esprit que derrière chaque prélèvement se trouve un patient.

C'est un métier médico-technique riche par sa diversité technique complexe (peu automatisable) qui demande de la polyvalence et nécessite certaines qualités essentielles pour l'accomplir (posséder les sens de l'observation et de la précision, être méticuleux et rigoureux, savoir s'adapter aux nouvelles situations et trouver des solutions aux problèmes qui se posent, être patient, avoir un esprit d'équipe).

## Assurance qualité en ACP

Le mode de fonctionnement d'une structure d'anatomie pathologique est soumis à beaucoup de contraintes et est très réglementé. L'assurance qualité (AQ) est une notion très présente. Elle implique que tous les acteurs aient le même souci permanent de la meilleure exécution des actes à chaque étape de leur déroulement afin d'aboutir à la meilleure sécurité, à la meilleure pertinence et à la meilleure rapidité des résultats. Il est donc important en ACP de toujours penser aux conséquences pour les patients de la qualité des résultats fournis.

Les différentes mesures visent essentiellement l'hygiène et la sécurité, ainsi que la qualité de la

réalisation des différents actes. Cette discipline doit également répondre à des normes européennes, françaises et normes ISO (Organisation internationale de normalisation). Les normes européennes ont le statut de norme française, elles sont éditées et diffusées par l'Association française de normalisation (AFNOR). Un organisme a une place importante dans la démarche d'assurance qualité, l'HAS (Haute Autorité de santé).

Chaque technicien(ne) qui manipule doit être sensibilisé(e) à la réalité du contrôle qualité et en tenir compte dans la pratique quotidienne. Il (elle) doit connaître son travail, les sources d'erreurs possibles ainsi que leurs impacts sur le résultat final, mais aussi appréhender ses propres limites de même que celles de ses responsabilités. L'objet du contrôle qualité n'est pas de faire la chasse aux technicien(ne)s «incompétent(e)s» mais bien de détecter les erreurs humaines ou autres dans le but d'assurer la qualité du résultat pendant et après sa production. L'application rigoureuse et systématique des recommandations permet de réduire sensiblement le nombre des erreurs susceptibles de s'être produites, de les déceler et les situer rapidement et éventuellement de les corriger ou d'en tenir compte.

L'évaluation de la compétence des exécutants, de la qualité des procédés, de la pertinence des indications, des résultats et de leurs interprétations peuvent conduire à l'attribution d'accréditation (audit externe de la capacité d'une structure à fournir un service de qualité conforme aux exigences spécifiées).

## Recommandations de bonnes pratiques en ACP

Pour une qualité de travail reproductible et effectuée dans les bonnes conditions, des protocoles (ou modes opératoires) correspondant à chaque poste doivent être consignés dans un recueil de procédures facilement accessible par les utilisateurs concernés. Ces instructions écrites, propres à chaque structure, décrivent les opérations à effectuer, les précautions à prendre et les mesures à appliquer. Ces documents sont évolutifs, adaptés en fonctions des progrès techniques, des connaissances médicales et législatives. L'Association française d'assurance

qualité en anatomie pathologique (AFAQAP) a élaboré des «recommandations de bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologiques» (RBPACP) pour permettre une meilleure qualité de la prise en charge des actes en ACP<sup>1</sup>.

## Hygiène et sécurité

Le personnel effectuant des analyses en anatomie et cytologie est exposé à des risques biologiques potentiels (bactérien, infectieux et viral), mais également toxiques et chimiques importants (formaldéhyde, méthanol, toluène, xylène), ainsi que physiques (essentiellement le feu) surtout autour de la paraffine et des alcools. Le formaldéhyde n'est pas anodin pour la santé, c'est un allergène notoire. Il est irritant pour la peau et les muqueuses. Le toluène et le xylène sont des liquides nocifs et facilement inflammables.

Les procédures doivent être strictement respectées de manière à ne pas compromettre la santé du personnel et à ne pas polluer l'environnement. Les lieux de travail doivent être équipés d'un matériel de premiers secours adapté à la nature des risques et facilement accessible (extincteur, dispositif de rétention en cas de déversement accidentel de liquide...) et rince-œil, trousse de secours de premiers soins.

### ● Attention

Manipuler impérativement le formaldéhyde, le toluène et le xylène avec des gants en nitrile sous hotte appropriée (avec systèmes de captage) ou sorbonne (enceinte ventilée de façon forcée, munie de filtres, raccordée à un réseau ouvert sur l'extérieur) en fonctionnement, ou avec une protection respiratoire, à défaut dans un local bien ventilé.

## Risque biologique

Les risques biologiques en ACP sont nombreux. Le repérage des prélèvements à risque (hépatite, VIH, tuberculose...) n'est pas toujours précisé. Il est donc important de considérer chaque prélèvement comme potentiellement contaminant, d'être

<sup>1</sup> Ce document a été publié dans les *Annales de Pathologie* 1998; 18 : 227-36.

vigilant dans leur manipulation et de respecter les bonnes pratiques. En cytologie, les échantillons biologiques (en particulier LBA, LCR) présentent un risque infectieux important (maladie de Creutzfeldt-Jacob, prions). En histologie, un tissu frais non fixé présente un risque biologique important (le sang en particulier) surtout au moment de l'examen extemporané et de la dissection macroscopique (risque de coupure, piqûre ou projection). Il faut savoir que le froid intense de l'azote liquide n'empêche pas la survie de certains virus.

Plusieurs voies peuvent être empruntées par un agent biologique pour pénétrer dans l'organisme :

- la voie respiratoire est la principale voie d'entrée mais également la plus insidieuse. Elle se fait par inhalation d'aérosols (fines particules solides ou liquides) créés au cours des manipulations ;
- la voie digestive est impliquée lors d'onychophagie (se ronger les ongles), de consommation d'aliments et de boissons, de mains portées à sa bouche sans les avoir lavées, de stylo sucé, etc. ;
- la voie oculaire est engagée lorsque des projections atteignent l'œil ;
- la voie cutanée est visée par des micro-organismes (*Brucella*), certains composés chimiques

qui facilitent ce passage (DMSO), les piqûres (aiguille de seringue), les coupures (verrerie ébréchée, lame de verre, lame de scalpel, lame de rasoir, bistouri).

### Risque chimique

Les principaux produits chimiques utilisés en ACP (liste non exhaustive) sont l'acétone, les acides (acétique, chlorhydrique, nitrique), l'ammoniaque, l'azide de sodium, le carbonate de lithium, les colorants (Giemsa, May-Grünwald), la DAB (diaminobenzidine), le DMSO (diméthylsulfoxyde), l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène), le formaldéhyde, l'hydroxyde de sodium, la paraffine, les solvants (éthanol, isopropanol, méthanol, toluène, xylène).

La manipulation des produits chimiques n'est pas sans danger. Toujours les considérer comme des poisons potentiels. Ils sont définis selon dix risques pour lesquels il existe un étiquetage spécifique : symbole(s) et indication(s) de danger + phrases de risque (R) et de conseils (S). Des étiquettes (noires sur fond orange) définies par les directives européennes (67/548/CE et 1999/45/CE) indiquent les substances et préparations dangereuses (tableau 3-1). Un ou plusieurs symboles

Tableau 3-1 Anciens pictogrammes.

<b>C</b>	Corrosif (acide chlorhydrique, nitrique)	<b>C</b>		<b>O</b>	Comburant (permanganate de potassium)	<b>O</b>	
<b>E</b>	Explosif (acide picrique)	<b>E</b>		<b>T</b>	Toxique (formol)	<b>T</b>	
<b>F</b>	Facilement inflammable (toluène)	<b>F</b>		<b>T+</b>	Très toxique (cyanure)	<b>T+</b>	
<b>F+</b>	Extrêmement inflammable (éthér)	<b>F+</b>		<b>Xi</b>	Irritant (méthylmétacrylate)	<b>Xi</b>	
<b>N</b>	Dangereux pour l'environnement (ammoniaque)	<b>N</b>		<b>Xn</b>	Nocif (xylène, hydroquinone)	<b>Xn</b>	

de danger peuvent être apposés sur le produit (au maximum trois).

### ● **Attention**

Toujours ajouter l'acide dans l'eau et non l'eau dans l'acide. Attention au dégagement de gaz toxiques lors du mélange de solvants, d'acides ou de bases avec d'autres produits chimiques. Ne jamais mélanger eau de Javel et formol, car risque d'explosion.

Le règlement européen CLP (*classification, labelling and packaging*, c'est-à-dire classification, étiquetage et emballage) publié au JO de l'Union européenne n° L 353 du 31 décembre 2008 est entré en vigueur le 20 janvier 2009. Il prévoit une période de transition durant laquelle l'ancien et le nouveau système de classification et d'étiquetage coexisteront. La mise en application du nouveau règlement deviendra obligatoire à partir du 1<sup>er</sup> décembre 2010 pour les substances et du 1<sup>er</sup> juin 2015 pour les mélanges (anciennement préparations). Les nouveaux pictogrammes (au nombre de neuf) représentatifs des risques comportent un symbole en noir sur fond blanc dans un cadre rouge (tableau 3-2). Chaque pictogramme possède un code composé de : SGH (système général harmonisé) + 0 + 1 chiffre.

Le contenu de l'étiquette est modifié (fig. 3-1). Des mentions d'avertissement vont apparaître : « DANGER » ou « ATTENTION » et de nouvelles phrases vont remplacer les anciennes.

### Risque physique

Les principaux produits inflammables en ACP sont l'acétone, les alcools, les colorants, le toluène et le xylène.

### Risque cryogénique

L'azote ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) et la carboglace (gaz carbonique congelé :  $-78,5^{\circ}\text{C}$ ) peuvent provoquer de graves brûlures. Les deux risques majeurs de l'azote sont l'anoxie (à haute concentration) et les gelures. Le risque d'explosion existe aussi lors de l'augmentation de pression dans le récipient.

### ● **Attention**

Ne pas manipuler sans protection des mains (gants cryogéniques), des yeux (lunettes de protection ou écran facial) et porter des chaussures fermées.

### ● **Recommandations**

N'utiliser que des matériaux et des récipients cryogéniques adaptés à  $-196^{\circ}\text{C}$ . Risque d'éclatement des tubes non conformes dû à une surpression entraînée par le réchauffement.

### Manipulation et protection

À la paillasse, de nombreux gestes sont générateurs d'aérosols : ouverture des centrifugeuses et des tubes immédiatement après centrifugation, tubes « vortexés » (nébulisation des particules virales en suspension comme le virus du papillome humain (VPH), également appelé HPV pour *human papillomavirus*), pipetage, transvasement et mélange de liquide, broyage de tissus, coupe au microtome.

### ● **Attention**

Pour les manipulations comportant un risque de projection ou d'aérosol, porter une protection respiratoire, des lunettes ou un masque de protection. Pour les porteurs de lentilles de contact, les verres correcteurs sont recommandés.

La manipulation des pièces opératoires, des échantillons humains, de l'azote liquide, de la carboglace, des réactifs et des produits chimiques doit toujours se faire avec des gants adaptés et conformes aux normes en vigueur selon la nature du risque biologique, chimique ou physique. Ils doivent être résistants à la pénétration de produits chimiques et des micro-organismes, aux risques mécaniques (coupures), et isolants du froid (brûlures). À titre indicatif, on peut citer : les gants en latex (caoutchouc naturel) et les gants en vinyle (matière plastique) pour les travaux de laboratoire à faible risque, les gants en nitrile (caoutchouc synthétique) résistants aux solvants chimiques, les gants anti-coupure pour la dissection de tissus frais, la coupe au cryostat et la macroscopie des pièces fixées, et les cryogants contre les températures très basses ou chaudes.

### ● **Attention**

Il est interdit de manipuler à mains nues.

Tableau 3-2 Nouveaux pictogrammes.

<b>Explosif</b>		Produits pouvant exploser au contact d'une flamme, d'une étincelle, d'électricité statique, sous l'effet de la chaleur, d'un choc, de frottements...
<b>Inflammable</b>		Produits pouvant s'enflammer. Suivant le cas : – au contact d'une flamme, d'une étincelle, d'électricité statique... – sous l'effet de la chaleur, de frottements... – au contact de l'air – au contact de l'eau (s'ils dégagent des gaz inflammables)
<b>Comburant</b>		Produits pouvant provoquer ou aggraver un incendie, ou même provoquer une explosion s'ils sont en présence de produits inflammables
<b>Gaz comprimé</b>		Produits qui sont des gaz sous pression contenus dans un récipient. Certains peuvent exploser sous l'effet de la chaleur
<b>Corrosif</b>		Produits corrosifs. Suivant les cas : – ils attaquent ou détruisent les métaux – ils peuvent ronger la peau et/ou les yeux en cas de contact ou de projection
<b>Toxique</b>		Produits empoisonnant rapidement même à faible dose
<b>Irritant</b>		Produits chimiques ayant un ou plusieurs des effets suivants : – ils empoisonnent à forte dose – ils sont irritants pour les yeux, la gorge, le nez ou la peau – ils peuvent provoquer des allergies cutanées – ils peuvent provoquer une somnolence ou des vertiges
<b>Dangereux pour la santé</b>		Produits rentrant dans une ou plusieurs de ces catégories : – produits cancérogènes – produits mutagènes – produits toxiques pour la reproduction – produits qui peuvent modifier le fonctionnement de certains organes – produits qui peuvent entraîner de graves effets sur les poumons – produits qui peuvent provoquer des allergies respiratoires
<b>Dangereux pour l'environnement</b>		Produits provoquant des effets néfastes sur les organismes du milieu aquatique

### ● **Recommandations**

Utiliser des gants à usage unique. Vérifier avant l'emploi que les gants correspondent bien aux besoins de protection du moment et qu'ils ne comportent ni trous ni déchirures. Changer de gants en

cas de paires endommagées et à chaque fin de manipulation. Pour éviter toutes contaminations, ne pas toucher avec des gants souillés son visage, les poignées de porte, le téléphone, le clavier de l'ordinateur, etc.



Fig. 3-1 Exemple du nouveau système d'étiquetage.

### Bonnes pratiques dans les salles techniques

- Porter des vêtements de protection (blouse fermée, surblouse, tablier) et des chaussures munies de semelles antidérapantes et couvrant l'avant du pied.
- Porter des équipements de protection individuelle (appareil de protection respiratoire, gants, écran facial ou lunettes protectrices...) en fonction de l'évaluation des risques.
- Ne pas porter de bijoux et nouer les cheveux longs.
- Ne pas fumer, boire, manger, manipuler ses lentilles de contact, se maquiller, décapuchonner les stylos avec les dents.
- Éteindre les téléphones portables.
- Ne jamais pipeter à la bouche (utiliser des pipettes automatiques).
- Ne jamais recapuchonner les aiguilles.
- Manipuler sous hotte ou sorbonne en fonctionnement les produits chimiques toxiques.
- Utiliser de préférence du matériel plastique à usage unique (flacons, pipettes, tubes à centrifuger), jetable ou à incinérer.
- Éliminer la verrerie ébréchée, fêlée ou suspecte.
- Ne pas jeter à l'évier des produits chimiques ou des liquides biologiques.
- Utiliser des conteneurs conformes pour les déchets d'activités en vue de leur élimination.

- Décontaminer les équipements et désinfecter les plans de travail.
- Se laver les mains avec un savon bactéricide avant et après toute manipulation.
- Connaître les consignes de sécurité et la conduite à tenir en cas de dysfonctionnement.

### Matériels et réactifs

Les matériels doivent être périodiquement entretenus, nettoyés et inspectés. Les réactifs doivent être maintenus dans leur emballage d'origine qui doit être clairement étiqueté avec les mentions : comburant, corrosif, explosif, nocif, inflammable, irritant, toxique (arrêté du 20 avril 1994; cf. tableaux 3-1 et 3-2). Les réactifs préparés ou reconstitués doivent être identifiés, porter la date de leur préparation ou de leur reconstruction et celle de leur péremption. Ceux qui sont commercialisés doivent de plus porter la date de réception au laboratoire. Les instructions précises sur leurs conditions particulières de stockage doivent être respectées. Les fiches de toxicité doivent être accessibles. Les réactifs périmés doivent être éliminés.

## Stockage

Les activités du laboratoire amènent à stocker des échantillons humains, des consommables et des kits servant aux analyses, des produits chimiques et des réactifs. Les risques identifiés doivent être indiqués par des pictogrammes signalétiques.

Les échantillons humains, les kits, les réactifs, conservés après analyse pour d'éventuels contrôles ultérieurs, stockés dans des enceintes frigorifiques ou de congélation (équipées de systèmes d'alarme visuelle et/ou sonore) réservées à cet usage doivent être identifiés comme tels. Les récipients contenant les pièces fixées dans le formol sont stockés dans des armoires ventilées. Le stockage de produits toxiques et/ou inflammables doit être conforme aux réglementations en vigueur. Il est important de respecter la séparation des produits chimiquement incompatibles pouvant entraîner des risques d'explosion ou d'incendie.

## Élimination des déchets

L'élimination des déchets à risque répond à des procédures différentes selon la nature du risque. Elle doit être conforme à la législation en vigueur (décret du 6 novembre 1997, *JO* du 18 novembre 1997). Des précautions extrêmes doivent être prises concernant les objets pointus contaminés, notamment les aiguilles, ainsi que les seringues, les lames de verre, les pipettes, les scalpels, les lames de rasoir ou de bistouri qui doivent être jetés dans des conteneurs conçus à cet effet pour minimiser le plus possible le risque de blessure. Les déchets que constituent les échantillons analysés, le matériel usagé, les milieux, les effluents des automates doivent être collectés dans des emballages et/ou conteneurs spécifiques à chaque filière d'élimination. Les documents confidentiels doivent faire l'objet d'une procédure garantissant l'anonymat.

### ● Attention

Ne pas mélanger les produits chimiques lors de l'évacuation, il y a un risque d'explosion ou de dégagement nocif.

## Entretien

Il est impératif de procéder au nettoyage des surfaces et du matériel supposés contaminés

(paillasse, matériels de dissection, dispositifs de centrifugation, pipettes...) qui doivent être désinfectés, lavés et dégraissés avec un produit approprié.

## Fonctionnement

Le laboratoire de pathologie doit accepter tout prélèvement cellulaire ou tissulaire qui lui est adressé dans des conditions correspondant aux bonnes pratiques.

## Transmission

Tout prélèvement adressé doit être correctement identifié, accompagné d'un formulaire de demande d'examen dûment renseigné, et acheminé selon la procédure adéquate. Les prélèvements à caractère « urgent » doivent être identifiés de façon spécifique et transmis dans les plus brefs délais. Pour un examen extemporané, le prélèvement doit être adressé rapidement à l'état « frais ».

L'acheminement des prélèvements doit se faire dans de bonnes conditions en respectant les règles de fixation, de conditionnement de l'échantillon cellulaire ou tissulaire. Le transport est généralement fait par un coursier mais peut également être acheminé par voie postale. Un prélèvement peut être transmis par un médecin correspondant de ville pour diagnostic ou pour un second avis. En milieu hospitalier, il peut provenir du bloc opératoire, des hôpitaux de jour, des consultations en ambulatoire, des services d'hospitalisation, d'imagerie médicale ou de la sénologie interventionnelle (spécialité médicale dédiée aux maladies du sein).

Tout prélèvement arrivant de façon défectueuse doit être mentionné. L'usage de pochettes transparentes et hermétiques permet de voir immédiatement l'état du conditionnement des échantillons et de limiter l'exposition aux dangers biologiques. Les flacons doivent être vissés ou bouchés, les récipients fermés, les lames blanches ou colorées placées en boîte à compartiment en plastique assurant leur préservation, les prélèvements congelés transmis en azote liquide ou en carboglace.

## Identification des prélèvements

Tout prélèvement doit être correctement identifié :

- nom, prénom, sexe et date de naissance du patient ;
- numéro unique d'identification du patient (NIP) ;
- adresse du patient ou du service de consultation ou d'hospitalisation ;
- nom et coordonnées du médecin prescripteur (adresse ou service), du préleveur et éventuellement des autres médecins correspondants ;
- type de prélèvement, siège et latéralité en cas d'organe pair ;
- date du prélèvement.

### ● Attention

Tout prélèvement mal ou non identifié ne doit pas être enregistré et justifie impérativement des compléments d'information. Pour tous les prélèvements (pouvant éventuellement être infectieux), des précautions doivent être observées en permanence dans leur manipulation. L'identification doit figurer sur le flacon (pas sur le bouchon).

## Formulaire de demande d'examen

Pour que la constitution du dossier soit le plus complet possible, le formulaire doit comporter un minimum d'informations :

- le type d'acte ;
- les éléments essentiels du contexte clinique qui ont motivé le prélèvement, éventuellement les hypothèses diagnostiques et l'aspect d'imagerie médicale ;
- les prélèvements éventuellement infectieux (tuberculose, sida) doivent être spécifiquement indicés ;
- les antécédents pathologiques du patient et la nature des traitements éventuellement administrés (chimiothérapie, hormonothérapie, radiothérapie...) ;
- l'aspect macroscopique de la (des) lésion(s) ;
- éventuellement la date des dernières règles ;
- les recherches particulières à effectuer s'il y a lieu (marqueurs spécifiques : RO, RP, Cerb B2...) ;
- la date de réponse souhaitée ;
- le nombre de lames blanches et/ou colorées ;
- le nombre de blocs d'inclusion ;
- pour un liquide, la quantité, sa couleur et son aspect.

## Réception des prélèvements

La réception est de la responsabilité des médecins mais elle peut être déléguée aux technicien(ne)s. Elle doit respecter une procédure précise afin de déceler toute anomalie d'identification, d'acheminement ou de transmission. Bien vérifier que le nom du patient sur le formulaire est bien le même que celui inscrit sur le(s) flacon(s) et/ou la (les) lame(s). Dans certains cas, la date de réception, l'heure et les initiales de la personne qui réceptionne le prélèvement peuvent être utiles (examen extemporané). Après vérification rigoureuse des données, le prélèvement doit recevoir un numéro d'enregistrement attribué de préférence par un logiciel informatique.

## Enregistrement des prélèvements

L'enregistrement est une étape particulièrement importante ne souffrant aucune erreur et nécessitant une grande vigilance.

Chaque prélèvement reçoit un numéro d'identification qui le suit durant toutes les étapes techniques et de lecture jusqu'à l'archivage. Lorsque des prélèvements multiples ont été effectués chez un même patient, un numéro unique peut être utilisé avec des indices annexes (alphabétique ou numérique) pour bien différencier les divers prélèvements. Chaque prélèvement peut au contraire recevoir un numéro. Une fiche de travail comportant toutes les informations est éditée. Elle suit le(s) prélèvement(s) tout au long de son cheminement permettant ainsi d'avoir des points de contrôle à chacun des postes et de noter toutes les observations : aspect macroscopique, problème(s) technique(s) rencontré(s)... Le(s) flacon(s) et le(s) récipient(s) sont identifiés. L'étiquette d'identification doit figurer sur le flacon ou le récipient, et non pas sur le bouchon ou le couvercle, en prenant soin de ne pas masquer une identification originale. Le numéro est retranscrit lisiblement sur la (les) lame(s) au niveau de la plage dépolie avec un crayon à mine, ou gravé avec un graveur (à pointe de diamant ou électrique) directement sur la lame, ou codé à barres (1D ou 2D).

### ● Attention

Les stylos-feutres ou à bille sont à proscrire, car l'alcool dissout leur encre. De ce fait, il est vivement

recommandé d'écrire au crayon à mine ou avec un marqueur résistant aux solvants sur les lames, les flacons, les cassettes, les sachets.

## Conservation des prélèvements

Toutes les techniques anatomopathologiques ont les mêmes buts, préserver et conserver dans les meilleures conditions possibles les structures pour bien les visualiser. La conservation des prélèvements est une étape critique et déterminante. Pour éviter les artefacts, il ne faut pas que les tissus subissent un dessèchement, surtout les petits fragments qui sont très fragiles (cf. p. 64). À température ambiante, les tissus prélevés se lysent et subissent plusieurs types de modification : anomalies de la perméabilité de toutes les membranes cellulaires, modifications des macromolécules en particulier les protéines, destruction cellulaire puis intercellulaire. Ces diverses altérations peuvent rendre impossible l'étude d'un prélèvement. Des mesures de conservation doivent donc toujours être prises en fonction des structures à étudier (tableau 3-3). Le RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) est un milieu de culture de couleur rose. Il peut être utilisé seul ou avec un anticoagulant, héparine ou EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique). L'EDTA est un agent chélatant (ou complexant) puissant et forme des complexes métalliques très stables. Il est utilisé dans la purification des acides nucléiques (ADN ou ARN) et des protéines.

**Tableau 3-3** Conservation des prélèvements selon l'étude.

Études	Fixateurs : AFA ou formol tamponné	Milieu de culture	Congélation
Morphologique standard (HES)	+++	-	-
Immuno- histochimique	+++	-	++
Cytogénétique	-	RPMI	-
Hybridation <i>in situ</i>	++	-	++
PCR	++	-	+++
Cytométrie en flux (CMF)	-	++	+++

RPMI : *Roswell Park Memorial Institute*.

En séquestrant en particulier les ions magnésium ( $Mg^{2+}$ ), il bloque l'activité de nombreuses nucléases qui sont dépendantes de cet ion. En fonction de l'étude, l'EDTA doit être proscrit, pour une étude cytogénétique, par exemple.

Les cellules sont par nature très fragiles et se dégradent très vite en dehors du milieu physiologique. Les frottis gynécologiques doivent être immédiatement fixés au moyen d'un spray ou d'une solution alcoolique. Les étalements et/ou les appositions (sauf indications contraires) nécessitent une fixation à l'air ambiant (cf. tableau 3-14). Les liquides biologiques sont placés dans des flacons conformes aux recommandations du laboratoire. Pour la cytologie en milieu liquide, le matériel recueilli est placé dans un flacon spécifique fourni par l'industriel (cf. p. 97).

## Tumorothèque

Banque de cellules et de tissus (sains et/ou tumoraux) conditionnés en petits tubes secs (en plastique dur pourvu d'un bouchon vissé résistant à la congélation; cf. fig. 3-20) ou en solution de DMSO à 10 %, et conservées à des températures très basses afin de préserver intact ADN et ARN dans le but de réaliser des études complémentaires à visée diagnostique ou de recherche. Les tubes doivent être ouverts et revissés avec des gants. Le DMSO (diméthylsulfoxyde) est un cryoprotecteur empêchant la formation de cristaux de glace.

Tous les échantillons, soigneusement étiquetés et enregistrés dans une base de données spécifique, peuvent ensuite être stockés soit dans des congélateurs ( $-80^{\circ}C$ ) qui permettent une conservation sur une longue durée, soit dans des cryoconservateurs à azote liquide ( $-196^{\circ}C$ ) régulièrement approvisionnés.

### ● Attention

Risque de brûlures. Manipuler l'azote et les tubes cryogéniques avec des gants isolants et un écran facial ou des lunettes de protection. La congélation d'un échantillon (cellulaire ou tissulaire) doit être immédiate dans un récipient cryogénique à azote liquide, car elle stoppe toutes les réactions y compris l'autolyse. Le DMSO est un produit chimique irritant pour la peau. Il doit être manipulé avec des gants.

## Lames de verre

Il existe une grande variété de lames de verre pour les préparations microscopiques ayant chacune des caractéristiques spécifiques. Les lames de verre ordinaire (lavées et dégraissées) avec plage d'identification sont généralement utilisées pour les colorations usuelles et certaines colorations spéciales. Les lames chargées positivement (SuperFrost® Plus, Polysine®) améliorent l'adhésion des cellules et des tissus sur le verre et sont sans défaut optique. Les cellules ou les tissus (frais ou fixés) sont d'abord attirés puis fermement attachés à la surface de la lame par liaisons chimiques. Elles sont recommandées pour les techniques immunochimiques et d'hybridation *in situ*, les colorations argentiques, certains spots monocouches et la biologie moléculaire.

## Principes généraux des colorations

La coloration des constituants cellulaires et tissulaires est une réaction très complexe dans laquelle entre en jeu des mécanismes chimiques, physiques et thermiques. Les colorants n'ont pas tous la même tendance à être absorbés et les structures n'ont pas toutes la même capacité d'absorption. Obtenir une bonne coloration sans dépôts ni artefacts requiert une procédure rigoureuse et l'utilisation d'une verrerie propre et de réactifs de bonne qualité, ainsi qu'une préparation quotidienne pour certains colorants. Pour certaines méthodes, les résultats dépendent également des « tours de main » et de l'expérience personnelle du (de la) technicien(ne). Les colorations obtenues se conservent indéfiniment, si elles sont bien montées et gardées à l'abri de la lumière.

### Glossaire

**Amphotère (ou amphophile)** : substance qui a un point isoélectrique. Il s'agit d'une molécule complexe qui a plusieurs groupes ou fonctions ionisables positives ou négatives en proportions variables.

**Auxochrome** : groupement salifiable qui se présente dans la solution de colorant sous forme de sels de sodium ou de calcium, ou de chlorures ou de sulfates.

**Décoloration** : disparition complète des colorants présents sur une préparation.

**Différenciation** : décoloration « incomplète » (progressive) dans les méthodes de colorations régressives.

**Différenciation à l'aide d'agents oxydants** : le colorant est oxydé en un composé incolore. Les éléments les plus fortement colorés le demeurent plus longtemps que ceux qui le sont moins.

**Différenciation par effet sur le pH** : l'effet du pH est assuré par des acides lorsqu'on veut obtenir une diminution du pH et par des bases si l'on veut l'augmenter. Il s'agit de modifier la charge des composants cellulaires et tissulaires amphotères.

**Différenciation par excès de mordant** : le mordant de la solution a tendance à lier le colorant qui est en contact avec le mordant attaché à la structure. Il se produit une décoloration graduelle de la préparation.

**Imprégnation** : elle cherche à faire pénétrer un liquide dans les structures. L'imprégnation métallique consiste à déposer sur certaines structures des atomes de métaux lourds tels que l'argent, le chrome. L'argent peut se déposer sur une structure selon deux mécanismes différents. L'argentaffinité est le processus par lequel une substance à caractère réducteur est capable de réduire elle-même l'argent ionique soluble en argent métallique insoluble. L'argyrophilie nécessite une réduction pour mettre en évidence une substance argyrophile qui a la capacité de réduire l'argent mais en quantité insuffisante pour être visualisée.

**Laque** : combinaison d'un colorant avec un mordant. Une fois liée à la structure, elle constitue des complexes relativement insolubles dans les solvants neutres ainsi que dans les alcools.

**Métachromasie** : capacité pour une molécule colorante de donner à certaines structures tissulaires une teinte différente de celle de la solution colorante (bleu de toluidine). Terme opposé à orthochromatique.

**Mordant** : substance qui sert d'intermédiaire entre la structure et le colorant. Le complexe colorant/mordant qui s'attache à la structure est appelé laque. Le mordantage améliore la tenue de la coloration.

**Oxydation** : perte d'un ou plusieurs électrons par une molécule parfois accompagnée d'une perte de proton (H+).

**Réduction** : réaction chimique au cours de laquelle un atome ou un ion gagne des électrons.

**Signalétique** : quand le mécanisme de coloration est dû à des propriétés tinctoriales (qui servent à teindre) et ne correspond pas à une identification chimique.

**Virage** : modification de la couleur à un pH donné. Il peut se faire avec de l'eau du robinet, de l'eau déminéralisée, de l'eau ammoniacale, une solution tamponnée, du carbonate de lithium, du chlorure d'or.

## Notion sur les colorants

Il existe de nombreux colorants dont certains se trouvent sous plusieurs formes et qui présentent de légères différences les uns par rapport aux autres. Certains colorants sont naturels, produits au départ par extraction et non par synthèse chimique (carmin, hématoxyline, orcéine, safran), et d'autres sont synthétiques (bleu de méthylène, rouge nucléaire). Les colorants sont instables et se contaminent facilement. Pour éviter les contaminations de certains colorants, en particulier le rouge nucléaire, il est conseillé de déposer dans la solution un cristal de thymol. Les colorants doivent de préférence être filtrés avant l'emploi afin d'éviter que des dépôts ou des artefacts, qui gêneraient l'interprétation microscopique, ne se déposent sur les lames.

Un colorant est une substance utilisée en solution aqueuse ou alcoolique qui peut colorer une substance ou un ensemble de substances de manière stable et durable. Il est constitué d'un groupement qui lui confère la couleur (chromophobe) et d'un groupement (auxochrome) qui permet une fixation permanente sur des groupements acides ou basiques des constituants cellulaires à un pH donné.

Un colorant acide (ou anionique) possède un auxochrome ayant une charge négative (COO<sup>-</sup>) qui se dirige, au cours d'une électrolyse, vers l'anode (+). Les colorants acides ont une bonne affinité avec les substances alcalines. Ils mettent en évidence des structures basiques (acidophiles). Ils se présentent le plus souvent sous forme de sels de sodium ou de calcium : acide picrique (jaune), éosine (rouge), fuch sine acide (rouge), orange G, phloxine (rouge), safran (jaune).

Un colorant basique (ou cationique) possède un auxochrome chargé positivement (NH<sup>+</sup> ou H<sup>+</sup>) qui se dirige, lors d'une électrolyse, vers la cathode (-). Les colorants basiques mettent en évidence des structures acides (basophiles). Ils se présentent le plus souvent sous forme de chlorures ou de sulfates : carmin (rouge), fuch sine basique (rouge), hémalun ou hématoxyline (bleu), safranine (rouge).

Les colorants neutres sont des sels dont les parties anionique et cationique sont colorées : éosinate de bleu de méthylène, éosinate d'azur.

## ● Attention

Risque de dénaturation des colorants par les seuls vapeurs de l'eau de Javel.

## Classification des colorants

Il s'agit le plus souvent de colorants de synthèse mais quelques-uns sont d'origine naturelle : hématoxyline, orcéine, safran.

## Principaux colorants usuels

Les colorants cytoplasmiques et du glycogène sont habituellement acides. La coloration est régressive. Il faut surcolorer puis enlever l'excès avec un alcool faible ou de l'eau, par exemple.

- L'éosine (sel de sodium) colore certaines substances (dites éosinophiles) et notamment le cytoplasme en rose ou en rouge.
- La phloxine est un colorant cytoplasmique synthétique de couleur rouge fabriqué à partir des hydrocarbures issus du goudron de houille.
- Le safran est extrait des stigmates de la fleur du *Crocus sativus*. Son principe colorant (appelé crocine) est constitué par l'estérification du gentiobiose (un disaccharide) et d'un acide gras (crocetine). Il adhère beaucoup plus fermement au collagène en solution alcoolique qu'en solution aqueuse qu'il teinte en jaune orangé.

Les colorants nucléaires doivent être basiques et donc avoir une charge positive pour se fixer sur les acides nucléiques. La coloration est progressive et arrêtée au moment où les structures nucléaires sont colorées de façon optimale.

- Le carmin est extrait de la cochenille.
- L'orcéine est extrait de certains lichens.
- Le rouge nucléaire (ou Kernechtrot) dont la laque aluminique donne une coloration rouge rosé non seulement aux noyaux mais aussi aux cytoplasmes et au collagène. Lorsque la solution vieillit, son efficacité diminue.
- L'hématoxyline extraite du bois de Campêche (*Haematoxylon campechianum*) est une substance incolore et non colorante. Pour acquérir la couleur, elle doit être oxydée en hémateïne qui elle est un colorant. Sa forme oxydée (paraquinone) réagit avec un mordant (sel de métal ionisé) dont le cation sert de pont entre la molécule colorée et la cible nucléaire à colorer. Elle teinte les noyaux en bleu violacé mais donne aussi une teinte violacée

au calcium et parfois à certains mucopolysaccharides (cartilage, mucus). Le terme hémalum désigne une solution faite à partir d'hématéine commerciale mise en solution avec un mordant d'aluminium, de fer, de chrome ou autre. En général, les solutions d'hématoxyline sont classées comme progressives (hématoxyline de Mayer) ou régressives (hématoxyline de Harris) en fonction de leur concentration en colorant.

### ● **Attention**

Certains produits d'oxydation de l'hématéine sont insolubles et doivent être enlevés par filtration. Cette oxydation est nuisible à la coloration. La nécessité d'une filtration se manifeste par la présence d'une pellicule luisante à reflet métallique à sa surface. Si l'on omet cette filtration, des pigments bleu-noir se déposent sur les préparations.

### **Mécanismes de la coloration**

Le plus souvent, des facteurs chimiques interviennent. Par exemple, l'hématéine ( $\text{NH}^+$ ) se fixe sur les acides phosphoriques des noyaux et l'éosine ( $\text{CO}^-$ ) se fixe sur les groupements des protéines cytoplasmiques. Mais d'autres facteurs interviennent : physiques, de pénétration mécanique (dans une coupe tissulaire qui mesure 3 à 4 microns d'épaisseur), thermiques et atmosphériques. Les laques sont parfois nécessaires à la fixation de certains colorants ou certains mordants.

### **Principales méthodes de coloration**

Il existe plusieurs modalités de coloration.

#### **Coloration progressive**

La substance à colorer séjourne dans la solution colorante pendant un temps optimum au bout duquel un lavage est effectué. Il est destiné à enlever l'excès de colorant qui n'est pas lié chimiquement à la structure.

#### **Coloration régressive**

Tous les éléments qui ont une quelconque affinité pour les particules colorantes présentes dans la solution sont surcolorés. Ensuite, l'excès de colorant est éliminé progressivement par un différenciateur (alcool, eau, eau chlorhydrique) jusqu'à ce que les seules structures qui ont une très forte affinité pour le colorant restent colorées. C'est le

cas de l'éosine qui colore les cytoplasmes et les noyaux en rouge. La différenciation permet d'éliminer la coloration nucléaire, alors que la coloration cytoplasmique persiste.

#### **Coloration simple**

Elle se fait avec un colorant unique qui a le pouvoir d'exercer une action différentielle sur les diverses structures. Cette coloration est surtout destinée à la mise en évidence des noyaux.

#### **Coloration combinée**

Ces colorations s'effectuent avec plusieurs colorants (la plupart du temps de couleur différente) en général utilisés les uns après les autres (parfois simultanément en mélange) chacun d'eux étant spécialement destiné à la mise en évidence d'une structure particulière (noyaux, cytoplasme, fibres, sécrétions, etc.).

### **Méthodes alternatives de coloration**

Plusieurs méthodes de coloration ont été mises au point pour révéler certaines structures cellulaires et tissulaires. Tous les procédés de coloration se déroulent selon un plan général commun quelle que soit la technique employée. On distingue trois temps, les étapes de préparations à la coloration, puis celles de la coloration proprement dite et enfin les étapes préparatoires au montage.

#### **Coloration nucléaire**

Le noyau est une structure extrêmement importante à mettre en évidence à cause de son utilité comme point de repère au cours de l'étude morphologique de toutes préparations. En règle générale, il est donné au noyau une teinte assez foncée de couleur bleue (par l'hématoxyline) pour lui permettre de bien ressortir sur le fond (constitué surtout par les cytoplasmes et les fibres conjonctives). Il arrive cependant que les structures ou les substances à mettre en évidence aient une teinte opaque moins bien discernable si le noyau est coloré en bleu. Dans ce cas, les noyaux sont colorés à l'aide de colorants basiques rouges (rouge nucléaire).

#### **Coloration cytoplasmique et du collagène**

Les colorants utilisés pour la mise en évidence du cytoplasme et des fibres de collagène sont habituellement acides, sauf dans le cas où l'on colore l'ARN cytoplasmique. Le choix de la coloration

du cytoplasme doit être orienté en fonction de la couleur des autres structures mises en évidence, les solvants dans lesquels les préparations sont passées, la fixation subie, etc. Un certain nombre de colorants cytoplasmiques peuvent également servir de coloration spécifique des fibres de collagène.

### Coloration topographique

Une coloration topographique donne une vue d'ensemble d'un tissu (hématoxyline éosine safran : HES). Elle renseigne sur la répartition, l'architecture et la structure des cellules. Cette coloration colore un type de charge. Elle permet de visualiser la morphologie des cellules (noyaux et cytoplasmes) afin de déterminer le nombre de types cellulaires présents dans le tissu ainsi que sa structure.

### Coloration spéciale

Les colorations spéciales correspondent à des colorations complémentaires simples qui mettent en évidence des structures non ou mal visualisées par les colorations standard : recherche de germes, de dépôts, de constituants particuliers. Elles sont demandées par le pathologiste en fonction du diagnostic recherché.

### Contre-coloration

Les colorations spéciales et les méthodes d'immunochimie nécessitent une contre-coloration pour faire ressortir le marquage d'un élément particulier. Cependant, cet élément doit être localisé par rapport aux autres éléments (noyaux, cytoplasmes, fibres conjonctives) si on veut que les données obtenues puissent prendre un sens. C'est le rôle de la contre-coloration qui sert de point de repère lors de l'interprétation microscopique.

### Coloration insatisfaisante

Une coloration peut ne pas être satisfaisante pour les raisons suivantes : les colorants sont périmés, les produits n'ont pas été stockés dans des conditions optimales, le protocole technique n'est pas respecté, les rinçages sous l'eau du robinet ont été trop prolongés (le chlore qu'elle contient la décolore), il y a des restes d'eau de Javel sur le matériel utilisé, les colorants ont été en contact avec des objets métalliques.

## Coloration usuelle

Les colorations de base systématique « dites de routine » sont des méthodes qui mettent en évidence des constituants cellulaires (noyaux et cytoplasmes) et tissulaires (fibres). Les lames doivent être entièrement immergées dans des bains de telle sorte que toutes les solutions ainsi que les rinçages puissent entrer librement en contact avec toutes les structures. Les lames colorées sont ensuite protégées par une lamelle de verre permettant leur conservation et l'analyse à fort grossissement.

### Glossaire

**Hématoxyline éosine safran (HES)** : coloration des préparations histologiques réalisées après déparaffinage pour les coupes de tissus fixés et inclus en paraffine par l'HES rapide (examen extemporané) ou l'HES directe pour les coupes à congélation (au cryostat) des tissus non fixés.

**May-Grünwald-Giemsa (MGG) et Diff Quik®** : coloration des préparations cytologiques, étalements ou empreintes séchés à l'air libre et à température ambiante. Pour le MGG, avant la coloration (sous une hotte ou une sorbonne en fonctionnement), dégraisser les lames dans du toluène et les laisser sécher.

**Papanicolaou** (nom de l'inventeur) : coloration pour la cytologie exfoliative. Elle nécessite une fixation immédiate des étalements et/ou des spots cellulaires encore humides soit par immersion dans un flacon d'éthanol 95°, soit par pulvérisation d'un film protecteur « spray » (ou laque) sur les cellules non séchées afin de les maintenir dans un état d'hydratation convenable. Avant la coloration, les lames fixées par un spray (laque) sont mises d'abord dans un bain d'eau distillée pour éliminer le film protecteur.

→ **En savoir plus sur les colorations standard :**  
cf. catalogue des procédés techniques, p. 104.

## Coloration spéciale

Les colorations spéciales ont pour but de mettre en évidence des constituants particuliers au sein des cellules (glycogène, mucus, pigments) ou de la matrice extracellulaire (amylose, collagènes, fibres de réticuline), ainsi que des agents infectieux (bactéries, champignons, parasites). Elles correspondent à différentes méthodes qui permettent une caractérisation des constituants

chimiques particuliers d'une substance ou d'une structure sans en altérer la morphologie qui se fait grâce à un colorant ayant une affinité particulière à laquelle il se fixe.

Selon les conditions particulières de chaque laboratoire, une même méthode peut avoir des variantes de procédé technique, de formule des colorants, de concentration des solutions, etc. Mais chaque coloration a son propre principe utilisant une fixation adéquate, des solutions et une contre-coloration spécifiques. Divers facteurs importants sont nécessaires à leur réalisation et doivent être respectés pour l'obtention d'une coloration de qualité :

- date de péremption ;
- stockage des réactifs et des solutions ;
- conditionnement pour certaines solutions (mères ou dilutions) à l'abri de la lumière dans des flacons en verre opaque pour éviter la dégradation et bien bouchés pour éviter l'évaporation (les flaconnages vissés sont recommandés), identifiés et portant la date de préparation et celle de sa péremption ;
- utiliser des produits de bonne qualité (non contaminés) ;
- préparation extemporanément de certaines solutions et d'autres à l'avance (parfois 24 heures) ;
- respecter la concentration des solutions qui peut influencer grandement sur les temps d'action et sur la distribution dans les diverses structures ;
- ajuster le pH d'une solution avec un pH-mètre préalablement étalonné ;
- filtrer les colorants avant l'emploi ;
- respecter les temps et les étapes sans omettre les rinçages et les lavages ;
- tenir compte de la température ambiante et surtout celle de l'étuve (ou du bain-marie) nécessaire à quelques méthodes (comme le Fontana, le Grocott) qui a un effet sur la plupart des réactions chimiques (la chaleur est susceptible d'accélérer la fixation) ;
- utiliser une verrerie rigoureusement propre et si possible des consommables à usage unique.

### Différentes méthodes

Parmi les nombreuses colorations spéciales disponibles (tableau 3-4), certaines peuvent apporter un argument en faveur d'un diagnostic ou permettre

**Tableau 3-4** Colorations spéciales (liste non exhaustive).

Mise en évidence	Méthode
Bactéries et mycobactéries	Giemsa <i>Helicobacter</i> Gram Ziehl-Neelsen
Champignons	Grocott
Collagène	Trichrome de Masson
Fibres de réticuline	Réticuline
Granulations argentaffines et argyrophiles	Grimelius
Granulations et structures nucléaires	Giemsa lent
Glucides	Bleu alcian (BA) <i>Periodic acid Schiff</i> (PAS) PAS/BA PAS diastase
Lipides	Oil red O (ou huile rouge O)
Pigments mélaniques	Fontana
Pigments ferriques	Perls
Sels de calcium	Von Kossa
Substance amyloïde	Rouge Congo

de préciser la différenciation d'une tumeur. Le PAS et le bleu alcian peuvent montrer la sécrétion des mucoprotéines par les cellules tumorales, objectivant ainsi la nature glandulaire de la prolifération (adénocarcinome). La coloration de Fontana peut montrer la présence de mélanine, affirmant ainsi la nature mélanocytaire de la tumeur (mélanome). La coloration des graisses neutres (oil red O ou huile rouge O) peut en affirmer la nature adipocytaire (liposarcome).

### Recommandations

Un témoin est nécessaire pour la plupart d'entre elles. La forte alcalinité des solutions d'argent cause souvent le décollement des coupes, c'est pourquoi il est suggéré d'utiliser des lames chargées positivement. La coupe ou l'étalement peut être cerclé d'un anneau de matière hydrophobe pour éviter le séchage de la préparation au cours de la coloration dû à la dispersion des réactifs.

La mise en évidence des graisses (oil red O) nécessite de prendre des précautions particulières. En effet, les graisses sont dissoutes dans les produits (alcool et toluène) nécessaires à la préparation des tissus en vue de l'inclusion en paraffine. Toute

recherche de graisse nécessite donc d'être faite sur une coupe à congélation du tissu à l'état frais ou fixé dans un fixateur non alcoolique (formol à 10 % ou tamponné).

Pour la réussite de certaines colorations telles que le Fontana, le Grimelius, le Grocott, le Perls, la réticuline, il faut impérativement que toute la vaiselle soit exempte de traces de chlorure de sodium et de sels métalliques. Aucun instrument ou matériel métallique n'est utilisé pour manipuler les lames ou mis en contact avec les solutions.

Les solutions d'hydroxyde d'argent ammoniacal et les solutions de carbonate d'argent ammoniacal préparées à partir de solution de nitrate d'argent sont des complexes instables qui peuvent entraîner la production de précipité non spécifique et la production de dérivés explosifs qui se forment dans de vieilles solutions ayant été exposées à l'air ou à la lumière. Les solutions se conservent au réfrigérateur à + 4 °C dans des flacons opaques à la lumière pour prolonger leur durée d'utilisation et réduire le danger qu'elles représentent.

→ **En savoir plus sur les colorations spéciales :**  
*cf. catalogue des procédés techniques, p. 108.*

## Montage

Le montage est une opération (manuelle ou automatisée) qui consiste après coloration à fixer à l'aide d'une substance appropriée une lamelle couvre-objet sur des préparations cytologiques ou histologiques. Les lames colorées doivent être protégées contre les bris mécaniques afin de les manipuler aisément (en son absence, les coupes ou les étalements seraient rapidement détériorés), et contre la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent facilement à l'air libre (de plus, en séchant, le milieu de montage emprisonne les colorants à l'état dissous, ce qui les empêche de précipiter dans le tissu). Le montage présente un avantage supplémentaire du point de vue de l'optique. Il permet de diminuer la diffraction (déviations des rayons lumineux au moment où ils traversent la préparation) et de regarder à fort grossissement avec de l'huile à immersion.

Une lamelle couvre-objet est disponible en différents formats et a en principe 17 µm d'épaisseur. Elle induit un excès de sphéricité qui est compensé

dans l'objectif. Pour les objectifs à immersion, l'épaisseur de la lamelle est peu importante, l'huile à immersion ayant le même indice de réfraction que celui du verre.

Il existe des milieux de montage résineux et hydrophobes. En général, le montage s'effectue dans des milieux de montage résineux qui sont des polymères plastiques miscibles avec les solvants (toluène, xylène) et dont leur principal avantage est d'être permanent. Le milieu de montage doit avoir certaines caractéristiques :

- avoir un indice de réfraction qui se rapproche de celui du verre ;
- être miscible au solvant ;
- durcir sans se distordre ni rétracter le tissu et les cellules ;
- ne pas dénaturer les colorations même à long terme ;
- être amorphe chimiquement et ne pas changer de couleur ni de pH ;
- être suffisamment liquide pour permettre (juste après le montage) l'évacuation des bulles d'air emprisonnées sous la lamelle (particulièrement si elles se situent au niveau de l'étalement ou de la coupe tissulaire), mais en même temps, être assez visqueux pour ne pas provoquer en séchant une aspiration d'air sous la lamelle ;
- durcir assez rapidement pour permettre dans des délais assez brefs la manipulation des lames pour la lecture et leur archivage dans les 4 à 5 jours suivants l'encollage.

## Montage en milieux résineux

La protection est assurée par une lamelle de verre imprégnée de colle (résine synthétique) qui est déposée sur la lame. Cette résine (Entellan<sup>®</sup>, Eukitt<sup>®</sup>, Pertex<sup>®</sup>) est utilisée en association avec du toluène qui permet de la solubiliser et de bien l'étalement entre la lame et la lamelle. L'excès de milieu de montage qui déborde de la lamelle peut être enlevé à l'aide du solvant. Si le montage est réalisé manuellement, il doit être fait avec des gants en nitrile sous sorbonne (ou hotte) en fonctionnement.

**À noter :** lorsqu'une lame montée à l'aide d'une résine présente des zones opaques (teinte laiteuse qui enlève à la préparation sa transparence), cela est le résultat d'une mauvaise déshydratation.

## ● Conseils

Pour chasser les bulles d'air, appuyer légèrement sur la lamelle (sans la briser) à l'aide d'un objet lancéolé ou d'une lame inclinée. Pour un étalement épais (frottis cervico-utérin), placer un petit poids sur la lamelle jusqu'à séchage parfait de la colle. Conserver les lames à plat quelques jours avant de les archiver dans des racks, sinon elles risquent de se coller entre elles.

## Montage en milieux hydrophobes

Ces milieux de montage (Glycergel®, Faramount, de type « Mowiol ») sont utilisés dans les cas où on veut éviter de passer les lames dans les solvants qui préparent au montage avec les résines, ou lorsque ces solvants risquent d'extraire la (les) substance(s) à mettre en évidence (graisses neutres) ou de nuire à la réaction colorée qu'on vient d'obtenir. Ils doivent avoir sensiblement les mêmes qualités que les milieux de montage résineux à l'exception de leur solubilité (ou miscibilité) qui doit correspondre à l'eau. Parfois, ce montage présente à long terme un inconvénient, l'eau s'évapore provoquant le décollement des lamelles. Pour rendre permanente une préparation, la lamelle peut être scellée en enduisant ses bords d'une substance imperméable. Cette opération (le lutage) peut se faire avec du vernis à ongle.

## Décollage d'une lamelle couvre-objet

Une lamelle partiellement mal encollée (en résine) peut gêner l'interprétation. Elle peut être décollée en immergeant la lame dans un bain de toluène (attendre qu'elle se détache d'elle-même).

## Immunochimie

L'immunochimie est une méthode qui permet de localiser des antigènes (ou protéines) de nature et d'origines variées grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiquement dirigés contre eux et révélés par une réaction colorimétrique enzymatique (visible au microscope optique) ou par une substance fluorescente (visible au microscope à fluorescence). Elle peut être réalisée sur des coupes de tissus congelés (cryocoupes) ou fixés et inclus en paraffine (immuno-histochimie : IHC), ou sur

des préparations cellulaires (immuno-cytochimie : ICC) de diverse nature (cultures cellulaires, liquides biologiques, produits de ponction).

## Intérêt de l'immunochimie en cancérologie

L'immunochimie apporte des données précieuses dont certaines sont actuellement indispensables. Elle rend des services au pathologiste, surtout en pathologie tumorale, bien que certains immuno-marquages ne puissent résoudre tous les problèmes de diagnostic. Les marqueurs spécifiques d'organes sont peu nombreux (poumon, prostate, thyroïde) exigeant une analyse croisée pour cerner le profil antigénique de chaque tumeur. Un anticorps n'est pas spécifique de telle ou telle tumeur. Il peut exister la possibilité de « positivités » inattendues.

Les techniques d'immunochimie sont très largement utilisées dans une majorité de laboratoires de pathologie avec de multiples indications :

- permettre de confirmer ou infirmer un diagnostic;
- classer et sous-typier des tumeurs malignes peu ou indifférenciées (carcinomes, mélanomes, sarcomes) ainsi que des tumeurs hématopoïétiques (leucémies, lymphomes) (*cf.* p. 28 à 34);
- identifier un type tumoral dans le cas de métastase isolée sans point de départ connu;
- intérêt pronostic en appréciant l'activité proliférative des tumeurs malignes ou en mettant en évidence des produits d'oncogènes afin d'établir les facteurs pronostics d'estimation de l'espérance de vie du patient;
- intérêt thérapeutique (facteurs prédictifs) en déterminant, par exemple, le statut hormonosensible de certains cancers ou évaluant l'expression d'oncogènes accessibles à une thérapie ciblée;
- réaliser des études rétrospectives.

## Précautions et limites

Un protocole immunochimique est une technique complexe composée d'étapes successives. La spécificité d'une réaction (le marquage) doit être contrôlée par des témoins internes (négatif et positif) car l'obtention d'une réaction colorée peut être liée à la fixation des anticorps sur des épitopes croisés ou des réactions non spécifiques physiques ou chimiques. L'absence d'un marqueur peut être due à une particularité de la tumeur ou résulter

d'une imperfection technique. À l'opposé, le marqueur recherché peut être présent dans une tumeur qui n'est pas « censée » l'exprimer.

### Assurance qualité

Le niveau de performance de l'IHC et de l'ICC est conditionné par les mesures d'assurance qualité mises en œuvre au sein d'un même laboratoire : conditions de fixation et de préparation (cellulaire ou tissulaire), dilution optimale des réactifs et des anticorps, température pour favoriser les réactions Ag/Ac, etc. Afin de réduire les variations inhérentes aux manipulations manuelles, une partie de la technique peut être réalisée par un automate. De plus, ces appareils offrent beaucoup d'avantages : standardisation des différentes étapes permettant des résultats constants, diminution des risques d'erreurs par pilotage informatisé, gestion d'un nombre élevé de lames en un seul cycle, réduction du risque d'exposition à des produits chimiques ou carcinogènes potentiellement dangereux.

### Rappels théoriques

Un antigène (Ag) peut correspondre soit à une protéine de structure de la cellule, soit à une protéine synthétisée par la cellule (calcitonine, thyroglobuline). Il possède deux propriétés, l'immunogénicité (capacité de provoquer la réaction antigène/anticorps) et la spécificité (capacité de réagir spécifiquement avec un anticorps donné).

Les anticorps (Ac) ou immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines produites par les plasmocytes et des lymphocytes B activés. Chaque Ac reconnaît spécifiquement un seul épitope d'un Ag de la

même classe. Les immunoglobulines diffèrent par leur taille, leur poids moléculaire, leur charge, leur composition en acides aminés et en sucres. Elles sont formées de quatre chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes (longues) déterminant cinq classes d'Ig (IgG, IgA, IgM, IgD et IgE) et deux chaînes légères (courtes) de type  $\kappa$  (kappa) ou  $\lambda$  (lambda) assemblées pour former une structure en « Y ». Ces chaînes sont réunies par des ponts disulfures très flexibles. Chaque chaîne d'immunoglobuline contient des domaines constants, qui déterminent l'isotype, et variables dont l'extrémité interagit avec l'Ag (paratope). Deux régions distinctes peuvent être identifiées sur chaque Ac. La région Fab (*fragment antigen-binding*) est composée de la chaîne légère et d'une partie de la chaîne lourde, elle contient des domaines constants et variables et fixe l'Ag. La région Fc (*fragment cristallisable*) est constituée par la partie des deux chaînes lourdes restantes, elle contient les domaines constants et assure des fonctions communes à tous les Ac (fig. 3-2).

Un épitope (ou déterminant antigénique) est une région de l'Ag (en général, huit à dix acides aminés dans une configuration particulière) reconnue spécifiquement par une immunoglobuline. Un même Ag peut comporter plusieurs épitopes reconnus par des Ac différents. Un paratope est le site par lequel l'Ac se lie spécifiquement à un épitope. Le terme isotype est utilisé pour définir la variation génétique d'une famille de protéines ou de peptides (sous-classes d'Ig : IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4).

Les molécules d'adhésion sont des protéines exprimées à la surface d'une cellule capables d'assurer

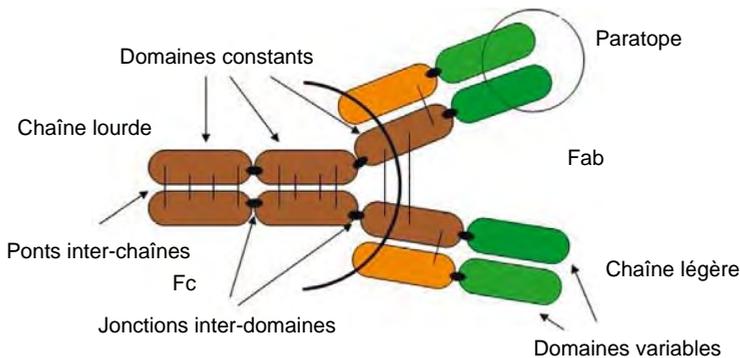


Fig. 3-2 Structure d'une immunoglobuline.

une adhésion sélective voire spécifique entre deux cellules ou entre une cellule et la matrice cellulaire en interagissant avec un nombre limité de molécules appelées ligands. Elles mettent en relation les milieux extra- et intercellulaires. Il existe cinq familles principales : les cadhérines, la superfamille des immunoglobulines (familles N-CAM et de l'ACE, protéines d'adhésion endothéliale et leucocytaire), les intégrines, les sélectines et les CD 44.

La liaison antigène/anticorps est due à l'interaction entre l'épitope et le paratope (liaisons électrostatiques multiples non covalentes : liaisons hydrophobes, forces de Van der Waals, interactions ioniques). Les qualités principales sont la spécificité (reconnaît la cible moléculaire [épitope]), la notion d'affinité (mesure la force de la liaison entre le paratope et l'épitope) et la notion d'avidité (nombres d'épitopes reconnus). La réaction Ag/Ac est très spécifique mais un Ag peut comporter des épitopes en commun (semblables ou identiques) avec un autre Ag pouvant être à l'origine de ce que l'on appelle une réaction croisée.

### Fabrication (ou production) des anticorps

Il existe deux grands types d'Ac utilisés en immunochimie. Les plus usuels sont les Ac monoclonaux (le plus souvent fabriqués chez la souris) et les Ac polyclonaux fabriqués chez différentes espèces animales (lapin, chèvre, mouton...) qui permettent d'augmenter le niveau de sensibilité. Un anticorps monoclonal est produit par un unique clone (hybridome) de lymphocyte B qui a été isolé *in vitro* et fusionné avec une lignée tumorale. La production de cette immunoglobuline très spécifique est donc constante, reproductible et théoriquement illimitée. Il reconnaît un seul épitope. Un anticorps polyclonal est obtenu par stimulation antigénique répétée chez un animal immunisé contre un Ag donné. C'est un sérum comportant un mélange d'Ac reconnaissant des épitopes multiples d'un même Ag (phénomène du «lego»).

### Principe d'une réaction immunochimique

Une immunoréaction se compose de trois éléments principaux :

- la préparation des échantillons cellulaires ou tissulaires contenant l'antigène recherché ;
- un anticorps spécifique dirigé contre l'antigène ;
- le système révélateur qui permet de visualiser l'immunoréaction.

La qualité des résultats nécessite une méthodologie technique rigoureuse. Elle est également liée au niveau de sensibilité de la technique immunochimique qui dépend de multiples facteurs, comme :

- les méthodes de préparations (fixation, inclusion) qui modifient l'antigénicité ;
- la nature et la concentration de la protéine cible (un Ag contenant de multiples épitopes est détecté plus facilement) ;
- l'accessibilité de l'Ag (configuration de l'Ag) ;
- la sensibilité de l'Ac utilisé ;
- le protocole de réaction immunochimique (les techniques d'amplification ont une sensibilité supérieure à celle des techniques directes ou indirectes classiques).

### Fixation

La fixation est l'étape la plus importante pour la préservation des antigènes. Ils ne sont pas tous préservés par la fixation et tous les fixateurs n'ont pas les mêmes qualités de préservation des antigènes. Plusieurs procédés de fixation peuvent être utilisés et doivent être adaptés à la protéine recherchée ou aux cellules (dans le cas d'un antigène liposoluble, il faut éviter d'utiliser des solvants de lipides). La congélation à  $-80^{\circ}\text{C}$  (congélateur) ou  $-196^{\circ}\text{C}$  (azote liquide) permet la préservation de la majorité des protéines, alors que les tissus conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$  peuvent perdre rapidement leur antigénicité. L'inconvénient majeur des tissus congelés est une morphologie moins bien conservée que sur les tissus fixés et inclus en paraffine.

Il n'existe pas de fixateur «universel» idéal préservant tous les Ag. Les fixateurs agissent en modifiant les structures des protéines et certains peuvent altérer les Ag ; dans ce cas, l'Ac ne peut pas se fixer sur l'épitope reconnu car celui-ci a été masqué ou modifié au cours de cette étape. Le choix du fixateur est important, il constitue une étape essentielle dans la mise en œuvre d'une réaction d'immunochimie pour obtenir de bonnes immunoréactions. La fixation doit immobiliser

l'Ag, perméabiliser la cellule pour permettre l'accès des Ac, garder l'Ag dans une forme telle qu'il puisse être reconnu de manière efficace par l'Ac, et préserver les structures cellulaires. L'activité antigénique peut être partiellement restaurée par l'action d'enzymes protéolytiques ou de la chaleur. Si une sur-fixation peut être corrigée par un prétraitement adéquat, une sous-fixation est en général irréversible. Les fixateurs les plus utilisés en IHC avant inclusion sont les fixateurs à base de formaldéhyde (AFA, formol tamponné). Quant au liquide de Bouin, il est déconseillé car il dénature considérablement les protéines.

**À noter : l'inclusion peut aussi modifier l'affinité de l'Ag pour l'Ac. L'imprégnation par la paraffine demande des températures de  $\pm 60^\circ\text{C}$  (supérieures à la température physiologique) et exerce ainsi un effet dénaturant (coagulation thermique) sur les structures moléculaires. Tenir compte aussi du fait qu'une décalcification peut altérer ou détruire les Ag.**

### ● Attention

L'usage de fixateurs anciens, une fixation inadéquate ou l'exposition des tissus à un échauffement excessif durant le traitement peuvent produire une sensibilité de marquage réduite et être à l'origine de faux négatifs.

### Échantillon cellulaire

Il existe diverses méthodes de fixation et de préparation des échantillons cellulaires, chacune d'entre

elles présentant des avantages et des inconvénients en fonction de la préparation de l'échantillon (tableau 3-5) :

- étalements (manuels et cytopsots) : fixation à l'air et à température ambiante puis fixation soit par l'acétone ( $\text{CH}_3\text{-CHO}$ ) utilisée à froid pour préserver certaines activités enzymatiques, soit par le PFA à 4 % (paraformaldéhyde) qui stabilise le complexe Ag/Ac, suivie d'une conservation des lames enveloppées séparément dans du papier aluminium au congélateur à  $-20^\circ\text{C}$  ;
- cellules en milieu liquide : fixation des cellules dans une solution alcoolique (fournie par la société de la technique utilisée). Les étalements en couche mince sont ensuite immergés dans un bain d'éthanol  $95^\circ$  au minimum pendant 2 heures avant la technique d'ICC ;
- cytobloc : fixation des cellules dans un fixateur formolé (AFA) avant de suivre une procédure technique histologique standard.

Pour des raisons de bonnes pratiques, il est recommandé de privilégier le cytobloc. L'ICC sur des étalements en couche mince doit être réservée aux échantillons peu cellulaires. L'utilisation de préparations séchées à l'air à température ambiante sans aucune fixation est déconseillée.

### Préparation des lames

Pour une meilleure adhérence des échantillons cellulaires ou des coupes, il est vivement recommandé d'utiliser des lames prétraitées de façon physique (charges électrostatiques), ce qui évite

**Tableau 3-5** Avantages et inconvénients en fonction de la préparation des échantillons cellulaires.

Méthode	Avantages	Inconvénients
Étalement manuel (cytologie conventionnelle)	Simplicité de gestion du matériel Utile pour les échantillons de faible cellularité (nombre limité de lame)	Le nombre de lame étant limité, il n'est pas possible d'évaluer plusieurs marqueurs Les préparations séchées à l'air présentent souvent un bruit de fond et un marquage de moins bonne qualité que les autres méthodes
Étalement en couche mince Monocouche (cytologie en milieu liquide)	Utile pour les échantillons de faible cellularité Cette méthode permet de préserver la morphologie cellulaire et les acides nucléiques Les marquages sont généralement excellents, moins de bruit de fond par élimination des hématies et des débris protéinacés	Un temps excessif (plus de 3 heures) de séjour des cellules dans la solution Cytolyt® (ThinPrep®) peut être la cause de l'échec d'un marquage Les amas tridimensionnels peuvent donner lieu à du bruit de fond
Cytobloc (ou <i>cell bloc</i> )	Permet une bonne préservation de l'architecture et des Ag Autorise la confection de multiples coupes pour une large batterie d'Ac Les marquages par l'IHC sont de bonne qualité sans artefact tel qu'un bruit de fond	Recueillir un produit de ponction suffisamment riche pour confectionner un cytobloc

leur décollement au cours des diverses étapes techniques. Les coupes histologiques doivent subir un séchage en étuve (d'une heure à 58 °C suivie d'un complément de séchage à 37 °C pendant une nuit), être déparaffinées et réhydratées, puis récupérées dans un bain d'eau distillée avant le traitement histochimique.

### ● **Attention**

Un séchage excessif des lames dans l'étuve peut altérer ou détruire les Ag.

Les préparations peuvent être cerclées d'un anneau de matière hydrophobe (après le déparaffinage). Cette barrière a l'avantage d'éviter que les préparations sèchent à cause de la dispersion des réactifs au cours de la manipulation (risque de coloration non spécifique accru), et de les économiser. Il est recommandé de lire les fiches techniques (Ac et stylo hydrophobe) car certaines matières hydrophobes ne sont pas compatibles avec tous les Ac.

### **Anticorps**

Les anticorps sont les réactifs essentiels des réactions immunochimiques qui nécessitent parfois des dilutions en cascade. La dilution d'un Ac peut varier selon la méthode, le protocole, ainsi que le type de fixateur utilisé. Elle doit être adaptée à la technique. Par exemple, pour l'ICC où les cellules ont été fixées en milieu liquide.

### ● **Attention**

La concentration optimale de chaque Ac doit être déterminée par des tests pour chaque type de fixateur et de méthode.

Un anticorps primaire est un Ac dirigé contre l'Ag recherché. C'est le premier Ac mis en contact avec la préparation. Il peut être monoclonal ou polyclonal. Un anticorps secondaire est un Ac dirigé contre un Ac primaire, c'est-à-dire contre les immunoglobulines de l'animal ayant produit l'Ac primaire. Par exemple, si l'Ac primaire est fabriqué chez la souris, l'Ac secondaire est fabriqué chez le lapin et est dirigé contre l'Ac de souris (Ac de lapin anti-souris).

### ● **Recommandations**

Enregistrer pour chaque Ac, le clone, l'espèce, l'isotype, le numéro du lot et les références. Respecter la date de péremption. Veiller à regarder l'origine

de l'Ac primaire lors de l'utilisation d'un Ac secondaire (bien qu'il existe des Ac secondaires « universels » multi-espèces). Tester les nouveaux Ac en parallèle avec les anciens. Pour une meilleure conservation de certains Ac concentrés, aliquoter stérilement puis congeler à -20 °C ; après décongélation, conserver au réfrigérateur à + 4 °C et à l'abri de la lumière (durée d'utilisation maximale 2 mois). Stocker les Ac de façon rationnelle et lisible dans des boîtes de rangement spéciales.

### **Méthodes de révélation**

Il existe de nombreuses variantes techniques correspondant aux différents modes de révélation de la liaison antigène/anticorps ou à des procédés permettant d'amplifier le signal pour augmenter la sensibilité dans le but d'améliorer la qualité des résultats. La plupart du temps, une immunoréaction est réalisée au moyen d'une cascade d'anticorps primaire, secondaire et éventuellement tertiaire. Elles peuvent être classées en deux grandes catégories.

L'**immunoréaction directe** s'effectue en une seule étape. L'Ac est directement conjugué au système révélateur, une enzyme (peroxydase ou phosphatase alcaline) ou un fluorochrome (coumarine : bleu, fluorescéine : vert, rhodamine : rouge). Cette méthode concerne plus l'immunofluorescence pour comparer et décrire les interactions des Ag détectés par un marquage multiple (double marquage en fluorescence rouge et vert). Bien que cette méthode soit très spécifique, la sensibilité de cette immunoréaction est inférieure à celle des techniques indirectes et amplificatrices.

Les **immunoréactions indirectes** sont les plus couramment utilisées. Les systèmes révélateurs sont uniquement enzymatiques et plusieurs étapes se succèdent. La protéine, portant les Ag, est reconnue à l'aide d'un Ac primaire spécifique. Ce dernier est lui-même reconnu par un Ac secondaire couplé à une enzyme (peroxydase, phosphatase alcaline). La révélation se fait à l'aide d'un substrat de l'enzyme (DAB ou AEC pour la peroxydase, fuchsine ou système NBT-BCIP pour la phosphatase alcaline). Il existe de nombreuses méthodes :

- la méthode PAP (peroxydase/antiperoxydase) est fondée sur la formation d'un complexe stable et soluble entre un Ac antiperoxydase et la peroxydase. Un Ac de liaison permet de fixer le complexe PAP à l'Ac primaire ;

- la méthode APAAP (phosphatase alcaline/anti-phosphatase alcaline) est un système similaire à la méthode PAP qui utilise la phosphatase alcaline à la place de la peroxydase. Elle est plus sensible que la méthode PAP;
- la méthode avidine-biotine et streptavidine-biotine repose sur la très forte affinité de l'avidine ou de la streptavidine qui possède quatre sites de fixation pour la biotine. L'Ac secondaire conjugué à la biotine (Ac biotinylé) se fixe sur l'Ac primaire. Le troisième réactif est un complexe d'une enzyme (habituellement la peroxydase) conjugué à l'avidine ou à la streptavidine (cf. fig. 3-72). Cette méthode est très utilisée en raison de sa sensibilité et de sa fiabilité. Elle sert de base à de nombreux kits ou coffrets commerciaux où tous les produits sont prêts à l'emploi, tels que le kit LAB (*labelled avidin-biotin*) ou le complexe ABC (*avidin-biotin-complex*) qui est considéré comme une méthode de choix pour le diagnostic.

L'avidine est une protéine glycosylée extraite du blanc d'œuf de poule. La streptavidine est une molécule glycosylée provenant d'une protéine bactérienne (*Streptomyces avidinii*). La biotine (ou vitamine H) est une coenzyme des carboxylases, présente dans de nombreux tissus tels que le foie, le poumon, le rein. Elle est soluble dans l'eau. La biotinylation d'un Ac n'altère pas ses propriétés de liaison à l'Ag ni ses autres propriétés physiques.

**À noter : un kit « universel » est capable de reconnaître des Ac produits chez différentes espèces et peut être utilisé pour les Ac monoclonaux ou polyclonaux produits par ces espèces.**

### Prétraitement des échantillons

Dans de nombreux cas, les antigènes présents sont peu ou pas accessibles, car ils sont soit masqués (entourés) par d'autres molécules, soit dans une configuration spatiale non reconnue par l'Ac. Si l'on veut les marquer, il est nécessaire de faire un prétraitement qui permet de rompre les liaisons moléculaires créées par le fixateur.

L'activité antigénique peut être partiellement restaurée par l'action d'enzymes protéolytiques, par des agents dénaturants ou par la chaleur. Ces

techniques sont d'une pratique courante pour améliorer l'intensité des marquages et sont généralement connus sous le nom de démasquage antigénique.

### ● Attention

Ces méthodes ont l'inconvénient de faciliter le décollement de la préparation. Utiliser des lames spéciales (chargées positivement) qui permettent une meilleure adhésion. Les coupes au cryostat ne résistent généralement pas à un traitement à la chaleur (elles se décollent ou sont détruites).

### Digestion protéolytique (ou enzymatique)

L'utilisation d'une prédigestion enzymatique (papaïne, pepsine, pronase ou trypsine) peut dégager l'antigène et permettre une meilleure accessibilité à l'épitope (en coupant les acides aminés spécifiques) et augmenter ainsi le signal de la réaction. Elle peut également, si elle est trop prolongée, dénaturer certains épitopes. C'est un procédé (utilisé principalement pour les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine) qui dépend du type d'enzyme utilisé ainsi que de l'antigène recherché. Le démasquage enzymatique peut être précédé ou suivi d'un démasquage à la chaleur. Cependant, les conditions optimales de digestion varient grandement et dépendent de la combinaison fixation/antigène et du protocole utilisé.

### Démasquage par la chaleur

La restauration antigénique au moyen de procédés chimique et thermique permet de gommer les imperfections de certains fixateurs et d'annuler les effets d'une éventuelle surfixation. Elle est rendue possible grâce à deux phénomènes qui agissent en synergie, la dénaturation par la chaleur (effet calorique) et la dénaturation chimique (acide ou base). Un immunomarquage optimal pour certains anticorps peut donc nécessiter un tampon à un pH spécifique (H<sup>+</sup> en solution) et de molarité différente (tampon citrate : mélange d'acide citrique et de citrate de sodium), une solution d'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique).

Le chauffage des lames peut être réalisé dans un four à micro-ondes, un bain-marie ou un autocuiseur (cocotte minute), chacun ayant la même efficacité. Cependant, il est important de respecter

la durée et l'intensité (plus la température du prétraitement est importante, plus la durée de celui-ci est courte), la qualité du tampon (pH et température initiale), ainsi que la répartition des lames. La technique au four à micro-ondes est le système le plus couramment utilisé.

### Système révélateur

Un Ac n'étant pas spontanément visible, il faut donc le marquer afin de le détecter en lui attachant une molécule perceptible à l'œil. La révélation se fait en présence d'une enzyme réagissant avec un substrat (qui sert de base) et un chromogène (composé organique contenant un chromophore) pour former un dépôt coloré visible au niveau du site antigénique. Les enzymes les plus couramment utilisées sont la peroxydase (extraite du raifort : radis noir) et la phosphatase alcaline. Un inconvénient potentiel est leur présence endogène au sein des tissus et des cellules, ce qui peut provoquer des réactions faussement positives, c'est-à-dire ne correspondant pas à la localisation du marquage et donc à l'Ag recherché.

#### ● Attention

Les produits de réaction étant sensibles à la lumière, les solutions doivent être préparées extemporanément. Les préparations pour la fluorescence sont conservées à l'obscurité pour éviter d'atténuer son intensité (*fading*).

### Peroxydase

Dans un premier temps, la peroxydase se combine avec son substrat qui est l' $H_2O_2$  (peroxyde d'hydrogène) pour former un complexe. Dans un second temps, le complexe réagit avec le chromogène  $H_2$  qui joue le rôle de donneur d'électrons. Il en résulte une oxydation de ce dernier avec polymérisation, précipité et formation d'un dépôt coloré repérable au microscope optique. La montée de la réaction peut être surveillée au microscope. Pour arrêter cette réaction, il suffit de laver les préparations dans de l'eau déminéralisée.

Le chromogène le plus utilisé est la 3,3-diaminobenzidine (DAB) qui donne un précipité marron insoluble dans l'alcool. Le marquage obtenu est stable dans le temps. Il est plus sensible que le 3-amino-9-éthyl carbazole (AEC) de couleur rouge magenta.

#### ● Attention

La DAB est une substance potentiellement cancérigène, la manipuler avec des gants.

### Phosphatase alcaline

Elle résulte de l'hydrolyse d'un substrat naphтол phosphate. Les groupements phénols sont libérés, ils se lient au chromogène pour former un complexe coloré repérable au microscope optique. Cette technique se différencie donc par le mode de révélation, sans inhibition préalable des peroxydases endogènes mais avec une activité phosphatase alcaline endogène à inhiber par le lévamisole. Son principal défaut comme enzyme marqueur est sa présence naturelle dans de nombreux tissus, ce qui la rend beaucoup moins utile dans les détections sur coupes histologiques.

Le chromogène utilisé peut être le Fast-red qui donne un précipité rouge soluble en milieu alcoolique, le NBT-BCIP qui est bleu foncé/violet. Les lames doivent être montées en milieu aqueux ; par exemple, le Mowiol, qui est un adhésif (polymère d'alcool polyvinylique) soluble dans l'eau.

#### ● Attention

Ne pas utiliser une solution tampon contenant du phosphate (PBS) car il inhibe la réaction du substrat.

### Quantums dots

L'émission de fluorescence des quantum dots (Q-dots) – nanoparticules synthétiques fluorescentes – permet de les utiliser comme marqueurs en immunochimie (ICC et IHC). Pour utiliser les propriétés optiques d'un quantum dot, il est nécessaire de le coupler avec une molécule d'intérêt (enzyme, immunoglobuline, protéine), dont le rôle est d'apporter une spécificité en surface du nanocristal, permettant de repérer des sites antigéniques. Cette conjugaison se fait via des lipides fonctionnels d'adhésion. L'interprétation se fait au microscope à fluorescence avec des filtres adaptés aux longueurs d'onde choisies. Le signal est plus régulier, plus net, plus brillant et intense que les deux autres systèmes révélateurs.

En pathologie tumorale, ce système de révélation est utile pour la détection d'événements rares, comme les micrométastases parfois difficiles à

mettre en évidence par des systèmes classiques, ou faciliter le diagnostic des cas compliqués.

### Blocage des peroxydases endogènes

La première possibilité de marquage non spécifique peut être due à la révélation de peroxydases endogènes présentes notamment dans les polynucléaires et les macrophages (activité pseudo-peroxydasique des globules rouges). La seconde possibilité est l'absorption passive des immunoglobulines sur certaines structures cellulaires. Pour cela, on sature au préalable tous les sites par de la BSA à 1 % (albumine bovine sérique) que l'on rajoute dans le tampon de dilution du sérum normal ainsi que dans le tampon de dilution des Ac.

Les méthodes utilisant une révélation en peroxydase nécessitent une étape d'inhibition des peroxydases endogènes afin de minimiser le bruit de fond (marquages parasites qui gênent la visualisation des marquages spécifiques) et d'éviter les faux positifs. Elle se fait par de l'eau oxygénée à 3 % ( $H_2O_2$ ), ce qui permet de les fixer et de les épuiser simultanément. L'eau oxygénée est disponible en solution dont la concentration est indiquée soit en pourcentage, soit en volume.

#### ● Attention

Le peroxyde d'hydrogène provoque des brûlures, le manipuler avec des gants en nitrile. Une solution d'eau oxygénée de titre incorrect est une des causes d'insuccès dans les techniques de révélation à la peroxydase. L' $H_2O_2$  est en même temps substrat et inhibiteur de la peroxydase.

### Contre-coloration

Une contre-coloration des préparations rend possible le repérage topographique du marquage des antigènes recherchés (cytoplasmique, membranaire, nucléaire ou de la matrice extracellulaire) et permet de représenter les autres structures morphologiques. Le temps d'incubation de la contre-coloration est fonction de la concentration de l'hématoxyline employée et de l'intensité de coloration souhaitée.

### Réalisation de témoins

Des contrôles négatifs et positifs, fixés et traités de la même manière que les préparations cellulaires

ou tissulaires, doivent être à chaque fois effectués en même temps que la technique immunochimique, excepté si la préparation contient un témoin interne positif connu. Ces témoins – lignées cellulaires (population homogène de cellules), matériel cytologique ou histologique – d'immunoréactivité connue servent à indiquer que le traitement et la manipulation des échantillons ont été effectués correctement. Ils sont nécessaires à la validation et à l'interprétation correcte de tout immunomarquage, et peuvent être comparés avec des témoins dits de référence. L'analyse de ces témoins internes permet de juger de la spécificité du marquage obtenu et de la bonne qualité technique, et de comparer l'intensité du marquage (faible ou +, moyenne ou ++, intense ou +++; cf. fig. 3-73a à d). Une fausse négativité des témoins positifs peut être due à une mauvaise fixation. Un marquage hétérogène (certaines zones étant fortement positives et d'autres négatives) indique une conservation inégale des sites antigéniques dont il faut tenir compte pour l'interprétation des autres marquages.

#### ● Attention

Si le contrôle négatif présente une coloration positive ou si un contrôle positif ne présente pas de marquage, les résultats obtenus pour les autres préparations doivent être considérés comme suspects ou invalides.

L'intensité du marquage d'une immunoréaction peut être estimée par un pathologiste au microscope ou aux moyens d'outils informatiques après numérisation des lames. Dans le premier cas, cette estimation est subjective, car elle nécessite une expérience de la lecture et de l'interprétation des préparations. Dans le second cas, elle peut être plus objective par l'utilisation d'analyseur d'images.

→ **En savoir plus sur l'immunochimie :** cf. catalogue des procédés techniques, p. 115.

### Techniques complémentaires

Dans un certain nombre de situations, des techniques complémentaires (colorations spéciales, immunochimie, cytométrie en flux, biologie moléculaire, cytogénétique) demandées par le clinicien

ou le pathologiste doivent être mises en œuvre dans le but d'apporter des compléments d'information plus précis sur la nature de la lésion. La plupart de ces techniques peuvent être réalisées à partir d'un fragment tissulaire ou d'un produit de ponction.

→ **En savoir plus sur les techniques complémentaires** : cf. catalogue des procédés techniques, p. 126.

## Microscopie optique

Le microscope constitue un outil indispensable au pathologiste pour l'étude des préparations cellulaires et tissulaires, mais également au (à la) technicien(ne) pour contrôler la bonne qualité de ses colorations ou pour analyser certaines préparations. Ce dispositif optique permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions et de séparer les détails d'une image par le jeu de l'association de deux groupes de lentilles, l'oculaire côté œil et l'objectif côté objet. Dans une configuration normale, on utilise des oculaires  $\times 10$  ainsi que des objectifs ( $10 \times$ ,  $20 \times$ ,  $40 \times$ ,  $60 \times$  et  $100 \times$  à immersion). La multiplication du grossissement de l'objectif par celui de l'oculaire permet d'obtenir le grossissement du microscope (oculaire de  $10 \times$  objectif de  $40 =$  grossissement  $400$ ).

De nombreux modèles existent. Un microscope est un appareil fragile qui doit être manipulé avec précaution et soin. Il est fondamental que les parties optiques restent extrêmement propres. Prendre l'habitude de le protéger par une housse de la poussière et des petites saletés qui peuvent se déposer sur les surfaces optiques, ce qui entraînerait une diminution des performances et de la qualité de l'image.

### Microscopie optique (ou photonique)

La lumière, composée de photons (particules élémentaires médiatrices de l'interaction électromagnétique), passe à travers un condenseur qui concentre le flux lumineux en un rayon de lumière. Cette lumière ainsi focalisée traverse l'échantillon.

Les microscopes photoniques utilisent la déviation des particules non chargées (photons). L'illumi-

nation se fait par transmission de lumière blanche, c'est-à-dire que l'échantillon est illuminé par-dessous et observé par-dessus. La lumière polarisée est observée au microscope optique après insertion de deux filtres polarisants appelés polarisateur et analyseur. Elle est utilisée pour la détection d'éléments biréfringents (dichroïsme vert jaune du rouge Congo fixé sur la substance amyloïde). Le dichroïsme est la propriété que certaines substances ont d'absorber de façon spécifique la lumière polarisée dans un certain plan.

### Microscopie à fluorescence

La fluorescence est une émission lumineuse provoquée par diverses formes d'excitation autres que la chaleur. La source de lumière est généralement une lampe à arc à haute pression de vapeur de mercure (Hg) ou de xénon (Xe). La lumière émise est polychromatique, la longueur d'onde d'excitation est sélectionnée au moyen du filtre d'excitation. La lumière est ensuite réfléchiée par un miroir dichroïque (qui est réfléchissant à certaines longueurs d'onde et transparent à d'autres) vers l'objectif qui focalise le faisceau lumineux sur l'échantillon. La fluorescence émise par l'échantillon retourne à travers l'objectif vers le miroir dichroïque et traverse celui-ci. L'image est observée à travers les oculaires ou mémorisée à l'aide d'un appareil photographique de type numérique.

Un microscope à fluorescence est équipé de deux lampes, l'une ordinaire pour une observation classique par transmission et l'autre à arc ou à laser pour la fluorescence. Il est pourvu de plusieurs jeux de filtres correspondant aux fluorochromes les plus habituellement utilisés. À chaque agent fluorescent correspond un ensemble filtre d'excitation + miroir dichroïque + filtre d'arrêt. Ces trois éléments sont contenus dans un cube. Plusieurs cubes peuvent être montés sur la tourelle ou un coulisseau de telle sorte que changer de cube en fonction du traceur à observer est immédiat.

Les **fluorochromes** (dérivés du xanthène) rendent possible l'identification des substances, des cellules, des molécules non fluorescentes avec une grande précision et une grande spécificité. Ce sont des marqueurs fonctionnant comme des colorants en se liant à certains éléments constitutifs de la

cellule. Il existe un grand choix de fluorophores de couleurs (longueur d'onde d'émission) différentes, chacun pouvant être caractérisé par des spectres d'excitation (ou d'absorption) et d'émission (cf. fig. 3-78b). Les plus couramment utilisés sont la coumarine (bleu), la fluorescéine (vert) et la rhodamine (rouge). La fluorescéine est soluble dans l'eau mais est peu photostable. Elle est sensible aux variations de pH. La rhodamine est plus photostable que la fluorescéine et insensible aux variations de pH. Cependant, elle est moins brillante que la fluorescéine.

La couleur verte se distingue parfaitement de la couleur rouge-orange. La fluorescence dans le bleu est surtout utilisée pour visualiser les noyaux des cellules (le DAPI, utilisé pour la contre-coloration, est un agent intercalant spécifique de l'ADN; cf. fig. 3-75c).

Les préparations doivent être regardées rapidement car l'intensité de la fluorescence diminue avec le temps. Le terme de *fading* est utilisé pour décrire une diminution de fluorescence qui peut avoir des origines différentes comme le temps d'exposition à la lumière d'excitation (*photo bleaching*) ou au cours du temps sans intervention de cette lumière.

Les **quantum dots** (Q-dots) ou boîtes quantiques sont des nanocristaux (2 à 50 nm de diamètre) de semi-conducteurs qui ont la propriété d'émettre de la fluorescence. Chaque quantum dot possède un spectre d'absorption très large, mais un pic d'émission très étroit, permettant la visualisation d'une couleur très précise à l'aide d'un filtre adapté. Leurs propriétés spectrales uniques offrent la possibilité de travailler en multicolore simultanément. De plus, ils sont photo-chimiquement stables et ont une fluorescence plus brillante, plus intense et plus longue que les fluorophores classiques (FITC : isothiocyanate de fluorescéine, rouge Texas; cf. fig. 3-74f).

## Microscopie électronique

Un microscope électronique emploie la propagation des électrons à laquelle est associée une longueur d'onde beaucoup plus courte que celle de la lumière. Une gerbe d'électrons est condensée sur une partie d'échantillon (de l'ordre de quelques

nanomètres au dixième de millimètre). Une lentille magnétique permet de former une image de l'objet avec les électrons qui interagissent fortement avec la matière traversée.

Le pouvoir de résolution du microscope électronique (pouvant atteindre un grossissement de  $\times 5\,000\,000$ ) permet de faire une étude détaillée de l'ultrastructure cellulaire et tissulaire. Il existe deux variantes de la microscopie électronique. Le microscope à transmission est un appareil qui bombarde l'objet par des électrons qui forment une image très agrandie de l'objet en noir et blanc sur un écran fluorescent ou une plaque photographique. L'émission des électrons est produite par chauffage d'un filament de tungstène ou d'un cristal d'hexaborure de lanthane. Le microscope à balayage est un appareil qui balaie l'échantillon d'un faisceau d'électrons pour donner une impression d'image en pseudo-3D.

## Parties mécaniques d'un microscope classique

Le statif est un support rigide comportant un pied très lourd qui assure la stabilité de l'ensemble et une potence qui supporte le tube optique, une platine porte-objet, les boutons de réglage macrométrique et micrométrique, et le condenseur mobile. La platine porte-objet est mobile et présente un orifice central permettant le passage des rayons lumineux. Elle reçoit les préparations qui sont maintenues par les deux valets de la surplatine. Son déplacement vertical permet la mise au point. Le déplacement de gauche à droite et d'avant en arrière à l'aide de molettes permet l'exploitation méthodique des lames. Deux échelles graduées (les Verniers) permettent un repérage très précis (au dixième de millimètre) et de noter les coordonnées d'une zone significative d'une préparation. La tourelle porte-objectifs (ou revolver) est un disque tournant situé à la partie inférieure du tube optique. Ce dispositif rotatif est percé de trois à sept trous à filetage normalisé permettant le vissage des objectifs. La tête porte-oculaires peut être binoculaire ou trinoculaire et est conçue pour la photomicrographie. Pour une tête binoculaire, l'image passe dans une série de prismes et est ainsi séparée en deux images dirigées chacune vers un



**Fig. 3-3** Microscope à fluorescence équipé d'une caméra reliée à deux écrans via un ordinateur.

oculaire. L'écart entre les deux oculaires est réglable en fonction de la distance interpupillaire de l'observateur. L'utilisation d'une caméra vidéo transmet l'image du microscope vers l'ordinateur pour la visualiser sur un écran et/ou faire des acquisitions numériques (fig. 3-3). La commande de mise au point permet d'obtenir une image nette en modifiant la distance objectif/lame. Elle se fait grâce à une vis micrométrique munie d'un tambour gradué. Les boutons coaxiaux macrométrique (mise au point rapide) et micrométrique (mise au point fine) sont situés de part et d'autre du statif.

### Dispositif d'éclairage

Les microscopes disposent généralement d'un éclairage incorporé dans la partie basale du statif et parfois placé en dehors pour éviter l'échauffement de celui-ci. Une ampoule halogène bas voltage émet une lumière qui est dirigée grâce à une lentille collectrice vers un miroir incliné à  $45^\circ$  qui renvoie la lumière verticalement vers le condenseur.

L'intensité lumineuse se règle avec un potentiomètre et une bague contrôle le diaphragme de champ. Il est situé à la sortie du système d'éclairage dans le socle et permet d'ajuster le diamètre de la zone éclairée avec le diamètre de la zone observée. Pour augmenter les contrastes, différents filtres peuvent être utilisés. Un filtre bleu élimine la dominante orange rougeâtre, un jaune la dominante bleue, un vert la dominante violette.

### Condenseur

Il est situé entre la préparation et le dispositif d'éclairage. C'est un système optique qui contrôle le cône lumineux envoyé sur la préparation. Il est monté sur une glissière qui permet d'en régler la hauteur en fonction du grossissement recherché. Il contient également le diaphragme d'ouverture qui permet d'élargir ou de resserrer les cônes de rayons lumineux générés par la source d'éclairage. La qualité de l'image dépend du bon réglage de ces deux éléments.

La lumière issue du condenseur converge vers la préparation. Lors de son passage à travers la préparation, la lumière devient divergente et forme un cône inversé qui est capté par la lentille frontale de l'objectif. La valeur angulaire est contrôlée par le diaphragme d'ouverture situé à la base du condenseur.

### Oculaires

L'oculaire est caractérisé par son grossissement et son indice de champ qui correspond au diamètre de la zone circulaire observable sur la préparation. Il possède trois fonctions principales : grossir l'image intermédiaire formée par l'objectif, corriger certaines aberrations résiduelles et donner une image plus plane et plus nette ; il porte parfois un dispositif de mesure ou de repérage. L'oculaire de Huygens est le plus simple, les aberrations ne sont pas correctement corrigées. Les oculaires compensateurs donnent de meilleures images. Les oculaires aplanétiques permettent d'obtenir des images nettes jusqu'au bord du champ optique, ils sont à utiliser avec des objectifs plans. Les oculaires grands champs permettent d'accroître l'indice de champ et de regarder avec des lunettes.

Suivant l'équipement optique du microscope et les performances recherchées plusieurs types d'oculaires existent. Pour les identifier, une inscription numérique ( $\times 10$ , par exemple, correspondant au grossissement) ainsi qu'un sigle sont notés sur leur monture. Certains disposent d'un réglage dioptrique permettant de récupérer une éventuelle différence d'acuité visuelle. L'utilisation d'ocillon en caoutchouc, qui se placent sur les oculaires, permet d'éviter des entrées de lumière parasite et des reflets.

## Objectifs

Ils donnent une image réelle, inversée et agrandie de l'objet. Les objectifs sont définis par plusieurs caractéristiques certaines étant gravées sur le fût de l'objectif, mais ces indications ne sont pas standardisées. Des précautions sont à prendre dans leur manipulation pour ne pas les abîmer lors de la mise au point. Certains objectifs sont munis d'une tête rétractable qui permet d'éviter la détérioration de la lentille frontale.

L'ouverture numérique (NA) correspond à la capacité à capter les rayons lumineux diffractés (envoyés obliquement pour simplifier à l'extrême) par l'objet éclairé. Plus l'objectif est puissant, plus son ouverture numérique est grande, plus son angle de capture augmente et est apte à montrer les petits détails.

Le grossissement (ou grandissement) est le rapport entre la taille de l'image formée par l'objectif et la taille de l'objet. Un anneau de couleur conventionnelle permet d'identifier le grandissement des objectifs (tableau 3-6).

La distance de travail (ou distance frontale) correspond à la distance entre la lamelle et la lentille frontale de l'objectif. Plus l'objectif a un grandissement important, plus cette distance diminue (1/10 de millimètre pour un objectif 100 × à immersion).

L'immersion est une technique de microscopie optique qui augmente le pouvoir séparateur (ou résolvant) des objectifs en plaçant entre la lentille frontale de l'objectif à immersion et la lame couvre-objet une goutte d'huile à immersion. Ces objectifs décèlent les plus fins détails d'une préparation. Ils sont pourvus d'un amortisseur permettant d'éviter de briser la lamelle en verre.

L'objectif à immersion est l'objectif qui a le plus fort grossissement. Il est dit à immersion car sa puissance ne peut être atteinte qu'en éliminant la lame d'air entre l'échantillon couvert par la lamelle et la frontale de l'objectif. L'huile à immersion est

une huile de synthèse incolore non résinifiable disponible en différentes viscosités dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre. Elle remplace l'air entre l'objet et l'objectif, et permet la propagation de la lumière à la même vitesse que dans le verre évitant ainsi la déformation de l'image.

## ● Attention

Seul l'objectif à immersion est prévu pour fonctionner dans l'huile. Ne pas mettre d'huile sur un objectif à sec. Regarder les codes couleur et les indications portées sur le fût de l'objectif.

## Réglage du microscope

Une préparation s'observe à un faible grossissement pour repérer les zones intéressantes, puis à un grossissement supérieur pour bien visualiser tous les détails. Le réglage n'est valable que pour une personne donnée et doit être refait à chaque changement d'utilisateur. Le principe est identique pour tous les microscopes :

- mettre sous tension le système d'éclairage;
- ouvrir en grand les diaphragmes de champ (dans le socle) et d'ouverture (dans le condenseur);
- positionner la préparation sur la platine;
- régler l'écartement interpupillaire (on doit voir une image unique et circulaire);
- régler les dioptries des oculaires;
- mettre au point avec l'objectif (10 ×, par exemple);
- régler l'intensité lumineuse à l'aide du potentiomètre (une lumière trop vive fatigue plus vite);
- régler le diaphragme de champ;
- régler la hauteur du condenseur (plus le grossissement est important, plus il doit être près de la préparation);
- régler le diaphragme d'ouverture;
- placer éventuellement un filtre coloré.

Le réglage pour l'observation des préparations se fait de la manière suivante :

- approcher l'objectif le plus faible au plus près de la préparation et mettre au point en

**Tableau 3-6** Codes couleur permettant d'identifier le grandissement des objectifs.

Grandissement	1 ×	2 ×	4 ×	10 ×	20 ×	40 ×	50 ×	60 ×	100 × (immersion)
Code coloré	Noir	Marron	Rouge	Jaune	Vert	Bleu clair	Bleu clair	Bleu cobalt	Blanc

- augmentant la distance de travail progressivement à l'aide de la vis macrométrique puis de la vis micrométrique ;
- pour passer au grossissement supérieur, tourner le revolver pour changer d'objectif et l'aligner correctement sur la préparation. Faire la mise au point à l'aide de la vis micrométrique ;
  - avec les objectifs 40 × et supérieurs, utiliser uniquement la molette de déplacement micrométrique sous peine d'endommager la préparation si celle-ci n'est pas protégée par une lamelle ;
  - pour regarder à immersion, déposer une goutte d'huile sur la préparation et y tremper l'objectif prévu à cet effet. Une fois l'observation terminée, essuyer minutieusement l'objectif soit avec un papier optique, soit avec un chiffon doux ou imprégné d'un peu d'éthanol à 90°. La préparation doit l'être également.

## Compte rendu

Les résultats sont donnés sous la forme d'un compte rendu écrit dans lequel les lésions sont décrites. Ce compte rendu est rédigé au terme de l'interprétation des préparations microscopiques et le cas échéant des méthodes complémentaires utilisées (colorations spéciales, immunochimie) pour aboutir à une conclusion synthétique précise, au diagnostic ou aux hypothèses de diagnostic. L'usage d'une classification internationale comme celle de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et d'une terminologie codée selon le code CIM-O (classification internationale des maladies oncologie) peuvent être utilisées.

Pour un examen cytologique, un compte rendu définitif peut être rendu en moins de 24 heures, tandis que les délais de réponse pour un examen histologique varient de 24 à 36 heures au minimum à plusieurs jours en fonction des contraintes techniques (fixation, décalcification), des difficultés d'analyse (nécessité de techniques complémentaires) et de l'activité du laboratoire.

Le compte rendu anatomo-cytopathologique est daté et signé par le pathologiste. Il devient un élément du dossier médical du patient. Il est couvert par le secret médical. Dans certaine structure, le compte rendu validé (accompagné de

photographies numériques de la pièce chirurgicale et/ou des aspects macroscopiques et microscopiques) est automatiquement basculé dans le dossier médical informatisé (DMI) du patient.

## Archivage

La durée de l'archivage des blocs d'inclusion et des préparations microscopiques est de plusieurs années, voire indéfiniment pour une structure hospitalière. Elle est réglementée par le décret 88-280 du 24 mars 1988 pour la pathologie libérale et l'arrêté du 11 mars 1968 relatif aux archives hospitalières. Le cahier des examens (consignés par numéro d'enregistrement) doit être conservé indéfiniment.

Les blocs de paraffine ainsi que les lames sont archivés dans un ordre croissant dans des racks prévus à cet effet afin de permettre une consultation facile et rapide. La conservation des prélèvements cryopréservés nécessite une infrastructure lourde (congélateurs à -80°C, cryoconservateurs à azote liquide).

## Histologie

### Définition

L'histologie correspond à l'examen de prélèvements tissulaires obtenus soit par biopsie (fig. 3-4a), soit par dissection d'une pièce opératoire ou d'organes au cours d'une intervention chirurgicale. L'étude anatomopathologique repose sur l'aspect macroscopique des lésions, l'analyse des cellules et des tissus par diverses méthodes principalement basées sur la morphologie. Elle a pour but de confirmer ou de préciser le diagnostic d'une lésion, et de fournir le bilan topographique, surtout s'il s'agit d'un cancer.

Afin que cette étude soit réalisable, une suite d'étapes complexes qui doivent s'enchaîner avec rigueur et précision est nécessaire (fig. 3-4b et c). Chacune d'entre elles est importante et la qualité de leur réalisation est primordiale pour obtenir une section tissulaire suffisamment fine (fig. 3-4d) pour être traversée par les rayons lumineux et



**Fig. 3-4** Étapes histologiques.

- Microbiopsie au pistolet (après anesthésie locale) d'une masse sus-claviculaire.
- Fixation des « carottes » tissulaires prélevées.
- Fragments biopsiques placés en cassette.
- Bloc d'inclusion en paraffine et coupe tissulaire colorée par l'hématoxyline éosine safran (HES).
- Image microscopique HES (tumeur mésoenchymateuse).

colorée (fig. 3-4e), car les tissus sont incolores, afin d'analyser les structures au microscope optique.

## Fixation

La fixation tissulaire est un temps essentiel qui conditionne toutes les étapes ultérieures. Le choix de la fixation (chimique ou physique) doit être impérativement décidé au moment du

prélèvement selon l'étude à laquelle il est destiné. Elle doit être immédiate ou au moins très rapidement débutée après un examen extemporané. Elle a pour fonction principale de conserver les différents éléments structuraux des tissus.

### ● Attention

Toute fixation défectueuse rend une étude difficile, voire impossible.

### Principe et but d'une fixation chimique

Son principe repose principalement sur l'utilisation d'un mélange de réactifs pouvant assurer une bonne fixation des protéines, importante dans le maintien de la structure (morphologie) des tissus. De plus, le fixateur doit posséder des propriétés polaires pour une bonne miscibilité à l'eau contenue dans les tissus. Elle a pour but de :

- bloquer les enzymes endogènes responsables de la destruction des organites cellulaires et la pulvulation microbienne (tous les fixateurs sont des antiseptiques);
- maintenir les structures cellulaires, tissulaires et moléculaires dans un état aussi proche que possible de l'état physiologique;
- préserver leur réactivité pour une étude immuno-histochimique;
- préparer l'inclusion en paraffine.

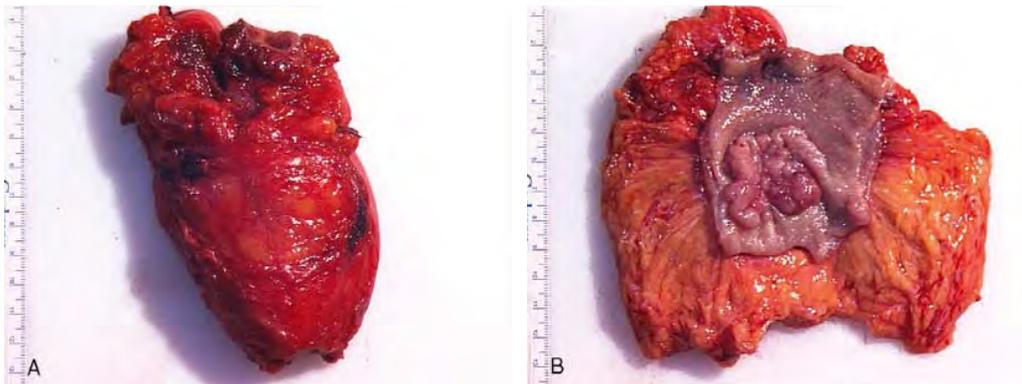
La fixation se développe progressivement à partir des surfaces en contact avec le fixateur. De ce fait, le fixateur doit être placé en premier dans le contenant afin que la pièce ne colle pas à ses parois. La taille et la forme du contenant (flacon, boîte cassette, sceau) doivent être adaptées à la pièce à fixer. Il doit être de taille suffisamment grande pour prévenir les déformations des pièces chirurgicales volumineuses.

La pièce ou le(s) prélèvement(s) doivent être immergés dans un fixateur de qualité dans un délai le plus bref possible tout en respectant un rapport adéquat (environ 20 à 50 fois le volume de la pièce) et pour les pièces importantes (3 à

4 fois leur volume). Les agents fixateurs pénètrent le tissu à des vitesses qui sont particulières à chacun (plus un tissu est dense, plus il est difficile à l'agent fixant de le pénétrer). La durée de la fixation dépend de la taille (l'épaisseur) du prélèvement (au minimum 2 heures pour une biopsie et 12 à 24 heures suffisent généralement pour une pièce chirurgicale), et de la température qui a une influence. Pour les petites pièces (biopsie, curetage), elle se fait par immersion immédiate dans le fixateur (*cf.* fig. 3-4b). Pour une pièce chirurgicale (fig. 3-5a), elle se fait après son ouverture suivant son plus grand axe (fig. 3-5b). Les organes creux (tube digestif, vésicule biliaire...) sont si nécessaire ouverts afin de prévenir l'autolyse des muqueuses et lavés de leur contenu. Les organes pleins (foie) sont entaillés (fig. 3-6) ou coupés selon la procédure liée au type de pièce pour faciliter la pénétration rapide et homogène du fixateur. Pour une fixation parfaite des organes les plus délicats, le fixateur peut être préalablement injecté dans les bronches, par exemple, pour le poumon, avant d'être immergés dans la solution fixatrice. Les prélèvements en attente de la prise en charge macroscopique sont stockés dans une armoire ventilée.

### Principaux fixateurs

Un fixateur est un milieu qui préserve les structures tissulaires pour l'étude morphologique ultérieure. Ce procédé de conservation (le plus couramment utilisé) fait intervenir des substances



**Fig. 3-5** Résection d'un rectum.

a. Pièce chirurgicale entière.

b. Pièce chirurgicale après ouverture suivant son plus grand axe avant fixation.



**Fig. 3-6** Pièce chirurgicale entaillée avant fixation (hépatectomie).  
Le nodule blanchâtre correspond à une métastase d'un mélanome malin.

qui réagissent chimiquement avec les constituants des cellules et des tissus. Les meilleurs fixateurs sont ceux qui tout en agissant rapidement produisent le moins possible de modifications secondaires ou d'artefacts susceptibles de donner une fausse idée de la morphologie interne des tissus. La plupart des fixateurs histologiques sont à base de formaldéhyde. Le formaldéhyde est l'agent fixant le plus utilisé en pathologie et constitue le référentiel standard pour toute activité ACP en routine. Il existe de nombreux mélanges fixateurs, chacun correspondant à un avantage et à une indication particulière. Bien que des substituts au formaldéhyde (solutions considérées comme moins toxiques) soient disponibles, leur utilisation en routine n'est pas encore possible en raison de nombreuses difficultés techniques à résoudre.

**Fixateur aqueux** : le formaldéhyde (à 4 % ou à 10 % neutre et/ou tamponné) est l'agent de fixation le plus couramment utilisé pour fixer les tissus qui sont inclus en paraffine. Ces solutions sont préparées avec du «formol» commercial (40 % de formaldéhyde pH 3–3,5). Ce sont de bons fixateurs de routine, ils pénètrent bien les tissus sans trop les durcir. Si l'on utilise une solution non tamponnée, la coloration cytoplasmique est faible.

- Formol neutre : formol à 40 % à diluer dans de l'eau déminéralisée, ajuster le pH à 7 avec de la soude (NaOH).

- Formol tamponné : formol à 40 % à diluer dans une solution tampon (PBS pH 7,4) pH = 6,6–6,8.
- Formol neutre tamponné : formol à 40 % à diluer en tampon PBS, neutralisation avec du carbonate de calcium.

**Fixateur aqueux et alcoolique** : l'AFA (composé d'un mélange de 5 % d'acide acétique, 2 % de formaldéhyde, 75 % d'éthanol 95°, QSP 18 % d'eau déminéralisée) fixe rapidement les tissus.

Le formaldéhyde ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) commercialisé est généralement vendu sous la dénomination de «formol» lorsqu'il est en solution aqueuse. C'est un liquide incolore et très inflammable. Il peut agir seul ou combiner son action à celle d'autres agents fixateurs. Si les délais de fixation sont respectés, il ne provoque pas de durcissement ni de rétraction exagérée des tissus et leur laisse leur couleur d'origine. C'est un agent pontant, c'est-à-dire qu'il forme des ponts méthyléniques interprotéiques et consolide l'architecture des tissus. Il a pour but de :

- conserver la structure morphologique cellulaire et tissulaire, et éviter l'autolyse des tissus en bloquant les réactions enzymatiques ;
- rendre les membranes plasmiques perméables aux colorants et aux anticorps ;
- préserver des structures réactives pour permettre des études complémentaires.

### ● Attention

Le formaldéhyde est un produit toxique par inhalation et par contact avec la peau. Le manipuler avec des gants en nitrile et une protection respiratoire.

L'acide acétique ( $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ) est un liquide incolore qui a une odeur particulièrement aigre (celle du vinaigre). Il est miscible avec l'eau et l'éthanol. Il coagule les protéines en un réseau dense et les modifie assez considérablement. Il n'exerce aucun effet sur les glucides et les lipides à part une dissolution de certains d'entre eux. Sa vitesse de pénétration dans les tissus est grande et il a très peu d'effet durcissant. Il gonfle les tissus (particulièrement évident sur des structures comme les fibres de collagène) mais procure une excellente préservation des nucléoprotéines de l'ADN et assure donc une meilleure coloration nucléaire.

L'éthanol ou alcool éthylique ( $C_2H_5-OH$ ) est un liquide volatil, incolore, inflammable, miscible en toutes proportions avec l'eau. Il pénètre les tissus relativement rapidement tout en les rétractant énormément, de plus il les durcit de façon excessive. Il dénature les protéines, ce qui entraîne leur coagulation, par contre il ne coagule pas les nucléoprotéines. Il exerce sur les glucides la précipitation du glycogène et ne constitue pas un bon fixateur des lipides car il en dissout un certain nombre.

**À noter :** la fixation par le liquide de Bouin (caractéristique par sa couleur jaune) est formellement déconseillée, voire interdite à cause de l'un de ses composants (l'acide picrique, composé explosif) qui diminue les affinités tinctoriales, dénature considérablement les protéines et peut continuer à exercer son action chimique sur le tissu même après l'enrobage. Ce fixateur est incompatible avec la réalisation ultérieure d'études immuno-histochimiques pour certains marqueurs ou d'exploration moléculaire car l'ARN extrait est presque toujours de mauvaise qualité, fragmenté et à l'origine de résultats très souvent ininterprétables.

## Macroscopie

L'examen macroscopique est un acte défini dans la nomenclature comportant une étape peropératoire et postopératoire. Cet examen, réalisé en binôme, s'effectue sous la responsabilité du pathologiste. Dans certains laboratoires, les pathologistes tendent à favoriser la prise en charge macroscopique de certaines pièces chirurgicales par des technicien(ne)s de laboratoire spécialement formé(e)s. Afin de permettre une reproductibilité du traitement des pièces fixées au sein d'un laboratoire, il est indispensable que le (la) technicien(ne) de laboratoire dispose de procédures techniques définies pour la réalisation des prélèvements tissulaires.

### ● Attention

L'identification du prélèvement est très importante. Sa conformité est la première chose qui doit impérativement être vérifiée.

Cette étape est fondamentale dans l'analyse histologique puisque la lecture et l'interprétation microscopique des préparations en dépendent. Elle permet souvent d'orienter dès lors le diagnostic et la qualité de la réalisation de cette étape permet le bon déroulement de la suite de l'analyse.

L'analyse macroscopique est une observation soignée, à l'œil nu, des altérations tissulaires. Elle permet de décrire la ou les lésions observées. La dissection (découpe) consiste à faire un échantillonnage des lésions de telle sorte que les coupes finales observées au microscope soient représentatives des lésions. La technique de macroscopie doit assurer la conservation des règles de qualité de fixation et de traçabilité, et la qualité de réalisation des échantillons.

La macroscopie et la dissection sont considérées comme des activités à risque pour le manipulateur. Ces postes nécessitent une concentration et un respect strict des procédures d'hygiène et de sécurité en vigueur. Deux risques principaux sont à noter : d'une part, un risque infectieux lié aux prélèvements hémorragiques et une activité exposant aux risques de coupure, piqûre ou projection ; d'autre part, un risque chimique non négligeable (toxicité des fixateurs).

## Matériel

La macroscopie et la dissection doivent être réalisées sur une table aspirante (fig. 3-7) ou sous une hotte (fig. 3-8) – avec vitre impérativement



**Fig. 3-7** Table de macroscopie pour les pièces chirurgicales à l'état frais (antenne du bloc opératoire).



**Fig. 3-8** Poste de macroscopie pour les pièces chirurgicales et/ou biopsies fixées.

abaissée – performantes, qui permettent d'aspirer les vapeurs de formol. Les manipulations s'effectuent toujours avec des gants (anti-coupure et résistants aux solvants).

Peu d'instruments sont utilisés : quelques pinces, une paire de ciseaux, un bistouri (ou scalpel), un couteau (muni d'une lame de dissection jetable) pour la découpe des grosses pièces et une scie adaptée (scie à métaux, scie électrique) pour les prélèvements ossifiés. La dissection se fait sur une planche en polystyrène, éventuellement à l'aide d'un bouchon en liège (*cf. fig. 3-23c*). Une règle est utilisée pour les mensurations et une loupe pour la microdissection.

Les échantillons sont placés dans des cassettes perforées en plastique (polymère d'acétate) afin de faciliter la circulation des liquides et assurer un drainage correct au cours des étapes d'imprégnation dans un automate. Il existe différents types de cassettes couramment utilisés, certaines sont munies d'un couvercle en plastique (cassette pour tissu), d'autres doivent être fermées par un grillage métallique (cassette de biopsie; *cf. fig. 3-24a et b*). Les cassettes sont disponibles dans différentes couleurs et peuvent être utilisées pour distinguer divers types de prélèvements (journalier, biopsie, décalcifié, intérêt scientifique...). Ce code de couleur est utile pour les visualiser rapidement à toutes les étapes techniques et facilite leur recherche pour des études ultérieures.

## Codage des échantillons

Il faut identifier précisément chaque prélèvement et chaque cassette pour éviter toute confusion. En plus du numéro d'enregistrement, une lettre (suivant l'ordre de l'alphabet, initiale de l'organe concerné associée à sa latéralité) ou numérotation directe (1, 2, 3...) est indispensable pour repérer les différents fragments tissulaires prélevés ou transmis au laboratoire. Ce codage est nécessaire lors de la dissection pour repérer sur la grille de coupes chaque échantillon placé en cassette (*cf. fig. 3-22*). L'intérêt d'un code concernant les lésions avec la peau réside notamment dans le pronostic des tumeurs (le plan profond est analysé pour juger de l'extension de la tumeur). Le plan superficiel est codé par la lettre S et le plan profond par la lettre P (*cf. fig. 3-16b*). Un code spécifique peut être utilisé pour identifier des examens particuliers, par exemple : EXT pour un examen extemporané, CB pour un cytobloc (*cf. fig. 3-59*), un symbole comme une étoile correspondant à un deuxième départ (*cf. fig. 3-29c*).

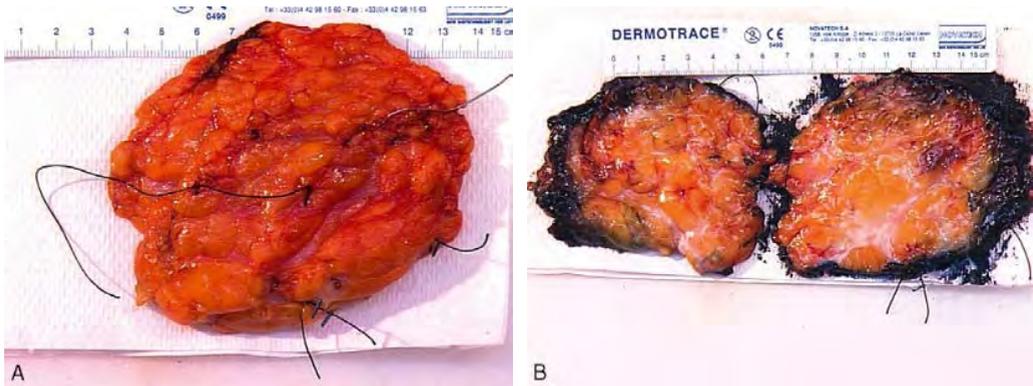
Le nombre de cassettes avec le nombre de prélèvements contenus par cassette sont reportés sur la fiche de travail.

## Encrage des marges

L'encrage permet d'identifier les limites d'exérèse d'une pièce chirurgicale ou d'une biopsie-exérèse, ou les marges des lésions (*fig. 3-9*). Cette technique est surtout utilisée pour les suspicions de



**Fig. 3-9** Repérage de la tumeur par de l'encre de chine pour faciliter les prélèvements.



**Fig. 3-10** Tumorectomie du sein.

- a. Pièce chirurgicale entière orientée par des fils.  
b. Encrage des limites d'exérèse après ouverture de la pièce chirurgicale.

tumeurs cancéreuses. L'encrage consiste à badigeonner les contours du prélèvement et/ou de la lésion (le plus souvent avant sa fixation) à l'aide d'un pinceau imbibé d'encre de Chine. L'usage d'une encre de couleur différente présente l'avantage de fournir un repère visuel supplémentaire dans l'orientation de la pièce chirurgicale (fig. 3-10a) afin de mieux repérer les limites d'exérèse supérieure et inférieure, par exemple après son ouverture (fig. 3-10b), indispensables au moment de la découpe. L'encre de Chine est une encre indélébile qui ne nuit pas à l'étude histologique, elle ne pénètre pas à l'intérieur des tissus.

### Examen macroscopique

Le repérage macroscopique est une étape essentielle au diagnostic. Il permet, en combinant palpation et analyse visuelle rigoureuses, de repérer les lésions, d'apprécier leur extension et de se faire une idée de la nature. Il détermine le choix des prélèvements pour l'étude microscopique.

Pour que la représentativité des échantillons soit la meilleure possible, c'est-à-dire que ces échantillons possèdent les mêmes caractéristiques que l'ensemble de la lésion, plusieurs éléments doivent nécessairement être réunis :

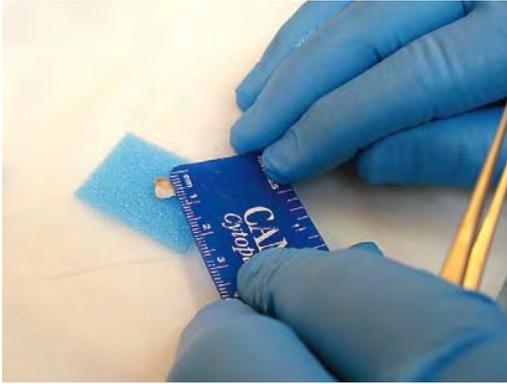
- la biopsie exérèse est orientée : clip (petite agrafe métallique), fils de suture ;
- les biopsies multiples intéressant plusieurs territoires d'un même organe sont individualisées dans des flacons numérotés et répertoriés ;



**Fig. 3-11** Exérèse chirurgicale (tumorectomie du sein) orientée par des fils pour repérage dans l'espace (supérieur, externe, inférieur et interne).

- le prélèvement chirurgical doit contenir toute la lésion, si celle-ci n'est pas trop grosse, ou être pertinent si la taille de la lésion est importante ;
- la pièce chirurgicale est préalablement orientée par le chirurgien avec des fils de longueur et/ou de couleur différentes et la berge d'exérèse (limites du tissu extrait) est repérée par un fil de suture distinct (fig. 3-11).

La macroscopie obéit à certaines règles et requiert une méthodologie précise. La correspondance entre l'étiquette d'identification du prélèvement et de la fiche de travail est impérativement vérifiée. La description de chaque pièce chirurgicale ou biopsie est systématique et comporte des critères de type :



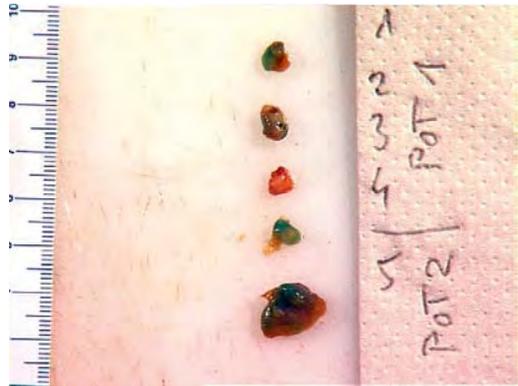
**Fig. 3-12** Mesure d'un prélèvement (biopsie-exérèse cutanée).



**Fig. 3-14** Mesure d'une tumeur mammaire (pamectomie).



**Fig. 3-13** Nodules hépatiques multiples (métastases).



**Fig. 3-15** Exérèse de ganglions sentinelles.

- nombre et taille des fragments (fig. 3-12);
- caractère unique ou multiple de la tumeur (fig. 3-13);
- taille de la pièce dans ses trois dimensions en centimètres;
- taille des différents nodules en millimètres (fig. 3-14);
- mesure précise en millimètres de la limite d'exérèse la plus proche;
- distance séparant les nodules en cas de tumeur bifocale ou multifocale;
- appréciation de l'extension de la tumeur;
- autres : poids, précision des caractères morphologiques de la tumeur (circonscription, couleur, consistance...);
- nombre de ganglions prélevés en fonction des pièces examinées (fig. 3-15).

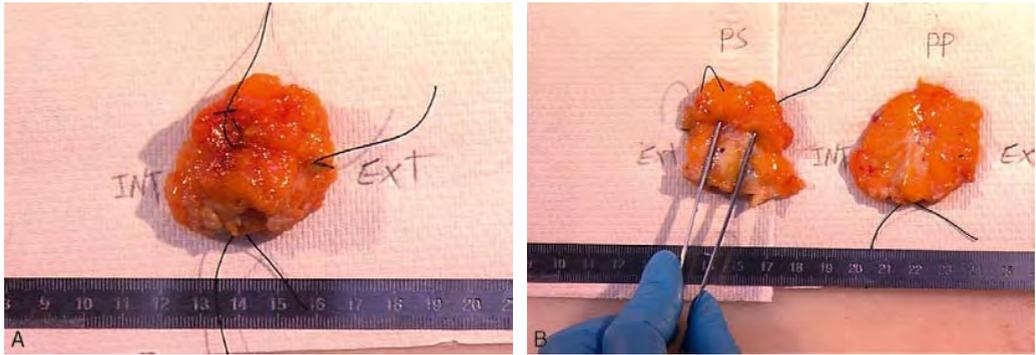
Les divers renseignements recueillis ainsi que les commentaires du pathologiste et les initiales du

personnel en poste sont consignés sur la fiche de travail.

Des photographies topographiées de la pièce chirurgicale peuvent être réalisées avant la fixation : avant son ouverture (fig. 3-16a) et après son ouverture, avec limites d'exérèse tatouées à l'encre de Chine et lésion indiquée par une paire de pinces (fig. 3-16b). Ce document iconographique constitue un complément descriptif pour connaître l'état initial de la pièce anatomique et servir ultérieurement de guide afin de positionner les prélèvements effectués sur la (les) tranche(s) de section de coupe (cf. fig. 3-22).

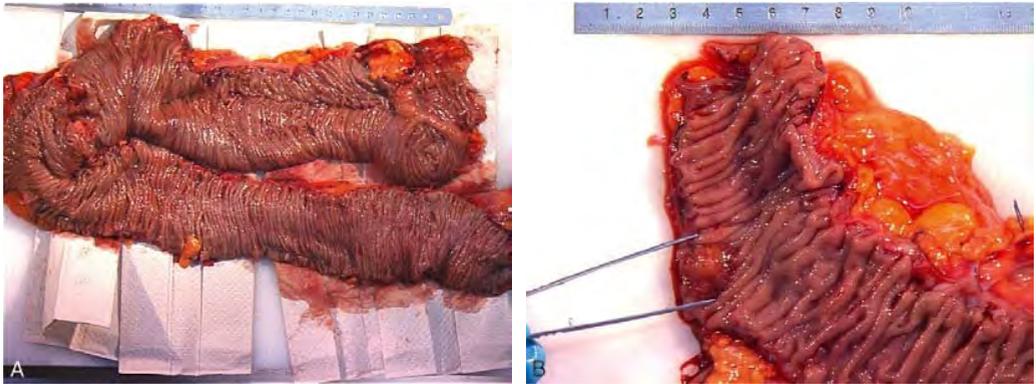
### Examen extemporané

L'examen extemporané est un acte médical qui a pour but d'établir en quelques minutes (moins de 10 minutes) une orientation diagnostique (de



**Fig. 3-16** Tumorectomie du sein.

- Pièce chirurgicale entière et orientée par des fils.
- Pièce d'exérèse après ouverture. Tumeur indiquée par une paire de pinces.



**Fig. 3-17** Colectomie.

- Pièce chirurgicale entière.
- Lésion à prélever pour analyse.

bénignité ou de malignité) d'une lésion prélevée au cours de l'intervention chirurgicale (que le chirurgien suspend en attendant le résultat du pathologiste pour la poursuivre). C'est le pathologiste, et lui seul, qui a la responsabilité d'étudier la pièce entière fournie (fig. 3-17a) et de décider des échantillons qui sont prélevés (fig. 3-17b). Le résultat est exclusivement transmis par le pathologiste au chirurgien.

À partir d'un fragment prélevé sur la pièce à l'état frais, une coupe à congélation au cryostat (fig. 3-18) est réalisée, colorée avec une méthode accélérée à l'hématoxyline éosine safran (fig. 3-19; cf. tableau 3-17) puis examinée au microscope. Un cryostat est une enceinte réfrigérée ( $-20^{\circ}\text{C}$ )



**Fig. 3-18** Enceinte d'un cryostat. Tissu frais sur le porte-objet avant durcissement par le froid.



**Fig. 3-19** Coloration rapide par l'hématoxyline éosine safran (HES).

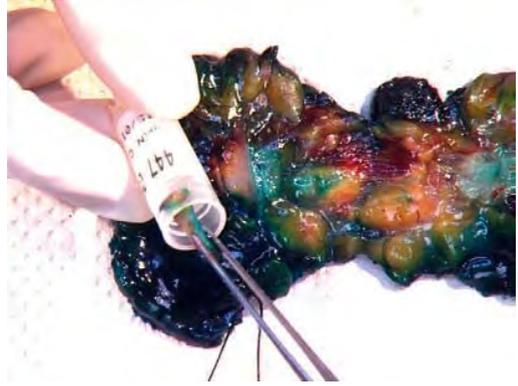
contenant un microtome permettant de réaliser aux dépens du tissu frais, déposé sur un plot puis durci par le froid, une coupe à congélation (*cf.* p. 80).

L'examen extemporané peut être effectué pour les raisons suivantes :

- établir un diagnostic susceptible de modifier le geste chirurgical ;
- confirmer la qualité des limites d'exérèse (en zone tumorale ou en zone saine) ;
- rechercher une infiltration tumorale métastatique notamment ganglionnaire (*cf.* fig. 4-14a et b).

Il existe des contre-indications à l'examen extemporané : lorsque la tumeur est petite (5 à 10 mm), cet examen n'est pas réalisé pour ne pas compromettre l'examen histologique définitif par manque de matériel à inclure en paraffine ; les tissus calcifiés ou ossifiés ne pouvant pas être coupés sans une décalcification préalable ; si le pathologiste pense que cet examen ne permet pas de répondre à la question posée par le chirurgien.

Un avantage indirect des examens extemporanés est de disposer de tissu frais non fixé pouvant être congelé en cryotube (*fig.* 3-20) dans l'azote liquide, afin d'effectuer *a posteriori* des techniques particulières de biologie moléculaire, ou placé dans un milieu de culture et de conservation pour analyse cytogénétique. Des

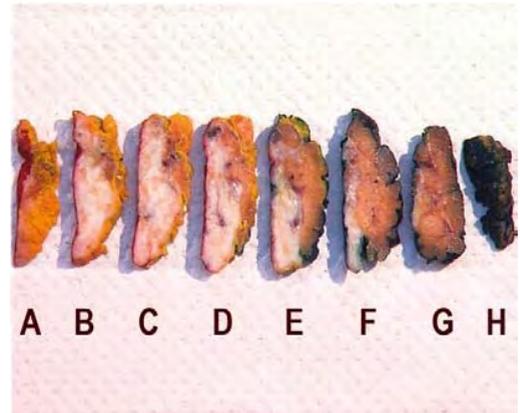


**Fig. 3-20** Échantillon tissulaire placé en cryotube pour congélation en azote liquide.

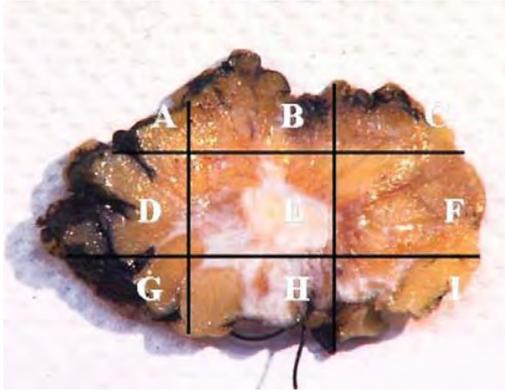
appositions (ou empreintes) d'une pièce fraîche peuvent aussi être réalisées pour étude cytologique (*cf.* *fig.* 3-60a).

### Dissection

Le pathologiste ou le (la) technicien(ne) habilité(e), chargé de la découpe d'une pièce chirurgicale, effectue des prélèvements tissulaires repérés et orientés suivant des protocoles standardisés qui varient pour un même organe selon le type de lésion. Le nombre de coupes (*fig.* 3-21) et les plans de coupe (*fig.* 3-22) dépendent de la taille du prélèvement, de sa nature, du type de lésion observée, des observations macroscopiques.



**Fig. 3-21** Pièce chirurgicale après fixation, découpée en tranches et indexée.



**Fig. 3-22** Plan de coupe sagittale (tumeur mammaire).  
Les lettres positionnées sur la grille correspondent aux parties tissulaires à découper et indispensables à l'indexation de chaque cassette.

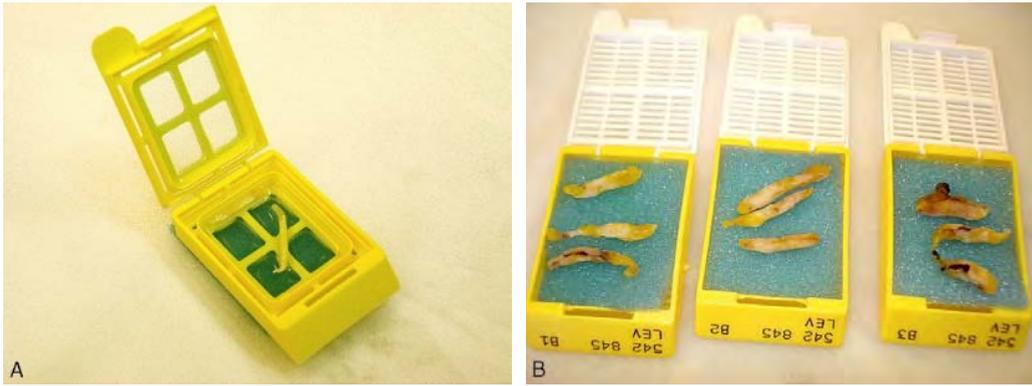
La dissection, après fixation, revient à faire un échantillonnage de la lésion et, comme tout

échantillon, il se doit d'être représentatif, d'où la difficulté de cette étape. Les parties tissulaires représentatives (zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse) de la lésion tumorale (fig. 3-23a) sont prélevées (sans omettre d'ôter les agrafes et/ou les fils), découpées en tranches au scalpel ou au couteau (fig. 3-23b) d'une épaisseur de 3 mm et d'une taille approximative de 30 × 15 mm (fig. 3-23c), puis placées dans des cassettes identifiées et indexées (fig. 3-23d). Les échantillons prélevés sont positionnés sur la fiche de macroscopie (grille de coupe) ou la photographie quadrillée.

Les prélèvements qui ne peuvent pas être recoupsés, comme les biopsies, sont conditionnés dans des cassettes. Si le prélèvement est trop fin ou plat, il est placé soit dans une cassette de biopsie (fig. 3-24a), soit entre deux mousses dans une cassette pour tissu (fig. 3-24b) afin d'éviter de le



**Fig. 3-23** Réalisation d'un échantillonnage.  
a. Lésion tumorale (la zone blanchâtre correspond à un cancer du sein).  
b. Découpe de la zone d'intérêt.  
c. Dégrossissage de la tranche.  
d. Échantillons tissulaires prélevés placés en cassettes numérotées et indexées.



**Fig. 3-24** Fragments biopsiques.

- a. Microbiopsies en cassette pour biopsie.  
b. Macrobiopsies en cassette pour tissu.

perdre à travers les trous de la cassette et mieux le visualiser lors de l'inclusion (l'enrobage).

**À noter :** pendant la macroscopie, les cassettes réalisées peuvent être placées dans un panier immergé dans un bain d'éthanol 70° pour éviter une surfixation mais surtout de respirer le formol. Lorsque celui-ci est rempli, le transférer dans un bain de fixateur formolé (sous hotte ventilée) jusqu'au départ en imprégnation.

Les résidus macroscopiques correspondant aux parties fixées non prélevées sont conservés en sachet plastique ou en pot identifiés et stockés dans une armoire ventilée (avant leur destruction par incinération) pendant un laps de temps défini dans la procédure de la structure. Ils constituent les « réserves » et peuvent éventuellement servir si une difficulté technique au diagnostic nécessite de préparer de nouveaux blocs. Il est conseillé de conserver les résidus de certaines pièces (laryngectomie totale) dans des sachets différents (un pour le côté droit et un pour le côté gauche). L'existence ou non d'une réserve est notée sur la fiche de travail.

### Identification des cassettes

Chaque cassette doit être identifiée par le numéro d'enregistrement noté au crayon de papier ou avec une imprimante à cassette. Il est inscrit sur la surface dépolie (située à l'avant de la cassette) et indexé par une lettre, un chiffre ou une indication spécifique (cf. fig. 3-24b). Les trois premières

lettres du nom du patient ainsi que le nombre de fragments contenus dans la cassette peuvent être notés sur le côté.

### Cas particuliers

#### Fixation des petits échantillons

Les biopsies et les petits fragments placés en cassette peuvent être immergés dans un bain de fixateur formol coloré à la phloxine 0,25 % pendant quelques minutes avant l'imprégnation afin de mieux les visualiser au moment de l'inclusion, la coupe et la vérification des blocs après la coloration.

#### Fixation longue durée

Les gros prélèvements nécessitent une durée de fixation de plus de 24 heures. Cette durée est proportionnelle à la taille et au volume de la pièce chirurgicale. Par exemple, un encéphale entier doit être fixé sans section préalable de la pièce fraîche, pendant au moins deux semaines. Le fixateur est renouvelé pendant la durée de fixation. Le contenant est placé dans une armoire ventilée le temps nécessaire et la découpe est différée.

#### Décalcification

Les tissus imprégnés de sels de calcium (cartilage, dents, lésions casécuses de la tuberculose, microcalcifications, os et certaines tumeurs) doivent faire l'objet d'un traitement particulier, la décalcification, car ils ont une dureté qui rend impropre à la coupe au microtome. Pour la faciliter et confectionner

des rubans de qualité, il faut enlever de ces tissus la portion responsable de cette dureté par des agents décalcifiants (acide chlorhydrique, acide nitrique, ou une solution du commerce comme le RDO : rapide décalcifiant osseux) en prenant garde à leur concentration ainsi qu'à leur temps d'action pour éviter qu'ils n'endommagent le tissu. Le temps de décalcification dépend de la taille, du type et de la densité du tissu, et de la concentration du décalcifiant qui exerce également une influence.

### ● Attention

Une décalcification trop prolongée est très nuisible aux tissus, en particulier pour les colorations ultérieures (diminution de la basophilie des cellules) et une étude immunochimique (altération des enzymes).

La décalcification est réalisée après avoir fixé les tissus. S'il s'agit d'un os entier ou d'un fragment d'os, il doit être fixé (fig. 3-25a), scié (fig. 3-25b) et sectionné en coupes de 3 mm d'épaisseur (fig. 3-25c) avant d'être mis en décalcification. Les pièces ou

les fragments (biopsies ostéomédullaires) placés en cassettes identifiées sont immergés dans la solution décalcifiante si possible avec agitation permanente afin d'accroître la rapidité de sa pénétration. La décalcification doit être contrôlée fréquemment pour éviter une décalcification excessive. Elle est évaluée en piquant le tissu à l'aide d'une aiguille. Si elle n'est pas suffisante (présence d'une résistance osseuse due à la partie minérale qui n'est pas bien disparue), les cassettes contenant les fragments sont rincées à l'eau courante, remises toute une nuit à fixer puis immergées le lendemain dans une solution décalcifiante propre. Parfois pour obtenir une décalcification satisfaisante, cette opération est répétée plusieurs fois. Quand le processus est terminé, les cassettes sont rincées à l'eau courante pour bien enlever l'agent décalcification et remises à fixer jusqu'au départ en imprégnation.

La coloration des pièces décalcifiées nécessite souvent des temps de coloration par l'hématoxyline éosine safran (HES) plus longs que pour les pièces ordinaires (cf. tableau 3-18).



**Fig. 3-25** Préparation d'une pièce osseuse avant décalcification.  
 a. Pièce osseuse fixée (exérèse hémibassin).  
 b. Pièce osseuse sciée avant découpe.  
 c. Découpe de la pièce osseuse et échantillons indexés avant décalcification.

### ● Attention

La macroscopie des pièces osseuses peut être à l'origine d'un risque de plaie et de projection importante en cas d'utilisation de scie électrique.

### Protocoles particuliers

Certains protocoles sont très spécifiques et doivent être appliqués avec précision. C'est le cas pour l'œil ou le système nerveux central. De même, certains prélèvements obéissent à un protocole particulier, comme l'étude du ganglion sentinelle ou lorsqu'ils entrent dans un cadre expérimental.

Les microfragments tissulaires sont englobés dans un gel pour confectionner un cytobloc (cf. p. 100).

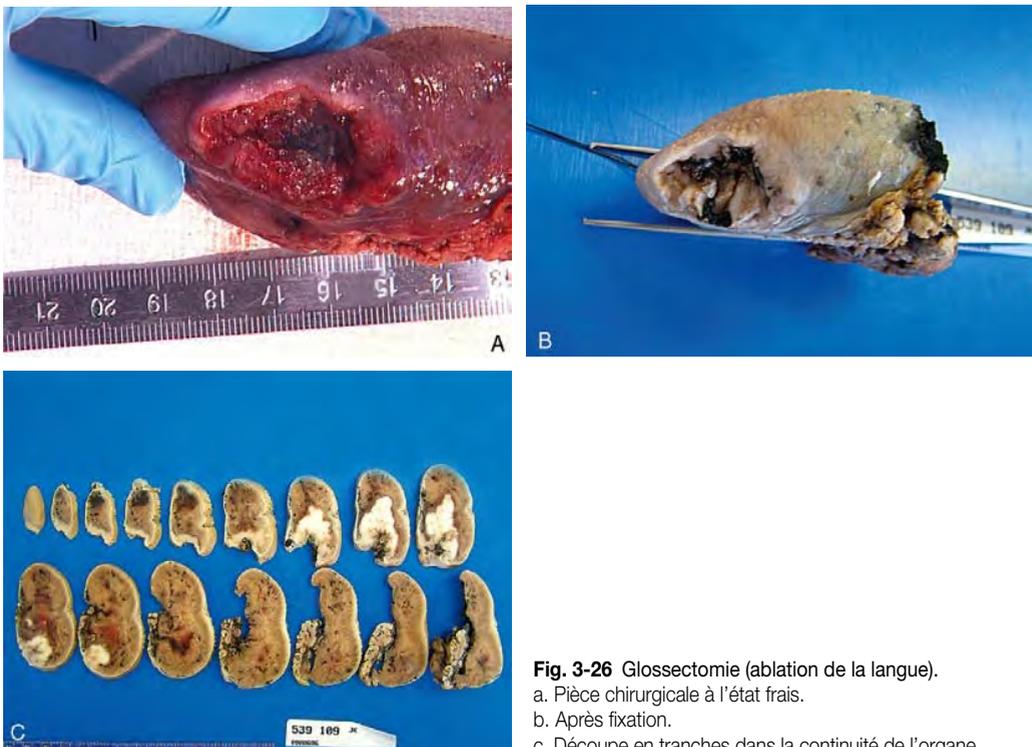
Pour les pièces chirurgicales dont l'orientation est complexe, la sphère ORL par exemple, il est utile de prendre des photographies de la pièce à l'état frais (fig. 3-26a) et au cours du traitement macroscopique (fig. 3-26b), en prenant soin pour les pièces entières (laryngectomie totale, thyroïdectomie totale) de distinguer le côté droit et gauche, et

conserver la continuité de la découpe (fig. 3-26c). Afin de posséder une échelle, une règle peut être placée à côté des prélèvements.

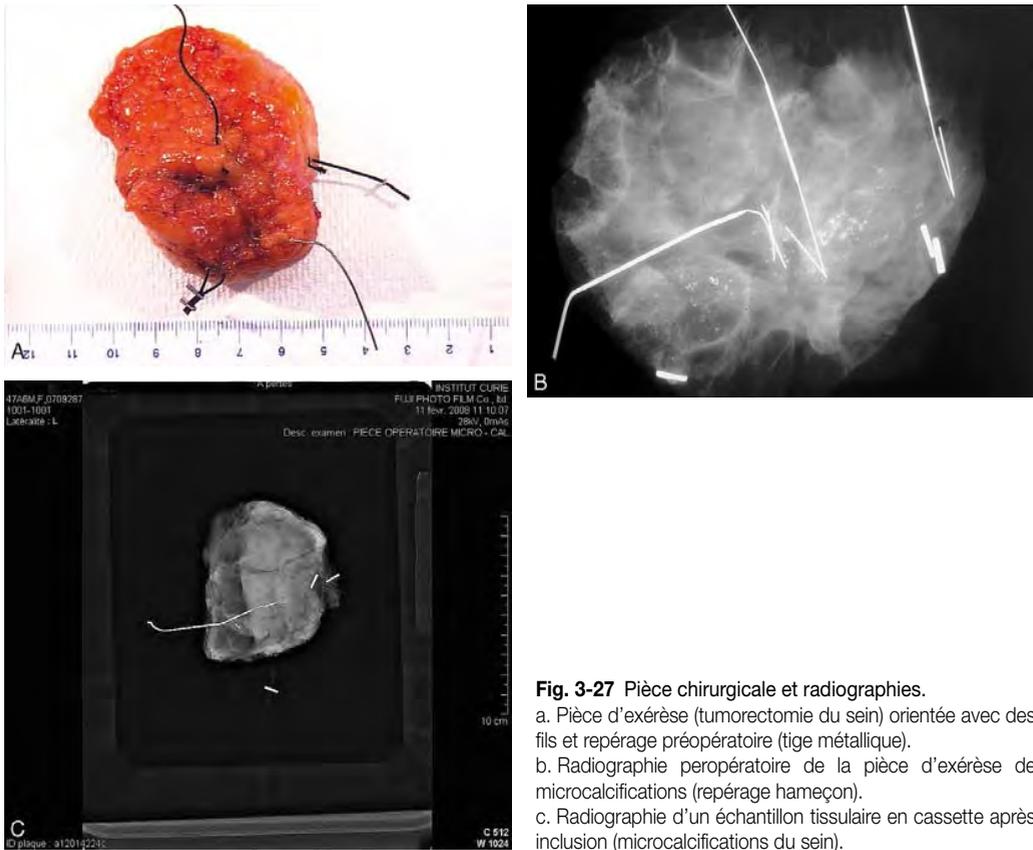
Les pièces nécessitant des prélèvements ciblés, lésions infracliniques ou microcalcifications du sein par exemple, peuvent être radiographiées entières en peropératoire (fig. 3-27a et b) afin de servir de guide dans l'échantillonnage lors de la macroscopie. Un contrôle radiologique des cassettes contenant les fragments tissulaires, fixés en paraffine, peut être effectué après inclusion (fig. 3-27c).

### Imprégnation

Le tissu lui-même est trop malléable pour que l'on puisse en tirer des coupes de l'épaisseur désirée. Pour durcir un tissu, son imprégnation par une matière rigide lui donne la résistance mécanique voulue. L'imprégnation repose sur la substitution de l'eau qui est dans les tissus par une substance totalement hydrophobe et chimiquement inactive, telle que la paraffine (mélange d'hydrocarbures



**Fig. 3-26** Glossectomie (ablation de la langue).  
 a. Pièce chirurgicale à l'état frais.  
 b. Après fixation.  
 c. Découpe en tranches dans la continuité de l'organe.



**Fig. 3-27** Pièce chirurgicale et radiographies.

- Pièce d'exérèse (tumorectomie du sein) orientée avec des fils et repérage préopératoire (tige métallique).
- Radiographie peropératoire de la pièce d'exérèse de microcalcifications (repérage hameçon).
- Radiographie d'un échantillon tissulaire en cassette après inclusion (microcalcifications du sein).

saturés et quelquefois de cire) qui se présente sous forme de substances blanches (grains, paillettes) légèrement translucides et inodores. C'est la substance la plus représentative des milieux d'inclusions fondus et la plus couramment utilisée. Par conséquent, plusieurs étapes doivent être réalisées.

La **post-fixation** permet le passage des fixateurs aqueux aux alcools. Elle correspond à un bain de fixateur formolé (AFA, formol tamponné).

La **déshydratation** consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient. Elle se fait par le passage dans des bains d'éthanol de concentration croissante jusqu'à l'éthanol absolu. Les tissus ne doivent séjourner dans les bains que le temps nécessaire pour équilibrer les proportions relatives d'eau et d'éthanol. Les tissus fibreux et denses sont plus difficiles à déshydrater que les autres. Une mauvaise déshydratation peut être le résultat d'un séjour trop long ou trop court dans l'éthanol. Un

séjour prolongé durcit le tissu de façon excessive. Une déshydratation insuffisante empêche la paraffine de pénétrer complètement le tissu; ainsi des zones où la paraffine n'a pas pénétré ne deviennent pas suffisamment rigides pour supporter la coupe.

La **substitution** consiste à remplacer l'éthanol qui n'est pas miscible à la paraffine par un solvant : toluène ou xylène. Ces deux solvants sont miscibles à la fois au déshydratant et à l'agent d'inclusion, on parle d'agents « éclaircissants » (car ils ont la propriété de rendre translucides les tissus qu'ils imprègnent). Le toluène (très toxique et inflammable) est plus lent et plus tolérant que le xylène. Il faut tenir compte des propriétés pénétrantes de l'agent utilisé au moment de déterminer la durée des bains. Les principaux effets d'une mauvaise substitution sont la production de blocs de consistance hétérogène ou inadéquate, une rétraction ou une distorsion excessives des tissus si le bain est trop prolongé.

L'**imprégnation** correspond à la substitution du solvant par la paraffine. Cette étape terminale est relativement agressive car la paraffine n'est liquide qu'à partir de 58°C et à cette température les protéines sont altérées. Une imprégnation trop longue peut provoquer une rétraction importante de toutes les structures et un durcissement excessif des pièces.

À la fin du cycle, les paniers contenant les cassettes se trouvent dans un bain de paraffine chaude (liquide). Ils sont égouttés avant d'être transférés dans le bac d'attente du poste d'inclusion.

Il existe différents appareils d'imprégnation. Des automates à imprégnation sous vide réduisent l'émission de vapeurs de solvant dans l'atmosphère de travail. Ils diminuent les risques d'erreurs humaines et assurent le traitement homogène de toutes les pièces. Ils permettent donc une meilleure imprégnation en paraffine et peuvent contenir un grand nombre de cassettes rangées dans des paniers spécialement conçus (fig. 3-28). Ils sont programmables, la plupart ont un mécanisme de retardement qui permet de régler à l'avance le programme ou le cycle choisis (tableau 3-7). Cette étape est habituellement réalisée de nuit.



Fig. 3-28 Cassettes en panier pour imprégnation.

## Inclusion

Le principe de l'inclusion consiste en un enrobage de la pièce par de la paraffine liquide qui est rigidifiée permettant ainsi de conserver les rapports architecturaux des structures les unes par rapport aux autres et de lui fournir un support externe à la fois pendant et après la coupe. Il est nécessaire que la paraffine utilisée pour l'enrobage des pièces ait les mêmes caractéristiques que celle qui a servi à l'imprégnation. L'inclusion ne se fait de façon satisfaisante que si la pièce ne contient ni eau, ni solvant (éthanol) après l'imprégnation.

## Mode opératoire

Les cassettes placées dans le bac d'attente du poste de travail (fig. 3-29a) contenant de la paraffine maintenue à l'état liquide ( $\approx 60^\circ\text{C}$ ) sont incluses manuellement lorsque la température de la plaque de travail a atteint  $70^\circ\text{C}$  et celle de la plaque de refroidissement  $-15^\circ\text{C}$ .

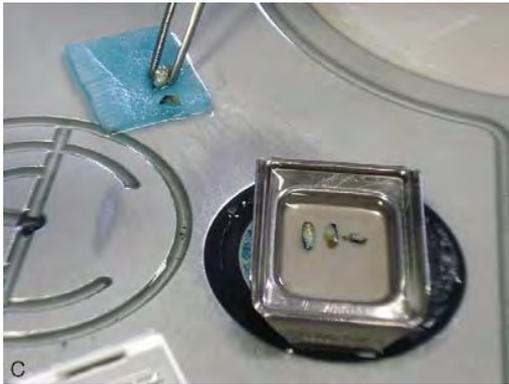
- Sortir une seule cassette à la fois afin d'éviter tout risque d'erreur.
- Ouvrir prudemment son couvercle et l'ôter tout en vérifiant qu'il n'y a pas de prélèvement resté accroché sur le couvercle ou entre les mousses (fig. 3-29b).
- Prendre un moule en acier inoxydable adapté à la taille du prélèvement (entreposé dans l'enceinte chauffée du poste de travail) et y faire couler un peu de paraffine.
- Saisir un seul fragment à la fois à l'aide d'une pince métallique (fig. 3-29c) préchauffée afin que la paraffine ou le fragment n'y adhèrent. Le déposer délicatement au centre du moule tout en respectant la position initiale et éventuellement le réorienter convenablement. C'est-à-dire que le plan de section doit être positionné contre le fond du moule et certains sur la tranche de

Tableau 3-7 Temps d'imprégnation en automate.

	Semaine (de nuit) Cycle de 14 h	Week-end Cycle de 62 h	1 jour férié en semaine Cycle de 38 h	Week-end + 1 jour férié Cycle de 86 h
Fixateur formolé	1 h	25 h	12 h	50 h
Éthanol	4 h	8 h	4 h	8 h
Toluène	5 h	24 h	18 h	24 h
Paraffine	3 h	3 h	3 h	3 h

- manière à ce que la coupe permette d'observer simultanément toutes les structures, par exemple pour la peau : l'épiderme, le derme et l'hypoderme.
- Poser le moule sur le disque de refroidissement afin que la paraffine au fond du moule se fige et aplatir délicatement à l'aide de pinces préchauffées le(s) fragment(s) sans les écraser ni les perforer (fig. 3-29d).

- Avant que la paraffine prenne en masse, ajuster sur le moule la cassette d'identification (permettant de garantir sa traçabilité). Recouvrir de paraffine et chasser les bulles d'air éventuelles.
- Déposer immédiatement le moule sur la plaque de refroidissement et laisser figer la paraffine afin de sceller la cassette au moule.
- Après durcissement total de la paraffine et lorsque le bloc est bien froid, il est démoulé (fig. 3-29e).



**Fig. 3-29** Mode opératoire de l'inclusion.

- Poste d'inclusion.
- Fragments tissulaires en cassette à inclure.
- Inclusion des fragments tissulaires.
- Inclusion d'un échantillon tissulaire.
- Refroidissement et démoulage des blocs de paraffine.

L'excédent de paraffine tout autour de la cassette est retiré par grattage à l'aide d'un couteau (non tranchant) pour faciliter au moment de la coupe l'insertion du bloc entre les mâchoires du porte-objet du microtome.

Un bloc de tissu homogène en consistance et en élasticité est ainsi obtenu, ce caractère est d'une grande importance pour la confection des coupes.

Les blocs sont classés sur des plaques réfrigérantes par numéro d'enregistrement (en suivant l'ordre alphabétique ou numérique) et les séries concernant un même patient sont regroupées. Les blocs en attente de coupe sont stockés dans un congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ . La plupart des tissus se coupent mieux lorsqu'ils sont bien refroidis.

**À noter : l'inclusion peut être faite en barre de Leuckhardt, c'est-à-dire entre des barres métalliques de taille variable. Ce procédé est utilisé en neuropathie pour l'inclusion des grandes pièces, comme l'encéphale.**

### Problèmes d'enrobage

- Si les pièces sont mal incluses, le bloc peut être refondu et le prélèvement réenrobé.
- Si la pièce est déposée dans un moule sans l'avoir préalablement rempli de paraffine ou si son épaisseur n'est pas suffisante, la surface de la pièce y adhère et empêche la paraffine d'entrer en contact avec le fond du moule. Une fois le bloc durci, le tissu peut se séparer de la paraffine qui l'entoure.
- Si les pinces sont trop chaudes, elles peuvent brûler le tissu.
- Si le bloc est refroidi trop lentement, la paraffine peut présenter une cristallisation irrégulière qui peut nuire à la confection des coupes.
- Si le bloc est refroidi trop rapidement, la paraffine située entre la pièce et le fond du moule se rétracte et donne un bloc à la surface concave.
- Si le geste n'est pas assez rapide avant de déposer la pièce dans le moule contenant la paraffine, il peut se former une épaisse couche de paraffine qui après durcissement demande un rabotage plus important au moment de la coupe.

### Coupe

La **microtomie** a pour but d'obtenir des rubans de qualité très fins de 2 à  $4\mu\text{m}$  (micron ou millième

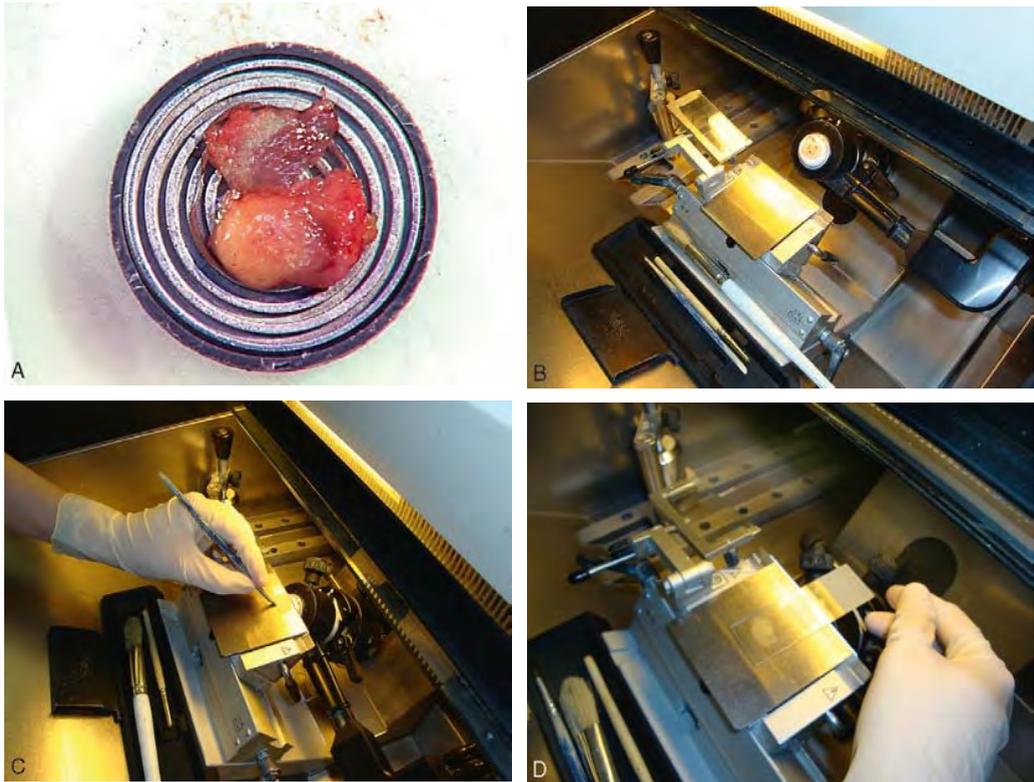
de millimètre) et sans phénomènes de vibrations (shutter) pour tous types de tissus inclus en paraffine. Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser la préparation et d'éviter les superpositions tissulaires. Ils sont confectionnés à température ambiante et nécessitent un microtome muni d'une lame de rasoir. La réalisation de coupes minces dépend du matériel à couper (dureté, élasticité), des performances du microtome et de l'habileté manuelle du (de la) technicien(ne).

La **cryotomie** est utilisée au cours d'une intervention chirurgicale ou pour certaines études qui nécessitent de travailler sur des tissus frais non fixés (coloration des lipides). Le principe de la coupe en congélation est le durcissement du tissu grâce à la congélation de l'eau qu'il contient. Les résultats obtenus dépendent de plusieurs facteurs tels que la température de l'enceinte réfrigérée, le type de tissu, l'entretien du cryostat et l'expérience du (de la) technicien(ne). Les coupes sont moins fines ( $4-6\mu\text{m}$ ) et plus fragiles que celles réalisées après une inclusion. La morphologie tissulaire n'est pas d'aussi bonne qualité qu'après une fixation et une inclusion en paraffine en raison de la congélation qui altère la morphologie cellulaire.

### Mode opératoire d'une coupe à congélation

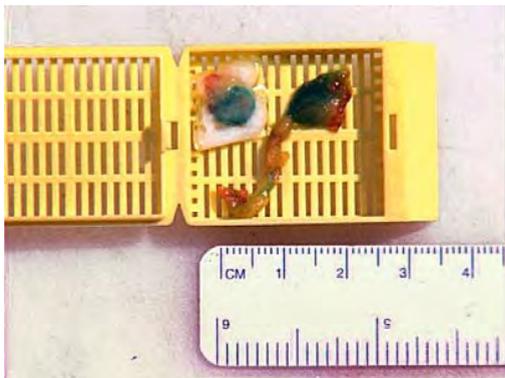
Le tissu frais est déposé sur un plot ou porte-objet (fig. 3-30a) enduit d'une résine d'enrobage (transparente à température ambiante) qui a la capacité de durcir à basses températures (blanchissement). Dans l'enceinte réfrigérée d'un cryostat à  $-20^{\circ}\text{C}$ , la congélation est facilitée par l'utilisation d'un piston qui accélère le refroidissement (en quelques secondes) tout en favorisant l'obtention d'une surface plane (fig. 3-30b). Après un léger dégrossissage, la coupe au microtome est recueillie directement sur le rasoir (fig. 3-30c) avec une lame où elle y adhère spontanément (fig. 3-30d). Le rasoir est équipé d'une plaque anti-déroulement qui empêche qu'elle ne s'enroule sur elle-même pendant qu'on la confectionne.

Après la coupe, le fragment tissulaire restant est récupéré. Suivant les indications du pathologiste, ce fragment est soit placé en tumorothèque en l'état, soit après dépolymérisation de la résine (à température ambiante) mis en cassette



**Fig. 3-30** Coupe tissulaire au cryostat.

- Échantillon tissulaire à l'état frais déposé sur un porte-objet.
- Tissu durci par le froid pour réalisation d'une coupe dans l'enceinte d'un cryostat.
- Confection d'une coupe à congélation au microtome (cryostat).
- Récupération sur lame de la coupe à congélation.



**Fig. 3-31** Échantillon tissulaire restant après l'examen extemporané placé en cassette (ganglion sentinelle).

(fig. 3-31) – identifié comme prélèvement extemporané – pour être fixé dans un fixateur formolé avec le reste de la pièce.

### ● Recommandations

Pour éviter toute contamination entre deux prélèvements, changer la lame de rasoir, décontaminer le plot et nettoyer l'enceinte du cryostat. Refermer la vitre du cryostat pour conserver la température à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### Identification des lames

La correspondance du nombre de blocs à couper avec celui de la fiche de travail est vérifiée. Sur une lame de verre soit une étiquette code à barres est collée, soit le numéro de la cassette ainsi que l'index du bloc et éventuellement les trois premières lettres du nom du patient sont inscrits au niveau du rodage au crayon de papier ou gravé directement sur la lame avec une pointe de diamant ou un graveur électrique.

## Généralité sur les microtomes

Il existe une très grande variété de modèle (non automatisé ou semi-automatique) dont les caractéristiques, le fonctionnement et la description sont sensiblement communs. Cet instrument de précision (dont la manipulation et l'entretien doivent être conduits avec soin) est équipé d'un(e) :

- roue motrice actionnée à l'aide d'une manivelle ;
- levier d'arrêt qui verrouille la roue ;
- porte-objet muni d'une mâchoire fixe et d'une mâchoire mobile où le bloc de paraffine (la cassette) est fixé. Il est orientable à l'aide de vis de réglage et tenu en place par une vis de blocage ;
- échelle graduée divisée en paliers de 0,5 à 100  $\mu\text{m}$  qui indique l'épaisseur de coupe et du dégrossissage, que l'on règle avec une vis micrométrique ;
- chariot (que l'on peut déplacer d'avant en arrière pour le rapprocher ou l'éloigner de l'objet) muni d'une base amovible pour régler l'angle de coupe et d'un support lame de rasoir (équipé d'un protège-doigts) maintenu en place par un levier de serrage ;
- bac de récupération à déchets pour les copeaux de paraffine (fig. 3-32).

## Mode d'utilisation d'un microtome pour la confection des coupes

L'opérateur fait tourner une roue motrice à l'aide d'une manivelle. La lame de rasoir est fixe et le bloc se déplace verticalement pendant la confection des coupes. Il subit deux mouvements, l'un horizontal qui détermine l'épaisseur de coupe,



Fig. 3-32 Microtome. Poste de coupe.

l'autre vertical qui le fait entrer en contact avec la lame de rasoir. Après le changement du bloc ou la position de la lame de rasoir, il est nécessaire d'effectuer de nouveau un rapprochement entre le bloc et la lame, voire certains réglages.

## ● Attention

Danger de blessures aux mains. Les pièces en mouvement ainsi que la lame de rasoir représentent un danger potentiel. Toujours mettre le levier d'arrêt de la roue motrice en position verrouillée lors du positionnement ou du retrait de la lame ou du bloc. Positionner le protège-doigts lors de la manipulation du bloc pour réduire les risques de blessure. Être vigilant lors de la confection des coupes. La lame de rasoir ne doit jamais rester sur le microtome en l'absence du manipulateur. Serrer correctement l'ensemble des vis des leviers de serrage.

## Installation et retrait de la lame de rasoir

Manipuler la lame de rasoir avec précaution pour ne pas endommager son tranchant qui est très délicat (on peut facilement y faire des encoches qui gênent à la coupe). Introduire la lame dans la fente derrière la plaque de pression. Bien l'ajuster puis l'immobiliser à l'aide d'un levier. Lorsque la lame est usée dans la zone de dégrossissage ou de coupe, elle peut être déplacée latéralement de manière à l'utiliser sur toute sa longueur. Après usage, jeter la lame dans un conteneur réservé aux objets tranchants et/ou coupants.

## Installation et retrait du bloc en paraffine

Pour placer ou enlever la cassette d'entre les mâchoires du porte-objet, il suffit de tirer sur le levier. Pour un serrage parfait, il est important que les surfaces extérieures de la cassette soient exemptes de paraffine. Le porte-objet peut être orienté à l'aide de vis de réglage afin que les faces inférieure et supérieure du bloc soient parallèles au tranchant de la lame et la surface du bloc parfaitement verticale (fig. 3-33).

## Réglage de l'angle de coupe

Pour obtenir des coupes utilisables, il est important de trouver l'inclinaison adéquate en diminuant ou en augmentant l'angle de coupe en fonction de l'échantillon tissulaire à couper. Le réglage diffère selon le type de microtome. Il varie généralement entre 5 et 10° et se lit sur une échelle graduée

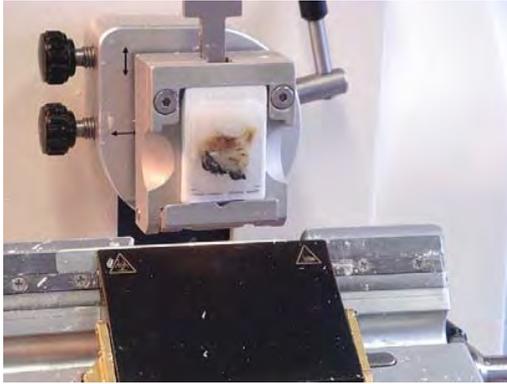


Fig. 3-33 Cassette insérée dans le porte-objet du microtome.

située au niveau de la base du chariot. Éviter un angle trop plan sinon le tranchant ne peut pas pénétrer dans le bloc. Éviter un angle trop raide sinon la lame se met à vibrer de façon trop intense lors du processus de coupe, ce qui peut provoquer des stries sur le bloc et la coupe.

### Dégrossissage ou rabotage

Cette étape consiste à enlever la couche de paraffine qui recouvre le tissu afin d'obtenir des coupes utiles. Le bloc doit donc être suffisamment entamé pour que toute la lésion soit bien représentée. Reculer le porte-objet au maximum et veiller à une approche soignée entre le bloc et la lame. Pour réduire la durée du rabotage, ajuster à l'aide de la vis micrométrique l'échelle à 10 ou 20  $\mu\text{m}$  selon l'échantillon tissulaire. Le dégrossissage terminé, la lame de rasoir doit être changée si son fil est endommagé.

### Confection des rubans

La qualité du tranchant de la lame est extrêmement importante. Il est indispensable que la face et le dos de la lame soient propres (exempts de paraffine) pour assurer des coupes de qualité. Régler l'épaisseur des coupes en ajustant l'échelle à 3–4  $\mu\text{m}$ . La régularité du mouvement de la roue motrice facilite la confection du ruban qui s'effectue lors de la descente du bloc au contact avec la lame de rasoir. Sous l'action de la chaleur produite par le frottement avec la lame, la paraffine fond légèrement ce qui permet aux sections tissulaires d'adhérer les unes aux autres et de former le ruban. Dès l'apparition des premières coupes sur le plat du rasoir, saisir à l'aide d'une pince l'extrémité du



Fig. 3-34 Réalisation d'un ruban au microtome.



Fig. 3-35 Refroidissement de la surface du bloc avec un aérosol de congélation.

ruban, le tenir relevé pour éviter tout collement (afin de minimiser le contact entre les coupes et la lame du rasoir) et par légère traction le tirer délicatement (fig. 3-34).

**À noter :** une élévation de la température mène au ramollissement de la paraffine. Si le bloc est réchauffé, le replacer sur une plaque réfrigérante au congélateur ou refroidir la surface (sans retirer la cassette du porte-objet) avec un aérosol de congélation (fig. 3-35).

### Vitesse de coupe

La vitesse varie selon les pièces à couper et doit être adaptée à chacun des tissus; certains se prêtant bien à un travail rapide et d'autres moins. Si on travaille trop rapidement les coupes peuvent être exagérément compressées et si on va trop lentement la coupe peut s'arrêter au milieu d'un

tissu. Pendant la coupe, le bloc est comprimé. Si la coupe est suspendue quelques instants, le bloc se décompresse et la première section tissulaire obtenue est plus épaisse.

### Principaux problèmes rencontrés pendant la coupe

Les problèmes rencontrés pour confectionner des coupes ou obtenir des rubans de qualité peuvent être les conséquences d'une mauvaise imprégnation et/ou inclusion en paraffine des tissus, ou être dus à un mauvais réglage ou serrage des vis du microtome, à la lame de rasoir qui est endommagée ou sale, à la température ambiante qui est trop élevée (tableau 3-8).

### Étalement des rubans

Les tissus inclus en paraffine sont très comprimés pendant la coupe. Afin d'atténuer cette compression et d'enlever du tissu les plis, il faut procéder au ramollissement de la paraffine sous l'action de la chaleur. C'est la face de la coupe (qui est dirigée vers l'arrière) qui doit être apposée sur une lame de verre car sa régularité facilite son adhésion. Le facteur essentiel d'une bonne adhérence des coupes est la propreté des lames de verre ainsi que la qualité des coupes.

L'étalement des coupes peut être effectué soit sur une platine chauffante<sup>(1)</sup>, soit par flottaison à la surface d'un bain-marie (fig. 3-36) thermostaté à 37 °C contenant de l'eau distillée et de la gélatine à 1 %<sup>(2)</sup>. La gélatine permet une meilleure adhérence

**Tableau 3-8** Résoudre un problème de coupe.

	Cause	Solution
<b>Avance impossible pour confectionner des coupes</b>	Position avant extrême atteinte	Repositionner le porte-objet en le déplaçant vers l'arrière
<b>Il ne se forme pas de ruban</b>	Angle de coupe trop grand	Diminuer l'inclinaison de l'angle de coupe
<b>Il y a des zones d'épaisseur inégale sur une même coupe. Le microtome « saute » des coupes</b>	Angle de coupe défavorable	Corriger l'angle de coupe
	Paraffine ou tissu trop durs	Changer la lame. Utiliser un microtome plus robuste
	Stabilité du microtome insuffisante	Vérifier tous les assemblages de serrage : lame de rasoir, bloc, leviers et vis
<b>Les coupes sont comprimées, plissées et écrasées les unes sur les autres</b>	Angle de coupe défavorable	Corriger l'angle de coupe
	Lame de rasoir émoussée	Déplacer ou changer la lame
	Paraffine trop molle	Refroidir le bloc
	Reste de paraffine sur le tranchant de la lame	Nettoyer les deux côtés de la lame et son support
	Température ambiante trop élevée	Refroidir le bloc
	Tissu plus mou que la paraffine	Reprendre l'imprégnation et l'inclusion
<b>Les coupes se déchirent</b>	Lame de rasoir usée	Déplacer ou changer la lame
	Paraffine refroidie trop lentement (cristallisation)	Réinclure
	Tissu dur et cassant	Retirer le calcaire (décalcification)
	Tissu trop mou ou spongieux	Reprendre l'imprégnation et l'inclusion
<b>Le ruban se fend, les coupes sont striées ou vibrées</b>	Angle de coupe défavorable	Corriger l'angle de coupe
	Lame ébréchée ou usée	Déplacer ou changer la lame
	Impureté dans la paraffine	Réinclure
<b>La lame de rasoir « crisse » en coupant</b>	Angle de coupe défavorable	Corriger l'angle de coupe
	Tissu trop dur	Vérifier si une décalcification a été faite
<b>Les coupes s'envolent, viennent se coller sur le microtome ou sur les objets de coupe</b>	Présence d'une charge électrostatique due au frottement pendant la coupe	Augmenter l'humidité de l'air Raccorder le microtome à la terre Éviter certaines tenues vestimentaires
	Fenêtres ouvertes ou ventilation (climatisation)	Fermer les fenêtres ou arrêter la ventilation (climatisation)



**Fig. 3-36** Étatement d'un ruban par flottaison dans un bain-marie.

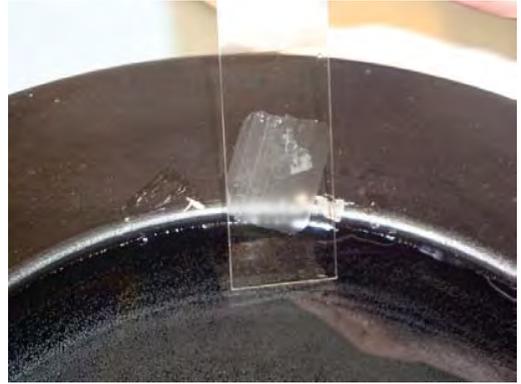
des coupes sur les lames de verre. Après usage, la gélatine à 1 % est gardée au réfrigérateur :

- <sup>(1)</sup> le ruban est directement étalé sur la lame recouverte d'eau gélatinée pour le défriper ;
- <sup>(2)</sup> le ruban est déposé dans le bain-marie (couramment appelé piscine) pour l'étendre. La section tissulaire sélectionnée est détachée du ruban avec un objet lancéolé (bistouri, pic) puis récupérée sur une lame (fig. 3-37).

Il est important de contrôler la qualité de chaque coupe. S'assurer qu'il n'y a pas de plis ni de stries, que l'intégrité du prélèvement a été coupée et que le centrage du ruban sur la lame est parfait. La base de la lame peut être drainée sur du papier absorbant avant de la mettre à sécher à température ambiante en position verticale sur un portoir. Avant d'entreprendre la coupe d'un autre bloc, vérifier qu'il ne reste aucune coupe ou petits dépôts de paraffine dans le bain-marie.

### ● **Recommandations**

Les rubans de coupe destinés aux colorations standard (HES) et spéciales (excepté les colorations argentiques) sont étalés sur des lames de verre ordinaire. Ceux destinés à une étude immuno-histochimique, d'hybridation *in situ* ou une coloration argentique sont étalés dans un bain-marie à 37°C contenant de l'eau distillée puis récupérés sur des lames de verre chargées positivement facilitant ainsi leur adhérence. Pour certains types de prélèvement des niveaux de coupe sont nécessaires, les rubans sont récupérés dans l'ordre de leur obtention sur des lames identifiées (niveaux 1, 2, 3...). En vue de techniques complémentaires, des coupes



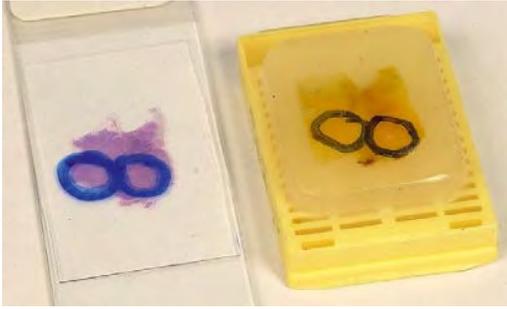
**Fig. 3-37** Récupération sur lame d'une section de coupe.

supplémentaires peuvent être réalisées, les lames blanches sont stockées dans des boîtes à l'abri de la poussière.

## Bloc multitissulaire

Le bloc multitissulaire (ou *tissue array*) correspond à un bloc de paraffine comportant un nombre important de « carottes » de petit diamètre compris entre 0,6 à 4 mm alignées dans un ordre précis correspondant à un fragment tissulaire. Les aiguilles de petit calibre (0,6 à 1 mm) sont le plus couramment utilisées car elles permettent de déposer un plus grand nombre de prélèvements par bloc « receveur » et endommagent moins le bloc « donneur ». Pour organiser et retrouver le positionnement des nombreux prélèvements contenus par bloc, il est utile de s'aider d'un tableau informatisé.

La fabrication comporte plusieurs étapes délicates. Dans un bloc de paraffine vierge (bloc receveur), des carottes cylindriques sont pratiquées grâce à un emporte-pièce laissant ainsi des trous qui accueilleront les carottes provenant de divers échantillons tissulaires. Les points de carottage sont repérés sous microscope sur une coupe HES. Ils sont identifiés sur la lame à l'aide d'un stylo-feutre. La lame est superposée sur le bloc (donneur) correspondant afin de permettre le repérage des zones d'intérêt à carotter (fig. 3-38). Le prélèvement de la carotte du bloc donneur est ôté par un emporte-pièce puis amené à la surface du bloc receveur. À l'aide d'un stylet, la carotte est poussée hors de l'emporte-pièce et transférée dans le



**Fig. 3-38** Bloc multitissulaire.

Région d'intérêt à carotter pour être transférée dans le bloc receveur.



**Fig. 3-40** Vérification coupes/blocs multitissulaires.



**Fig. 3-39** Fabrication d'un bloc multitissulaire.



**Fig. 3-41** Aspect macroscopique d'une coupe multitissulaire après immuno-histochimie (peroxydase/DAB).

trou du bloc receveur préfabriqué. Le bloc multitissulaire se construit en répétant cette opération (fig. 3-39). De ce fait, il peut comporter de nombreuses carottes de différents prélèvements.

Cette microtechnologie a pour avantage de pouvoir après la coupe observer au microscope un jeu ordonné de tissus différents réunis sur une seule lame (fig. 3-40). Elle peut être utile dans le développement de nouvelles techniques, pour la validation de marqueurs immuno-histochimiques (fig. 3-41) et la réalisation des contrôles qualité. Pour des études rétrospectives, les tissus fixés par le liquide de Bouin ne permettent pas certaines analyses, la biologie moléculaire en particulier.

### ● **Attention**

La coupe au microtome d'un bloc multitissulaire est plus délicate que celle d'un bloc de paraffine

classique. Parfois les carottes adhèrent mal au bloc récepteur et des échantillons peuvent être perdus lors de la confection des coupes.

## Étapes préparatoires à la coloration

### Séchage des lames

Pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre avant l'étape de déparaffinage, les lames doivent être « cuites ». Cette cuisson permet d'éliminer (par évaporation) la pellicule d'eau qui se trouve entre la coupe et la lame. Elle est réalisée dans une étuve dont la température doit être légèrement inférieure au point de fusion de la paraffine utilisée. Les portoirs de lames sont placés (de préférence en position horizontale) dans une étuve ventilée à 58°C pendant 1 heure.

**Tableau 3-9** Cycle de déparaffinage et de réhydratation.

Étapes	Temps
Toluène	5 minutes × 3 bains
Éthanol absolu	2 minutes × 2 bains
Éthanol 95°	2 minutes × 1 bain
Eau	2 minutes × 2 bains

## Déparaffinage

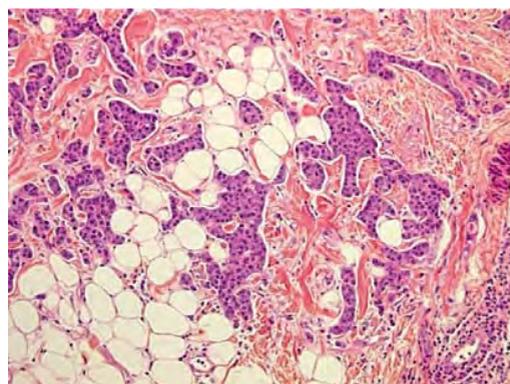
La première étape de toute coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer. À la sortie de l'étuve, les lames subissent (dans un automate pour une bonne reproductibilité) un déparaffinage afin d'éliminer la paraffine à l'aide d'un solvant (toluène, xylène), puis une réhydratation qui consiste à substituer progressivement le solvant du tissu par des bains d'éthanol décroissants pour amener à l'eau (tableau 3-9). Le toluène est le solvant le plus utilisé car c'est un agent éclaircissant qui dissout le mieux la paraffine.

Étant donné que la plupart des colorants sont utilisés en solution aqueuse, leur pénétration ne peut être assurée que si les coupes sont imprégnées d'eau. L'hydratation a pour objet de retirer le toluène et de le remplacer par de l'eau. Les lames doivent être entièrement immergées dans des bains de toluène et d'éthanol propres (non pollués par la paraffine).

Les problèmes les plus fréquents liés à l'hydratation sont le décollement des coupes et l'enlèvement incomplet du toluène. À la fin du cycle de déparaffinage, la coupe paraît transparente alors que l'imprégnation par l'éthanol la rend normalement opaque. On observe vite si l'hydratation n'a pas été bien faite car le tissu ne s'opacifie pas aux endroits où il reste du toluène. Lorsque le déparaffinage a été mal fait des zones d'inégalité (où la couleur n'a pas pris à côté d'autres régions où la coloration s'est fixée) peuvent être observées en fin de coloration. Il peut également arriver qu'un enlèvement défectueux de la paraffine laisse un pigment biréfringent intranucléaire (artefact). Pour éviter ces problèmes, il est nécessaire de changer les bains régulièrement.

## Coloration

Le fait de colorer les coupes permet de visualiser les trois principaux constituants morphologiques



**Fig. 3-42** Aspect microscopique de la coloration hématoxyline éosine safran (HES).

Vue d'ensemble (sein, carcinome canalaire infiltrant).

des tissus. La coloration usuelle la plus utilisée est la coloration hématoxyline éosine safran – HES (fig. 3-42). Elle renseigne sur la répartition, l'architecture et la structure des cellules (cf. p. 104). Le but de cette coloration trichromique est d'associer un colorant nucléaire (noyaux bleus), un colorant cytoplasmique (cytoplasmes roses à rouges), et un colorant du tissu conjonctif (jaune orangé). Son principal avantage est la coloration jaune orangé donné au collagène (constituant fibreux majeur du tissu conjonctif) par le safran. Compte tenu du coût non négligeable du safran, une méthode bichromique – la coloration hématoxyline éosine (HE) – est parfois utilisée. L'éosine teinte en rose non seulement les cytoplasmes mais aussi le collagène en rose pâle et les fibres élastiques en rose vif. L'HES suffit généralement à porter un diagnostic mais peut être complétée par des colorations spéciales.

## Étapes préparatoires au montage

### Déshydratation

Cette étape permet de préparer les lames après une coloration afin de réaliser un montage en résine. Les préparations subissent une déshydratation qui consiste à retirer l'eau des coupes par des bains successifs d'éthanol absolu puis à un éclaircissement dans des bains de toluène, celui-ci étant miscible avec le milieu de montage (tableau 3-10). Cette étape doit être rapide car l'éthanol (surtout

**Tableau 3-10** Cycle de déshydratation.

Étapes	Temps
Éthanol absolu	2 minutes × 2 bains et 1 minute × 1 bain
Toluène	1 minute × 2 bains

en faible concentration) est susceptible d'extraire plusieurs colorants des coupes. L'éthanol absolu du dernier bain peut être remplacé par l'alcool isopropylique (isopropanol  $C_3H_8O$ , liquide inflammable) qui a moins tendance à dissoudre les colorants, et qui possède les mêmes propriétés que le toluène, mais est moins nocif.

### Montage

Cette opération (réalisée par un automate ou manuellement) consiste à fixer à l'aide d'une résine synthétique une lamelle couvre-objet sur la coupe afin de la protéger de la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent à l'air et des bris mécaniques (*cf.* p. 50).

### Préparation des plateaux de lecture

Cette étape post-coloration consiste en une vérification rigoureuse de chaque lame avec son bloc d'origine (*fig.* 3-43) et sa fiche de travail (accompagnée éventuellement de la fiche de macroscopie) puis identifiée avant d'être transmise au pathologiste pour l'interprétation microscopique.



**Fig. 3-43** Vérification d'une série de coupes après coloration par l'hématoxyline éosine safran (HES) et montage des préparations (lamelle couvre-objet).

Il est important de vérifier que l'intégrité du prélèvement se trouve sur la coupe colorée sans plis ni stries et que le nombre de prélèvements indiqué sur la fiche de travail est le même que celui retrouvé sur la coupe et le bloc. La coupe ne doit pas être trop épaisse, la coloration homogène et la lamelle de montage bien centrée et sans bulle d'air (*fig.* 3-44). Chaque lame est identifiée par une étiquette (informatisée ou manuscrite) indexée de la lettre et/ou du chiffre puis collée au niveau du rodage. Des informations complémentaires telles que les niveaux de coupe, la coloration spéciale réalisée ou l'anticorps utilisé doivent de plus y être annotées. Après vérification et étiquetage, le nombre de blocs pour chaque série doit être identique à celui noté sur la fiche de travail. Les lames sont classées sur des plateaux, par série et par patient en suivant l'ordre de la fiche de travail, et transmises au médecin pour la lecture.

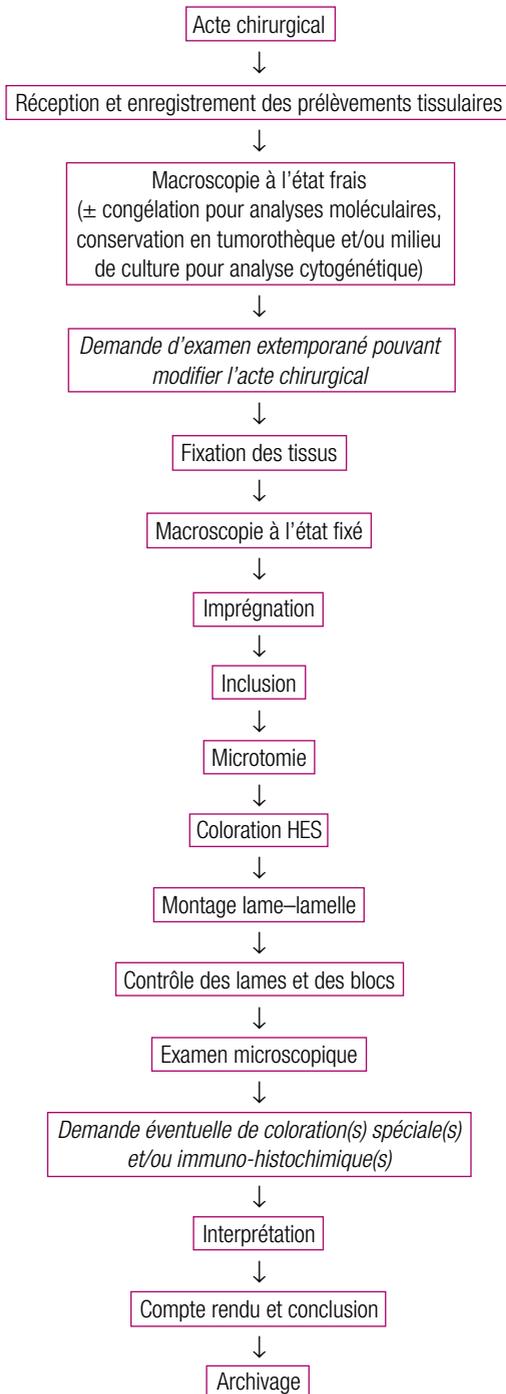
### Examen microscopique

Le pathologiste juge si l'interprétation des coupes colorées par l'HES est suffisante pour établir un diagnostic ou s'il doit être complété par d'autres techniques (histochimiques et/ou immuno-histochimiques). Pour certains cas, les premiers niveaux de coupe d'un bloc déterminé ou d'une série de blocs ne sont pas informatifs pour mettre en évidence des aspects lésionnels. De ce fait, une recoupe du bloc ou une macroscopie sur les résidus conservés en réserve (qui sont identifiés comme un deuxième départ) sont demandées.



**Fig. 3-44** Coupe colorée (HES)/bloc d'inclusion.

## Étapes de préparation d'un spécimen tissulaire pour analyse histologique



## Cytologie

### Définition

La cytologie est l'examen microscopique de cellules, isolées ou en petits amas, étalées sur lame de verre et colorées pour permettre de distinguer plus aisément leur aspect, leur origine et leurs anomalies afin d'établir un cytodagnostic. Elle a l'avantage de montrer les détails cellulaires et l'inconvénient de ne fournir aucune indication sur l'organisation tissulaire, les anomalies architecturales et les aspects d'envahissement. La cytologie doit être considérée comme une méthode de dépistage, d'approche ou de complément pour le diagnostic d'une lésion. Son avantage est de pouvoir donner un résultat urgent le jour même, voire dans l'heure qui suit le prélèvement car les méthodes et les techniques sont rapides.

Le cytodagnostic repose sur les connaissances des caractères morphologiques des cellules normales ou pathologiques isolées de leur contexte tissulaire : la taille et la forme des cellules, leur mode de groupement, ainsi que le type des substances intercellulaires. Il permet donc de détecter la présence de cellules anormales mais ne peut pas déterminer si un cancer est invasif ou pas. N'ayant pas de valeur médico-légale, il a surtout une valeur d'orientation diagnostic.

### Utilité de l'examen cytologique

- Dépistage des lésions pour orienter un diagnostic.
- Indispensable pour les lésions difficilement accessibles à la biopsie et/ou infracliniques.
- Confirme ou « redresse » parfois un diagnostic radio-clinique de bénignité ou de malignité.
- Ponction des ganglions satellites dans le bilan d'extension des cancers.
- Face à une métastase révélatrice d'un cancer, il permet de diriger la recherche d'une origine primitive.
- Confirme la métastase d'un cancer connu, ce qui permet d'évaluer le stade clinique.
- Évacue un kyste ou un liquide d'une cavité.
- Frottis de détection ou de surveillance en gynécologie (frottis cervico-utérins).
- Suivi thérapeutique et post-thérapeutique.

## Prélèvement cytologique

La cytologie intéresse à des fins diagnostiques principalement la gynécologie (frottis cervico-utérin et aspiration endométriale), mais également les liquides de l'organisme (écoulement; épanchement : ascite, liquide pleural; liquide céphalorachidien : LCR; urines), l'hématologie (ganglion et moelle osseuse) et la pathologie des organes (glandes salivaires, foie, poumon, rein, sein, thyroïde...). Les cellules isolées ou les petits amas cellulaires ainsi que les liquides peuvent être obtenus de diverses façons (tableau 3-11).

Les prélèvements cytologiques (selon leur origine) sont généralement réalisés par des médecins spécialistes au cours de leur consultation, au bloc opératoire ou au chevet du patient. Dans certaines

structures, il existe des consultations dédiées aux cytoponctions des lésions palpables (fig. 3-45), non palpables ou profondes (fig. 3-46). Elles sont assurées par des cytopathologistes « ponctionneurs » pour les lésions palpables et par des radiologues, éventuellement assistés d'un cytopathologiste, pour les lésions non palpables. Au cours de ces consultations, une coloration en extemporané similaire au May-Grünwald-Giemsa (MGG), le Diff Quik® (fig. 3-47; cf. tableau 3-19), peut être réalisée à partir d'un étalement (fig. 3-48) pour évaluer la cellularité de la cytoponction et établir un cytodiagnostic de présomption afin d'orienter le médecin vers l'application de certains examens complémentaires (bactériologique, biologie moléculaire, colorations spéciales, cytogénétique, immunochimique) et/ou la congélation

**Tableau 3-11** Différentes préparations cytologiques selon le type de prélèvement.

<b>Cytologie exfoliative</b>	Apposition ou empreinte (biopsie, pièce opératoire) Aspiration ou brossage par un orifice naturel souvent effectué au cours d'une exploration fibroscopique ou endoscopique Frottis ou grattage d'une desquamation cutanée, de revêtement d'une muqueuse ou d'une séreuse Produit de sécrétion : écoulement mamelonnaire, expectoration, urines...
<b>Cytoponction</b>	Lésion palpable ou superficielle d'un organe ou d'une tumeur de différents sièges anatomiques (ganglion, nodule mammaire ou thyroïdien...) Guidée par imagerie médicale (échographique ou scannographique) qui repère à la fois l'aiguille (visible en temps réel) et son objectif qui n'est pas palpable ou profond
<b>Ponction</b>	Liquide de ponction lombaire (LCR) Épanchement normal ou pathologique dans une cavité séreuse (pleurale, péritonéale) ou articulaire Collection lymphatique, kyste Moelle osseuse (myélogramme) et échantillon de moelle (pool médullaire)



**Fig. 3-45** Cytoponction d'une masse parotidienne.



**Fig. 3-46** Cytoponction échoguidée d'une lésion mammaire (évacuation d'un kyste).



Fig. 3-47 Coloration rapide d'un étalement au Diff Quik®.



Fig. 3-48 Préparations cytologiques. Lames blanches en vue d'une coloration par le May-Grünwald-Giemsa (MGG) et lame colorée au Diff Quik®.

(sur tube sec) en azote liquide pour tumoro-thèque. Cet examen permet aussi de réduire au strict minimum le nombre de cytoponctions et/ou biopsies. Pour la cytologie en milieu liquide, le produit de cytoponction est directement placé dans un flacon contenant un conservateur spécifique. Si du liquide est recueilli (cf. fig. 4-5), celui-ci est placé dans un tube hépariné (pour éviter une éventuelle coagulation) en attendant d'être technique ultérieurement au laboratoire, l'aspect (couleur, limpidité, viscosité) ainsi que la quantité prélevée sont notés sur la fiche d'examen.

## Cytopréparation des échantillons cellulaires

Les échantillons cellulaires soumis à la cytopréparation sont techniqués selon des protocoles en vigueur et le plus rapidement possible afin d'éviter les altérations cellulaires dans le but d'obtenir des étalements contributifs et des colorations de qualité (tableau 3-12). En cas de besoin, par exemple en dehors des heures d'ouverture du laboratoire, un liquide peut être provisoirement stocké dans un réfrigérateur à + 4 °C, excepté le LCR qui doit impérativement être techniqué dans les plus brefs délais à cause de sa fragilité.

Tableau 3-12 Méthode de préparation cytologique selon le type du prélèvement.

Échantillon cellulaire	Méthode
Aspiration et brossage bronchiques	Étalement direct à la brosse et/ou étalement en couche mince (LBC)
Échantillon de moelle osseuse	Centrifugation sur Ficoll® puis cytospot
Lavage broncho-alvéolaire	Selon la recherche de cellules tumorales <sup>(1)</sup> ou d'agents pathogènes <sup>(2)</sup> le mode opératoire est différent : <sup>(1)</sup> centrifugation puis étalement manuel et/ou en couche mince ou étalement direct à la brosse <sup>(2)</sup> numération en cellule de Malassez avec du bleu trypan puis cyto-centrifugation (5.10 <sup>4</sup> cellules/lame en spot de 500 µl) pour la réalisation de colorations spéciales
Liquides (ascite, kyste, liquide pleural)	Centrifugation puis étalement manuel et/ou en couche mince
Liquide céphalorachidien (LCR) et liquides translucides ou clairs	Cyto-centrifugation (cytospot)
Urines	Filtration sur pompe à vide ou centrifugation et suivant le culot obtenu, réalisation d'étalement manuel ou en couche mince

### ● **Attention**

Les échantillons biologiques, en particulier le liquide céphalorachidien (LCR) et le lavage broncho-alvéolaire (LBA), présentent un risque infectieux important. Manipuler les échantillons biologiques avec des gants et, si nécessaire, avec une protection respiratoire (masque).

## Confection des étalements

Les étalements doivent être réalisés sur des lames propres et sèches sans trace d'empreintes digitales. La qualité des étalements conditionne la qualité de l'étude morphologique. Les frottis hémorragiques, trop épais ainsi que les superpositions cellulaires peuvent gêner l'interprétation microscopique.

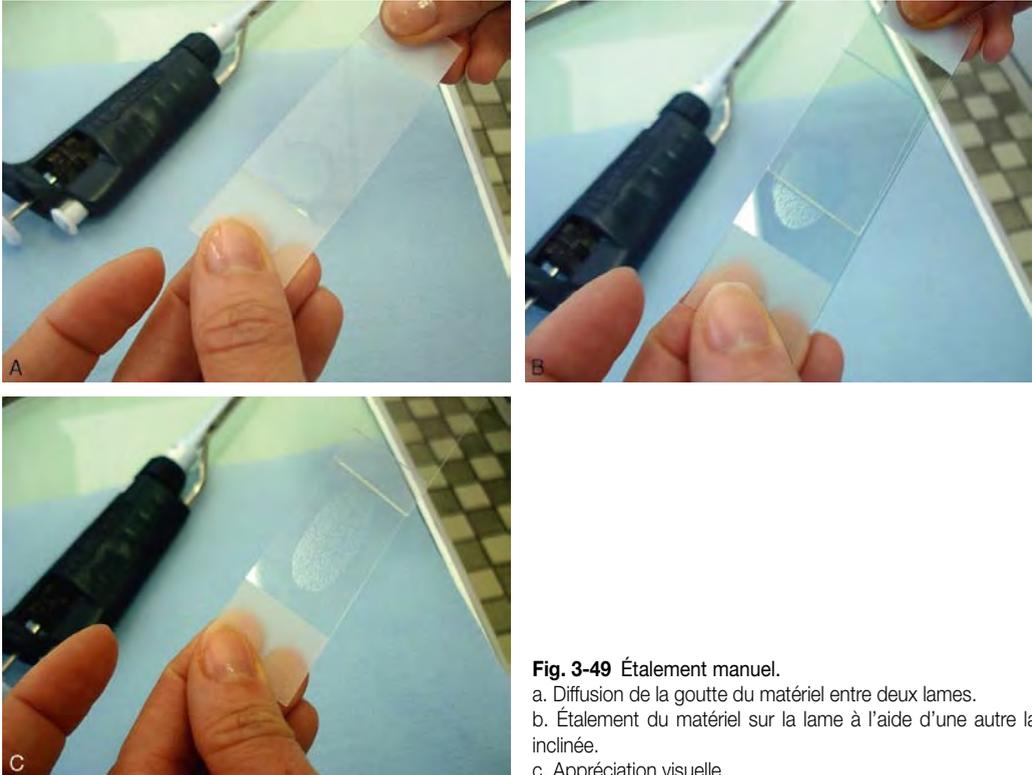
### Étalement manuel conventionnel

L'étalement est un temps capital de la cytologie. Ce geste simple doit être parfaitement maîtrisé pour

éviter un écrasement des cellules ou des amas en plusieurs couches peu interprétables. Une goutte du matériel est délicatement déposée à l'extrémité d'une lame ordinaire au-dessous de la partie dépolie. L'étalement est réalisé (dans le sens de la longueur de la lame) à l'aide d'une autre lame légèrement inclinée sur la goutte afin que le matériel puisse diffuser entre elles deux (fig. 3-49a). Le geste doit être rapide pour éviter la coagulation (si le matériel est hématique; cf. fig. 4-4b), de façon uniforme sans retour en arrière ni déviation et à vitesse constante afin de bien dissocier les placards cellulaires et ne pas endommager les cellules (fig. 3-49b). L'appréciation visuelle de la lame fraîchement étalée et encore humide permet de contrôler la qualité du matériel et de l'étalement (fig. 3-49c).

### ● **Attention**

Éviter un geste trop appuyé qui produit des étirements cellulaires artificiels lors de la lecture et



**Fig. 3-49** Étalement manuel.

a. Diffusion de la goutte du matériel entre deux lames.

b. Étalement du matériel sur la lame à l'aide d'une autre lame inclinée.

c. Appréciation visuelle.

tout geste en zigzag, arrêt brusque ou retour en arrière d'étalement donnant des superpositions cellulaires souvent difficiles à analyser. Les étalements de type frottis sanguin sont déconseillés.

### Étalement à l'aide d'un dispositif de prélèvement

Cette méthode d'étalement est le plus souvent réalisée pour les frottis cervico-utérins ou les aspirations et brossages bronchiques. À l'aide d'un dispositif de prélèvement (balai, cytobrosse, écouvillon ou spatule), le matériel obtenu est déposé en frottant le dispositif sur une lame. Pour les aspirations et les brossages bronchiques, à l'aide d'une cytobrosse plongée et agitée manuellement dans la suspension (fig. 3-50a), du matériel est directement étalé par des mouvements de rotation de celle-ci sur une lame (fig. 3-50b).

### Écrasi

Il est réalisé à partir d'un fragment tissulaire de consistance molle ou après un broyage (au scalpel) d'un morceau plus dur. Le fragment ou le produit de broyage est écrasé ou étiré entre deux lames.

### Empreinte ou apposition

Elle est obtenue par application sur lame d'un fragment biopsié (biopsie médullaire) ou de la tranche de section nette d'une pièce d'exérèse fraîche et

ouverte selon son grand axe avant sa fixation (ganglion, tumeur). La même tranche de section peut être apposée en des endroits différents de la même lame en respectant un intervalle entre chaque apposition (*cf.* fig. 3-60a). La réalisation d'une apposition n'entraîne aucune déformation des cellules. Elle permet d'obtenir une excellente image cytologique de la tumeur et une approximation de son architecture puisque l'on observe un calque de la tranche de section.

### Cytopréparation des liquides

Il existe plusieurs procédés techniques pour récupérer des cellules en suspension dans un liquide physiologique ou de conservation. Selon l'origine de l'échantillon et son aspect (clair, hémorragique, visqueux...), des modes opératoires différents peuvent être réalisés. La centrifugation classique permet d'obtenir une concentration cellulaire accumulée soit au fond d'un tube conique, soit au-dessus d'un produit chimique (par variation de densité) comme le Ficoll®. La cytocentrifugation représente une aide inestimable pour le diagnostic grâce à la concentration des cellules et à leur étalement monocellulaire sur une surface réduite offrant une lecture rapide de la préparation. La technique de filtration sur membrane est une technique permettant de regrouper les cellules



**Fig. 3-50** Étalement à l'aide d'une cytobrosse.

- Récupération d'un échantillon du prélèvement à l'aide d'une cytobrosse plongée dans la suspension (aspiration bronchique).
- Étalement du matériel sur lame.

lorsqu'elles sont en faible concentration dans de grands volumes de liquide ou lorsque le volume est trop réduit pour être traité par la centrifugation habituelle.

**Centrifugation**

Système qui utilise la force centrifuge pour séparer les constituants de masses volumiques différentes, les plus lourds s'accumulant au fond du tube formant ainsi le culot. Dans certains cas, les éléments cellulaires sont plus légers que les hématies et forment une sorte d'anneau rosé ou blanchâtre entre le culot hématique et le surnageant (tableau 3-13).

Le liquide placé dans un tube bouché (conique en matière plastique) est déposé dans une des nacelles de la centrifugeuse qui doit être équilibrée avec un tube identique contenant le même volume (fig. 3-51). Dans une enceinte fermée, le liquide subit une rotation dont la vitesse et le temps sont prédéfinis en fonction du matériel (2500t/min pendant 5 minutes pour une ascite, un kyste ou un liquide pleural). À la fin du programme, le surnageant est éliminé et le culot obtenu récupéré à l'aide d'une pipette automatique (fig. 3-52) afin de réaliser des étalements manuels et/ou en couche mince.

**Centrifugation sur gradients de densité**

Les variations de densité sont obtenues en faisant varier la concentration d'un produit chimique dans une solution. Le Ficoll® (polymère de glucose, l'épichlorohydrine) a pour principal avantage de produire des densités élevées sans générer de fortes pressions osmotiques.



Fig. 3-51 Centrifugeuse Eppendorf Centrifuge 5810®.

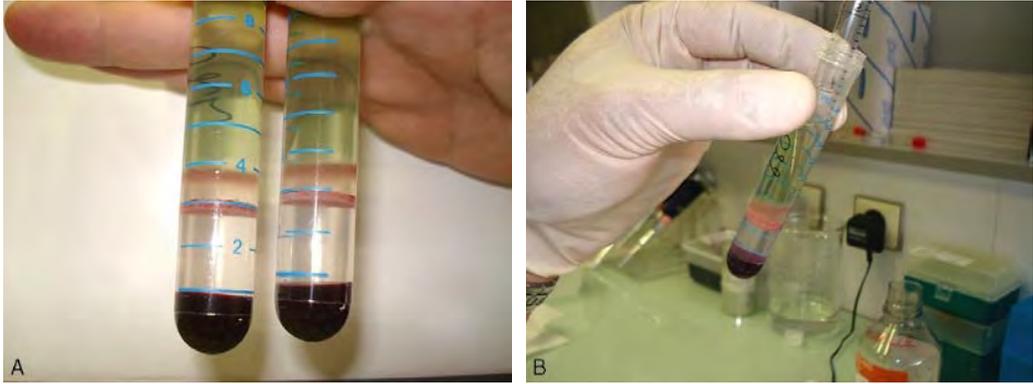


Fig. 3-52 Récupération du culot de centrifugation à l'aide d'une pipette automatique.

Tableau 3-13 Aspects post-centrifugation.

<b>Culot suffisamment riche</b>	Le liquide excédentaire (surnageant) est éliminé en veillant bien à « assécher » le matériel concentré
<b>Culot pauvre</b>	Le surnageant est pipeté (mais pas en totalité) délicatement le long de la paroi du tube. Le reste est remis en suspension « vortex » afin de réaliser une cyto-centrifugation
<b>Anneau</b>	Les cellules formant l'anneau sont récupérées à l'aide d'une pipette

Cette méthode permet d'obtenir une bonne concentration des éléments nucléés d'origine sanguine ou épithéliale en cas de prélèvement très hématique. Elle est aussi utilisée pour la détection des métastases et/ou des micrométastases dans la moelle osseuse. L'échantillon de moelle est déposé à la surface du Ficoll®. Après centrifugation (sans frein pour éviter l'activation des plaquettes), les cellules mononucléées se rassemblent en un anneau opaque au-dessus du Ficoll® (fig. 3-53a). Celui-ci est prélevé délicatement



**Fig. 3-53** Centrifugation sur gradients de densité.  
a. Anneaux formés au-dessus du Ficoll® après centrifugation.  
b. Récupération de l'anneau à l'aide d'une pipette.

avec une pipette afin de confectionner des cytopsots (fig. 3-53b).

### Cytocentrifugation

Système qui utilise la force centrifuge (dans une enceinte fermée) pour déposer les cellules en couche mince et homogène dans une zone bien définie d'une lame tout en préservant l'intégrité cellulaire (cf. fig. 3-60b).

La suspension est distribuée dans des cuves ou des godets auxquels sont associés un filtre et une lame, le tout assemblé grâce à un support. Cet ensemble est disposé sur un rotor à bascule qui doit être équilibré par un ensemble identique (fig. 3-54). La force centrifuge provoque

le basculement, les cellules sont déposées sur la lame tandis que le surnageant est absorbé par le filtre.

La Cytospin® est principalement utilisée pour les liquides (LCR) ou les suspensions peu abondantes et/ou paucicellulaires. La vitesse et le temps peuvent être programmés en fonction du matériel (700t/min pendant 5 minutes pour le LCR). En position de chargement ou à l'arrêt, les godets à échantillons sont inclinés de façon à éviter les fuites de liquide sur la lame et à limiter les pertes de cellules (fig. 3-55). Pendant le fonctionnement, les cellules sont projetées sur la lame perpendiculaire à l'axe de rotation formant ainsi un disque de 0,5mm tandis que le surnageant en excès est absorbé par le filtre.



**Fig. 3-54** Centrifugeuse Hettich Universal 16A® (cytopspot).



**Fig. 3-55** Cytospin 2 Shandon®.

## ● Conseils

Tenir compte du volume de liquide nécessaire (minima et maxima) correspondant à l'absorption du filtre utilisé. La concentration cellulaire (exacte ou approximative) de l'échantillon doit être établie avant la cyto-centrifugation. Les échantillons contenant une concentration cellulaire supérieure à la quantité optimale produisent des cytopoints avec des cellules trop condensées ou se chevauchant. Ceux contenant une concentration cellulaire trop faible produisent des cytopoints avec des cellules éparpillées difficiles à localiser.

## Décantation

La décantation (ou sédimentation) consiste à laisser reposer un liquide pour le séparer des particules inégalement denses qu'il tenait en suspension. Cette méthode est utilisée dans les techniques de cytologie en milieu liquide, car elle permet de séparer (sous l'action de la gravité) le matériel cytologique placé en suspension dans une solution spécifique afin de réaliser des étalements en couche mince.

## Filtration

La filtration permet d'obtenir une bonne concentration cellulaire et une morphologie d'excellente qualité. La filtration sur pompe à vide permet de retenir les cellules d'intérêt contenues dans un liquide (urines) grâce à une membrane microporeuse (de quelques microns). Après passage

complet du liquide, cette membrane est récupérée à l'aide d'une pince pour être apposée sur une lame (*cf. fig. 3-60b*).

## Fixation des étalements

Ce sont les protéines de la sérosité, enserrant les cellules, qui favorisent l'adhésion de celles-ci à la lame. La fixation se fait généralement par l'utilisation de solutions fixatrices ou par séchage à l'air. Elle est déterminée par le choix des colorations employées et des techniques spéciales éventuelles envisagées. Elle doit impérativement être adaptée à la coloration qui suit car elle conditionne sa qualité (*tableau 3-14*). Une fixation défectueuse provoque des artefacts qui peuvent être à l'origine d'erreurs d'interprétation. En son absence, les cellules s'altèrent très vite, perdent leurs caractéristiques morphologiques et deviennent ininterprétables.

Pour une étude immuno-cytochimique la fixation est choisie en fonction du marqueur recherché et de la technique utilisée (enzymatique ou en fluorescence).

## Cytologie en milieu liquide

À côté de la technique traditionnelle d'étalement manuel (frottis conventionnel; *cf. fig. 3-60a*) réalisé par le médecin préleveur, il existe des

**Tableau 3-14** Fixation selon la coloration envisagée.

Coloration	Fixation
<b>MGG ou Diff Quik®</b>	Agitation manuelle ou séchage avec un séchoir à cheveux en position « air froid » pour que les cellules soient collées par la sérosité desséchée Séchage à l'air libre et à température ambiante <i>Attention ! Surtout ne pas sécher les étalements en chauffant, sinon il y a détérioration des structures cellulaires</i>
<b>Papanicolaou</b>	Immersion immédiate de l'étalement, du frottis ou du spot cellulaire encore humide dans un flacon d'éthanol 95° (en séparant les lames par un trombone) ou par pulvérisation douce d'un spray spécial pour fixation cytologique (à base d'alcool isopropylique et de polyéthylène glycol) à environ 15 cm de distance Fixation : au moins 1 heure <i>À noter : un défaut de fixation est perceptible après la coloration par le manque de détails cellulaires associé à une pâleur, une éosinophilie nucléaire et cytoplasmique. L'éthanol utilisé seul en tant que fixateur doit avoir une concentration supérieure à plus de 80 %, sinon il peut lyser les globules rouges et les cellules</i> <i>Attention ! La fixation par séchage à l'air est proscrite. Si les lames parviennent sèches, les réhydrater pendant 10 minutes dans du sérum physiologique puis les immerger dans un bain d'éthanol 95° pendant 1 heure</i>
<b>Coloration spéciale</b>	Choisie en fonction de la substance à mettre en évidence ; par exemple, pour la recherche de mucosubstances, fixation à l'air ou par immersion dans l'éthanol 70°

techniques d'étalement cellulaire sur lames après fixation en milieu liquide et réalisées au laboratoire par le (la) technicien(ne) ou par un automate (cf. fig. 3-60b). Cette technique de cytologie en milieu liquide, développée initialement pour les prélèvements gynécologiques, est adaptable aux prélèvements non gynécologiques. La cytologie en milieu liquide (LBC : *liquid based cytology*) présente l'avantage de gommer les imperfections dépendant du geste du médecin au moment de la réalisation des étalements sur lames (artefacts et de fixation), le matériel cytologique obtenu étant directement mis en contact avec un conservateur spécifique. Celui-ci fixe immédiatement les cellules, éliminant tout risque de dénaturation pour garantir les qualités morphologiques et moléculaires du matériel prélevé.

Au-delà du diagnostic cytomorphologique, la méthode LBC offre la possibilité de confectionner des étalements supplémentaires (si le matériel restant dans le flacon est assez cellulaire) ou des prélèvements destinés en particulier aux techniques complémentaires de biologie moléculaire (recherche du papillomavirus humain [HPV] oncogènes pour la cytologie gynécologique) ou d'immuno-cytochimie utilisant un large panel de marqueurs (cytologies non gynécologiques). De plus, la conservation des prélèvements dans le liquide fixateur à + 4 °C ou à -20 °C (en tumoro-thèque) permet de prolonger la préservation des échantillons plusieurs mois sans les altérer. Cette banque cellulaire peut servir de témoins négatifs ou positifs pour des techniques d'immuno-cytochimie de diagnostic et s'avérer utile pour des études rétrospectives, la validation de nouveaux marqueurs immuno-cytochimiques, l'enseignement et des contrôles qualité.

Ces techniques, qui fournissent des préparations cellulaires homogènes et propres, ont rendu possible l'essor de techniques d'assistance à la lecture des frottis gynécologiques en sélectionnant les cellules d'intérêt (analyseurs d'images).

### Fixation

Le principe de la fixation est de conserver les cellules dans un état aussi proche de l'état biologique que possible en réduisant l'autolyse et en précipitant les

protéines contenues dans le cytoplasme. Chacune des techniques de LBC possède un liquide spécifique dont la composition reste secrète. En règle générale, ces solutions commercialisées contiennent un fixateur alcoolique (éthanol ou méthanol) à des concentrations variables avec des additifs tels que des agents hémolytiques et/ou mucolytiques pour empêcher la formation de fibrine, de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) pour dissocier les amas cellulaires et du polyéthylène glycol pour diminuer la rétraction cytoplasmique. Le temps de fixation recommandé par les différentes firmes est important. Il est nécessaire afin que les cellules offrent suffisamment de résistance au niveau de leur membrane cytoplasmique et nucléaire pour subir des contraintes mécaniques telles que l'agitation ou le dépôt sur lame.

### Différentes techniques

Plusieurs techniques sont commercialisées pour réaliser des étalements en couche mince. Ces techniques sont soit totalement manuelles, soit semi-automatisées, soit totalement automatisées. La première étape est identique pour toutes ces techniques et repose sur l'homogénéisation de la suspension cellulaire réalisée par agitation afin de séparer des groupes de cellules tout en préservant leur morphologie. Les étapes suivantes diffèrent au plan technique et peuvent être séparées en trois grands groupes : la centrifugation, la décantation et l'aspiration sur membrane microporeuse. Les techniques de centrifugation sont toujours des techniques manuelles qui n'effectuent aucun tri cellulaire et se contentent de projeter les cellules sur la lame d'étalement. Les techniques de décantation sont soit semi-automatisées, soit totalement automatisées, tout comme les techniques d'aspiration sur membrane microporeuse. Ces deux dernières techniques effectuent, avant ou pendant la réalisation de l'étalement en couche mince, un tri cellulaire de qualité variable. L'étalement final en couche mince présente des particularités en fonction des techniques utilisées avec des artefacts liés aux contraintes mécaniques, que sont essentiellement la centrifugation et l'aspiration sur membrane, et des densités cellulaires des étalements parfois très homogènes pour notamment

les techniques d'aspiration sur membrane ou parfois beaucoup plus variables pour certaines techniques de centrifugation ou de décantation, reflète de la qualité du prélèvement initial du médecin préleveur.

### Préparation de l'étalement en couche mince

La technique consiste à confectionner des étalements du matériel recueilli par frottis (col utérin, vagin), par ponction (organe plein, séreuse) ou par aspiration/brossage (liquide alvéolaire, bronche), placé dans une solution appropriée.

Les approches techniques sont différentes en fonction du site de prélèvement ou du type de cellules recueillies. Elles sont très simples et standardisées pour les cytologies gynécologiques (frottis de dépistage du cancer du col utérin) mais, en revanche, souvent plus complexes (plus de manipulations, différents types de milieu de fixation) pour les cytologies dites spéciales ou non gynécologiques. Seules les techniques semi-automatisées et automatisées sont développées ici, les techniques manuelles étant vouées à disparaître en raison de leur absence de standardisation, de l'importance de la surcharge de travail qu'elles représentent et des problèmes de contamination liés à l'effet nébulisation des milieux alcooliques en centrifugation. Les techniques semi-automatisées sont représentées par la technique PrepStain® de la firme Beckton-Dickinson (ancien TriPath Imaging) et par la technique ThinPrep® (TP) 2000 de la firme Cytoc. Les techniques automatisées sont représentées par les Novaprep® Processor System (NPS)

25, 50 et 100 de la firme Novacyt et par les TP® 5000 et 3000 de la firme Cytoc (tableau 3-15).

### Exemple de technique semi-automatisée pour le frottis gynécologique

Dans la technique ThinPrep® 2000 (fig. 3-56), le matériel cytologique est placé dans un flacon spécifique ne contenant pas le dispositif de prélèvement. Le (la) technicien(ne) charge l'automate de façon unitaire avec un flacon ouvert et un filtre, puis ferme l'automate. Le programme est ensuite sélectionné en fonction de la nature du prélèvement. La dispersion et l'homogénéisation se font par une rotation rapide d'un cylindre filtre à usage unique inséré dans le flacon créant ainsi un effet «vortex». Le vide créé par l'automate au travers du filtre aspire les éléments cellulaires qui viennent se plaquer sur la surface extérieure de la membrane filtrante. Lorsque les pores du filtre sont colmatés



**Fig. 3-56** Préparateur automatique à chargement individuel ThinPrep® 2000 (Cytoc).

**Tableau 3-15** Résumé des caractéristiques pour les cytologies gynécologiques.

Produit	Société	Technique utilisée	Liquide fixateur	Automatisation
CYTO-Screen®	Seroa	Centrifugation	Éthanol (I)	Non
NovaPrep®	Novacyt	Double décantation	Éthanol (NI)	Oui
Papspin®	Thermo Shandon	Centrifugation	Éthanol (I)	Non
PrepStain®	Beckton-Dickinson	Centrifugation puis décantation	Éthanol (NI)	Incomplète
ThinPrep®	Cytoc	Filtration sur membrane	Méthanol (I, T)	Oui/incomplète <sup>(1)</sup>
Turbitec®	Labonord	Centrifugation	Éthanol (I)	Non

I = inflammable, NI = non inflammable, T = toxique.

(1) Thin Prep® 2000, automatisation incomplète.

(par des éléments supérieurs à 5 microns), le vide est de plus en plus difficile à obtenir et la machine stoppe son aspiration. Ensuite, les cellules sont projetées par pression positive du filtre sur la lame. Le transfert terminé, celle-ci est automatiquement immergée dans un bac contenant de l'éthanol 95° permettant ainsi une coloration de Papanicolaou selon la technique utilisée dans le laboratoire.

### Exemple de technique entièrement automatisée pour le frottis gynécologique

Dans la technique Novaprep® Processor System 25, 50 ou 100 (fig. 3-57), le matériel cytologique est placé dans un flacon très spécifique conservant la brosse de prélèvement. Ce flacon possède un système de filtre et un cône de décantation intégrés, afin de réaliser une filtration sélective et une décantation différentielle de la suspension cellulaire. Il possède aussi une membrane perçable cicatrisante au niveau du bouchon qui reste fermé pendant tout le processus analytique assurant ainsi l'intégralité de l'échantillon et l'absence totale de risque de contamination ou d'inhalation. L'automatisation permet la standardisation de la réalisation des lames et une traçabilité complète par une gestion informatisée et sécurisée des flacons et des lames par lecteur de code à barres. La technique est réalisée sur des plates-formes robotisées associées à un ensemble de consommables dédiés ouvrant la possibilité de préparer de façon simultanée plusieurs lames en un seul cycle. Le matériel d'intérêt accumulé au fond du flacon (cône de décantation) subit une agitation intra-flacon afin d'homogénéiser la suspension cellulaire



Fig. 3-57 Automate Novaprep® NPS 50 (Novacyt).

et d'harmoniser la gestion des prélèvements au sein de l'automate pour optimiser le couple temps de décantation/prélèvement des cellules d'intérêt. Un volume optimisé de suspension cellulaire est alors aspiré, mélangé à une solution adhérente, puis déposé dans une chambre de décantation présentant la particularité d'être couplée à un système absorbant périphérique monté sur lame, afin que les cellules et le contexte cellulaire préservé se déposent uniformément en couche mince sur la lame grâce à la maîtrise conjuguée du temps et de la décantation.

### Avantage et inconvénient

Les techniques de cytologie non gynécologiques nécessitent, quel que soit le procédé utilisé (semi-automatisé ou automatisé), des techniques intermédiaires de concentration cellulaire notamment par centrifugation, pour les grands volumes de liquide. En revanche, les techniques divergent pour les plus faibles volumes avec, pour la technique NovaPrep® Processor System, l'absence d'étapes intermédiaires manuelles notamment pour les cytologies hémorragiques telles que, pour la méthode Cytoc, l'utilisation d'une solution Cytolyt® (contenant un hémolytique et un mucolytique) pendant 15 minutes à 3 heures suivie d'une centrifugation.

Quelles que soient les cytologies gynécologiques ou non gynécologiques, une technique entièrement automatisée présente l'avantage de faire gagner du temps au (à la) technicien(ne) grâce à la réduction du temps de préparation technique et à l'absence d'astreinte devant l'appareil, car le système gère les lames et les flacons dédiés par pilotage informatisé sans aucune intervention humaine. Dans les techniques semi-automatisées et manuelles, le temps de manipulation manuelle (chargement et retrait du support, flacon traité à l'unité après son ouverture) et le temps nécessaire à chaque étape (évaluation aléatoire de la richesse de la suspension, refus du système de lecture des échantillons trop cellulaires, hématiques ou paucicellulaires) rendent la technique assez lourde et sans allègement notable de la charge de travail.

### Coloration et montage

Quelle que soit la méthode de préparation utilisée, les colorations standard (conventionnelles)

doivent être modifiées en raison du fixateur alcoolique qui rétracte les cellules. Le rapport nucléocytoplasmique est augmenté, tous les noyaux sont hyperchromatiques et les nucléoles sont plus proéminents. L'hyperchromatisme étant intensifié par l'hématoxyline, il est préférable d'utiliser une méthode de coloration nucléaire régressive par l'hématoxyline de Harris qui donne de bons résultats. Le polyéthylène glycol (composant de certains fixateurs) doit être enlevé dans un bain d'éthanol 70° avant les solutions colorantes cytoplasmiques. La coloration de MGG peut être réalisée sur des préparations réhydratées dans un tampon phosphate pour permettre aux colorants de mieux pénétrer les membranes. De plus, il est nécessaire que la concentration des solutions colorantes soit moindre et les temps de coloration plus courts (*cf.* colorations standard, p. 106 et 107). Le montage des lames est facilité par l'absence de surépaisseur des amas (présents sur certains étalements conventionnels) qui favorisent l'apparition de bulles d'air gênant la lecture.

### Interprétation microscopique

Quelle que soit la technique utilisée, la lecture des préparations en LCB nécessite une adaptation d'interprétation, les images présentant certaines différences par rapport aux étalements classiques (*fig. 3-58a* et *b*). Le fixateur (essentiellement alcoolique) entraîne une rétraction de la taille des éléments cellulaires. Une diminution, voire une disparition de certains composants très utiles au

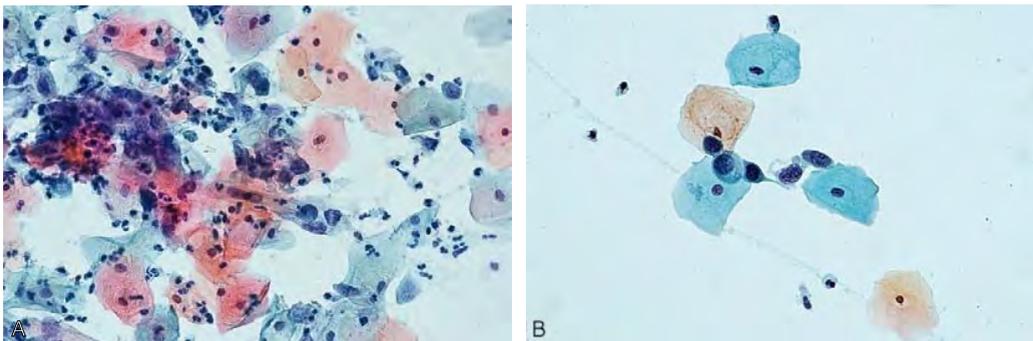
diagnostic (cellules inflammatoires, débris cellulaires, hématies, matériel myxoïde, mucus, nécrose, noyaux nus) vient essentiellement des solutions contenant un hémolytique et/ou un mucolytique. Le fond des préparations est généralement très propre mais la répartition cellulaire varie d'une technique à l'autre; des zones appauvries ou dépourvues de cellules ainsi que des amas cellulaires tridimensionnels peuvent être observés. Ils sont inhérents à la technique de suspension cellulaire dans un milieu liquide, mais également à la composition du matériel.

### Cytobloc

La création d'un bloc cellulaire est une alternative utile pour le diagnostic de certaines lésions (métastase, tumeur rare ou maligne). Le cytobloc (ou *cell bloc*) permet de reconstituer l'architecture tissulaire indispensable au diagnostic. Cette méthode permet d'enrober, dans un gel, un produit de cytoponction, le culot de centrifugation d'un liquide ou des microfragments tissulaires, afin de réaliser des coupes sériées pour coloration par l'HES, ou permettre la réalisation de réserve de cellules fixées en vue de techniques spéciales (colorations spéciales et/ou étude immuno-histochimique).

### Mode opératoire pour un produit de cytoponction

Après avoir réalisé les étalements conventionnels pour le diagnostic, le médecin préleveur



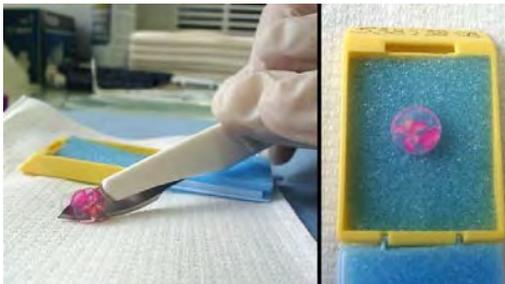
**Fig. 3-58** Frottis cervical (lésion de haut grade) coloré par la méthode de Papanicolaou.

a. Image microscopique d'un étalement conventionnel.

b. Image microscopique d'un étalement en couche mince (LCB).

rinçer le matériel restant dans l'aiguille soit dans du Hanks pour les prélèvements non hémorragiques, soit dans du Hanks/EDTA (anticoagulant) pour les prélèvements hématiques. Au laboratoire, la suspension cellulaire est soumise à une centrifugation douce (1500 t/min pendant 5 minutes).

- Si le culot obtenu est abondant : il est possible, après élimination du surnageant, de fixer directement le culot dans un volume suffisant de fixateur comme l'AFA coloré à la phloxine 0,25 % (généralement, 5 minutes sont suffisantes pour fixer des cellules, des grumeaux ou des microfragments dans un fixateur histologique). Après centrifugation, le surnageant est éliminé, le culot remis en suspension dans un volume identique de gel d'agarose à 2 % et placé à + 4 °C pendant quelques minutes pour accélérer la gélification. Lorsque celui-ci est suffisamment rigide, le récupérer à l'aide d'une pince (si nécessaire, ôter l'excédant du gel entourant le matériel avec un scalpel) et le déposer dans une cassette identifiée entre deux mousses (fig. 3-59) afin de suivre une procédure technique histologique standard.
- Si le culot est faible ou à peine visible : faire une numération des cellules nucléées (en cellule de Mallasez), homogénéiser le culot dans de l'AFA, en fonction de la richesse cellulaire réaliser des cytopoints (Cytospin®) sur lames chargées positivement (5.10<sup>4</sup> cellules/lame en spot de 500 µl). Les lames blanches sont stockées dans des boîtes à l'abri de la poussière.



**Fig. 3-59** Cytobloc. Matériel d'un produit de cytoponction aggloméré dans le gel d'aragose.

Il existe d'autres techniques comme le kit commercial Cytoblock® de Shandon qui contient les cassettes et les réactifs nécessaires à la réalisation d'un cytobloc.

**À noter :** l'agarose est une forme purifiée de l'agar (substance extraite de certaines algues). C'est un polymère linéaire et non chargé. Le gel d'agarose à 2 % (préparé en tampon PBS) est stocké dans une étuve à 60 °C pour le maintenir liquide. C'est en se refroidissant, qu'il se gélifie et devient solide.

## Coloration standard

Deux types de colorations sont employés exclusivement ou conjointement selon la nature du prélèvement, le May-Grünwald-Giemsa (MGG) et la coloration de Papanicolaou (*cf.* p. 106 et 107). La méthode de Papanicolaou est principalement utilisée pour les frottis gynécologiques, les liquides ou quand un carcinome malpighien (épidermoïde) est suspecté. Le MGG est utilisé pour la cytopathologie des organes, les liquides céphalorachidiens, les empreintes et les myélogrammes. Le choix de la coloration utilisée dépend de l'habitude du pathologiste (tableau 3-16).

**Tableau 3-16** Recommandation de la coloration.

Matériel cytologique	MGG	Papanicolaou
Apposition, écrasi, empreinte	+	-
Aspiration ou brossage bronchiques	+	+
Aspiration endométriale	-	+
Cytoponction	+	±
Écoulement mamelonnaire	±	+
Frottis cervico-utérin	-	+
Grattage	+	-
Lavage broncho-alvéolaire	+	+
Liquide céphalorachidien (LCR)	+	-
Liquides : kystique, péritonéal (ou ascite), pleural, synovial	+	+
Myélogramme	+	-
Urines	-	+

## Préparation des plateaux de lecture

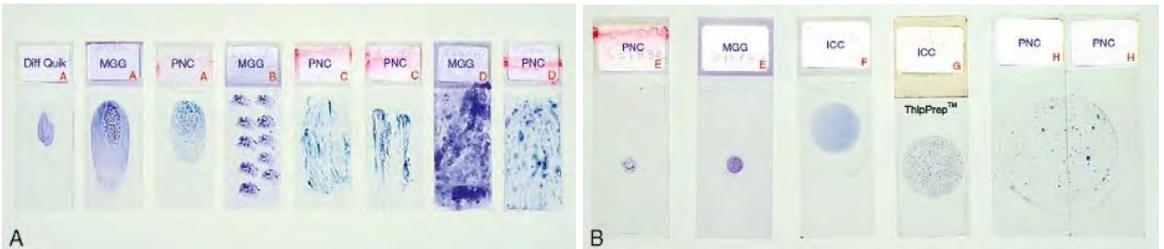
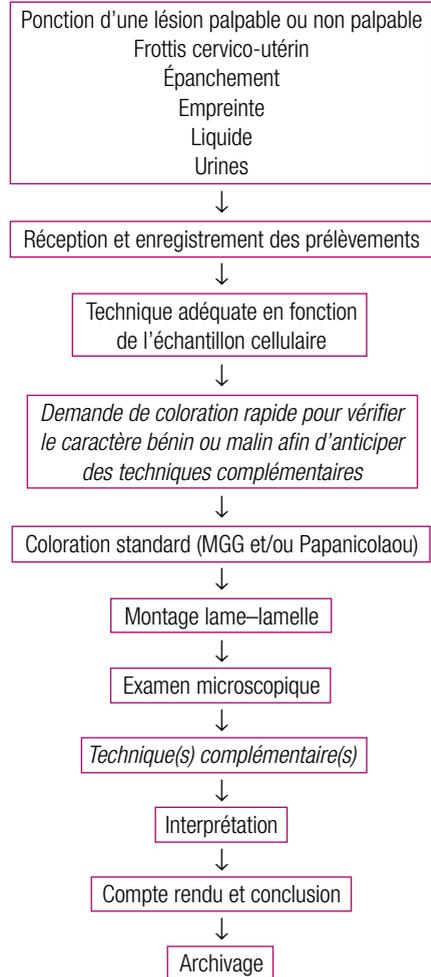
Cette étape consiste à vérifier le nombre de lames réalisées pour chaque prélèvement ainsi que la (les) méthode(s) de coloration réalisée(s) figurant sur la fiche de travail avant de les transmettre au pathologiste pour l'interprétation microscopique (fig. 3-60a et b).

Après la coloration, toutes les lames sont protégées par une lamelle porte-objet (*cf.* p. 50). Chaque lame est identifiée par une étiquette (informatisée ou manuscrite) collée au niveau du rodage et éventuellement indexée d'un chiffre ou d'une lettre, de la coloration spéciale réalisée ou de l'anticorps utilisé. Les petits étalements ainsi que les spots de cyto centrifugation peuvent être entourés à l'aide d'un feutre de façon à pouvoir les repérer facilement au moment de l'observation microscopique.

## Examen microscopique

L'interprétation de la cytologie appartient exclusivement aux pathologistes. Toutefois, dans certains laboratoires, les frottis de dépistage gynécologique et/ou de cytologie générale sont pré-analysés (*screening*) par des cytoteknicien(ne)s spécialement formé(e)s à cette tâche (diplôme inter-université [DIU] et/ou formation validée) mais toutes les préparations cytologiques anormales, douteuses ou malignes sont relues par un médecin. Le (la) cytoteknicien(ne) rédige un compte rendu résumant ses observations qui sont obligatoirement validées par un pathologiste.

## Étapes de préparation d'un échantillon cellulaire pour analyse cytologique



**Fig. 3-60** Différents modes d'étalements cytologiques et colorations : Diff Quik®, May-Grünwald-Giemsa (MGG), Pananicolaou (PNC), immuno-cytochimie (ICC).

- a. Étalements : A. manuels ; B. empreintes ; C. frottis gynécologiques ; D. à la cytotresse.  
b. Cytospots : E. Cytospin® ; F. cytospot ; G. étalement en couche mince ; H. filtration.

## Catalogue des procédés techniques

### Eau, pH et solutions tampons

#### Eau

L'eau permutée est de l'eau qu'on a fait passer sur une résine organique. Tous les ions positifs qu'elle contient ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NA}^{2+}$ , etc.) sont retenus par la résine et remplacés par des ions  $\text{H}^+$  (ou  $\text{H}_3\text{O}^+$ ). Elle est moins pure que l'eau déionisée. L'eau déminéralisée (ou déionisée) est de l'eau qu'on a fait passer sur deux résines consécutives. La deuxième résine filtre les ions négatifs, qu'elle fixe et remplace par des ions  $\text{OH}^-$ . L'eau ne contient plus aucun ion, car  $\text{H}^+$  et  $\text{OH}^-$  se neutralisent pour donner  $\text{H}_2\text{O}$ . Elle est moins pure que l'eau distillée. L'eau distillée est de l'eau qu'on a fait bouillir pour former des vapeurs que l'on a ensuite condensées.

#### ● Attention

Le pH de l'eau du robinet varie considérablement. Ne pas l'utiliser pour la dilution des alcools et la préparation des solutions ou des colorants mais seulement pour les rinçages à l'eau courante.

#### pH

Le pH (potentiel hydrogène) d'une solution tampon est maintenu constant grâce à l'absorption ou à la libération d'un ion  $\text{H}^+$  par les espèces en présence dans la solution. Le pH des solutions est très important pour que les fonctions biologiques soient préservées. Il est aussi important dans la réalisation de certaines colorations (bleu alcian, Giemsa lent) et techniques nécessitant un pH spécifique pour être efficace (le démasquage antigénique en immunochimie). Il est donc nécessaire de titrer le pH au pH-mètre jusqu'au pH désiré avec un acide ou une base selon le cas. Un autre facteur majeur est la température. L'entretien de l'électrode du pH-mètre et sa conservation dans une solution saturée de KCl sont primordiaux. L'étalonnage de l'électrode avec des solutions tampons de pH connu avec précision est essentiel pour obtenir une solution de travail au pH exact.

#### Solution tampon

Une solution tampon a la propriété de pouvoir être diluée sans subir une grande variation de son pH. Elles sont nombreuses et ont de multiples applications. On utilise une solution tampon pour l'étalonnage de l'électrode du pH-mètre, à chaque fois qu'une réaction chimique doit se faire à un pH constant, ou pour préserver du matériel cellulaire ou tissulaire. Seules les principales solutions tampons sont citées ici.

Le Hanks (HBSS : *Hanks balanced salts solution*) est une solution saline qui maintient l'intégrité structurale et physiologique des cellules. Les sels de Hanks sont conçus pour maintenir en vie les cellules dans les conditions atmosphériques (absence de  $\text{CO}_2$ ). Il est utilisé pour la mise en suspension des cellules quand la présence de calcium et de magnésium peut inhiber l'activité enzymatique.

Le PBS (tampon phosphate salin) et le TBS (tampon Tris salin) sont utilisés pour préparer des solutions tampons salines requises dans de nombreuses procédures immunochimiques et d'hybridation *in situ*. Les rôles d'une solution saline sont :

- maintien de l'équilibre osmotique intra- et extracellulaire;
- apport d'eau et d'ions inorganiques essentiels pour le métabolisme des cellules;
- effet tampon pour maintenir le milieu dans des conditions physiologiques des pH (7,2–7,6).

Le PBS est un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate trisodique et du phosphate de potassium. Il a de nombreuses applications de par son isotonicité et sa non-toxicité. Ces couches minces d'eau permettent d'empêcher la dénaturation des biomolécules (protéines, protéines enzymatiques, etc.) ou des changements conformationnels. Le TBS remplace les tampons phosphates. Il est surtout employé dans les techniques utilisant la phosphatase alcaline. Le Tris (hydroxyméthyl aminométhane) est un tampon employé plus particulièrement pour les acides nucléiques. Son principal défaut est d'être très sensible à la température et à la concentration.

## Coloration standard

Les colorations standard colorent un type de charge. Elles permettent de voir la morphologie de la cellule, la position du noyau et sa forme, la structure d'un tissu. Ainsi, on peut déterminer le nombre de types cellulaires dans le tissu. Selon les conditions particulières de chaque laboratoire, une même méthode peut avoir des variantes de

procédés techniques, de formules de colorant, de concentrations des solutions, de temps, etc.

### Hématoxyline éosine safran (HES)

Coloration signalétique qui permet de mettre en évidence les noyaux, les cytoplasmes et les fibres de collagène en leur faisant capter des colorants de façon sélective afin de se faire une idée de la topographie générale d'un tissu (tableaux 3-17 et 3-18; fig. 3-61a à d).

Temps de réalisation  $\approx$  3 minutes pour l'HES rapide, 7 minutes pour l'HES directe, 35 minutes avec déparaffinage pour l'HES standard, 40 minutes pour l'HES os.

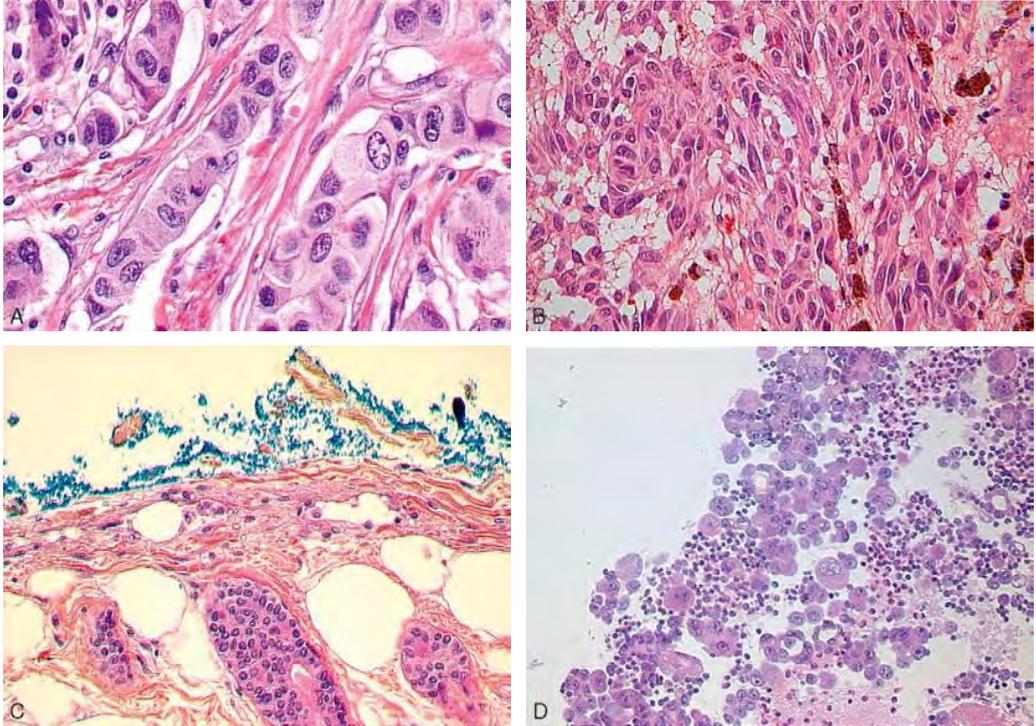
Méthode trichromique qui fait agir successivement trois colorants. Une solution aqueuse d'hématoxyline (nucléaire), une solution aqueuse d'éosine (cytoplasmique) et une solution alcoolique de safran (collagène). La coloration nucléaire est progressive. Après l'hématoxyline (de Mayer), une différenciation rapide dans une solution de carbonate de lithium à saturation (eau lithinée) ou simplement à l'eau courante est réalisée afin de bleuir les noyaux et faciliter la fixation des colorants. La coloration cytoplasmique est régressive. Après l'éosine, l'excès est rincé à l'eau courante,

**Tableau 3-17** Coloration par l'HES rapide.

Étapes	Temps
Formol tamponné à 4 %	10 secondes
Eau distillée	Rinçage
Hématoxyline de Mayer	1 minute
Eau distillée	Rinçage
Carbonate de lithium à saturation	5 secondes
Eau distillée	Rinçage
Éosine (0,02 %)	10–20 secondes
Eau distillée	Rinçage
Éthanol absolu	10 secondes $\times$ 3 bains
Safran (2 g/L)	10 secondes
Éthanol absolu	10 secondes $\times$ 2 bains
Toluène	15 secondes $\times$ 2 bains

**Tableau 3-18** Coloration par l'HES avec ou sans déparaffinage.

Étapes	HES avec déparaffinage	HES os	HES directe
	Temps		
Toluène	5 minutes $\times$ 3 bains	5 minutes $\times$ 3 bains	–
Éthanol absolu	2 minutes $\times$ 2 bains	2 minutes $\times$ 2 bains	–
Éthanol 95°	2 minutes	2 minutes	–
Eau	1 minute $\times$ 2 bains	1 minute $\times$ 2 bains	1 minute
Hématoxyline de Mayer	2 minutes	3 minutes	2 minutes
Eau courante	1 minute $\times$ 2 bains	1 minute $\times$ 2 bains	10 secondes $\times$ 2 bains
Éosine (0,02 %)	1 minute 30	1 minute	2 minutes
Eau courante	1 minute $\times$ 2 bains	30 secondes et 1 minute	5 secondes $\times$ 2 bains
Éthanol 95°	1 minute	–	5 secondes $\times$ 1 bain
Éthanol absolu	1 minute $\times$ 2 bains	1 minute $\times$ 3 bains	5 secondes $\times$ 2 bains
Safran (2 g/L)	45 secondes	45 secondes	1 minute
Éthanol 95°	15 secondes $\times$ 2 bains	15 secondes $\times$ 2 bains	5 secondes $\times$ 2 bains
Éthanol absolu ou isopropanol	1 minute $\times$ 2 bains	1 minute $\times$ 2 bains	5 secondes $\times$ 2 bains
Toluène	1 minute $\times$ 2 bains	1 minute $\times$ 2 bains	10 secondes



**Fig. 3-61** Coloration hématoxyline éosine safran (HES).

- Grossissement  $\times 40$ .
- Présence de mélanine (pigments bruns).
- Limite encrage colorée en bleu.
- Sur coupe en paraffine d'un cytobloc (pleurésie carcinomateuse).

une différenciation est réalisée dans des bains successifs d'éthanol jusqu'à l'éthanol absolu. Les passages en éthanol préparent l'action du safran qui se diffuse dans tout le tissu grâce à un phénomène d'absorption. En fin de coloration, les lames doivent être immergées dans un bain de solvant (toluène, xylène) pour le montage. En aucun cas elles ne doivent sécher à l'air libre, car les colorants risquent de précipiter dans le tissu.

**À noter :** l'éosine peut être remplacé par l'érythrosine qui donne une coloration plus vive et plus résistante que celle de l'éosine.

### ● **Conseils**

Vérifier quotidiennement la qualité de la première coloration au microscope. Filtrer l'hématoxyline. Changer régulièrement les bains des alcools (saturés par les colorants), le bain d'hématoxyline

2 fois/semaine, celui de l'éosine 1 fois/semaine et celui du safran tous les 2 mois, sinon compléter le niveau.

### ● **Attention**

Avant la coloration, les coupes en paraffine doivent subir un séchage en étuve et un déparaffinage.

Résultats : l'intensité de la coloration dépend de nombreux facteurs, incluant la proportion relative des colorants, mais surtout l'épaisseur de la coupe tissulaire. La coloration est plus intense sur les coupes épaisses :

- cytoplasme : rose (violet s'il contient de grandes quantités d'ARN);
- noyau : bleu violacé;
- collagène : jaune orangé;
- fibre musculaire : rouge vif;
- fibre élastique : rose;
- hématie : rouge vif;

- mucus, substance fondamentale du cartilage (chondroïde) ou de l'os (ostéoïde) : jaune orangé.

### Diff Quik®

Coloration de Giemsa de Wright modifiée. Set de coloration rapide comparable à la technique du MGG (tableau 3-19).

Temps de réalisation ≈ 2 minutes.

### ● Conseils

Pour une observation microscopique dans les plus brefs délais, sécher la préparation colorée soit par agitation manuelle à température ambiante ou avec un séchoir à cheveux en position air froid, soit par apposition de la lame sur du papier absorbant en prenant soin de ne pas endommager l'étalement.

**À noter : une lame colorée par le Diff Quik® peut être décolorée dans un bain de méthanol qu'il faut laisser agir jusqu'à décoloration complète. Ensuite, une coloration au MGG peut être réalisée.**

### May-Grünwald-Giemsa (MGG)

Coloration qui utilise les affinités tinctoriales différentes du May-Grünwald (éosinate de bleu de méthylène) et du Giemsa (éosinate d'azur de méthylène) afin de colorer de façon très nuancée les noyaux, les cytoplasmes et les granulations (tableau 3-20; fig. 3-62a à c). Ces deux colorants sont solubilisés dans l'alcool méthylique et sont de ce fait inactifs, c'est le contact de l'eau qui leur donne un pouvoir colorant. Les sels se dissocient alors en colorant acide rouge (l'éosine) et basique bleu (azur de bleu de méthylène). L'éosinate de bleu de méthylène colore le cytoplasme. L'éosine

colore les éléments basiques (acidophiles et éosinophiles) en rose, et le bleu de méthylène colore les éléments acides (basophiles) en bleu. L'éosinate d'azur de méthylène colore les noyaux, les granulations azurophiles et basophiles.

Pour la dilution des colorants, l'eau doit être tamponnée. Dans tous les cas, cette eau ne se conserve pas et doit être préparée chaque jour. Un pH acide favorise les teintes rouges, tandis qu'un pH basique favorise les teintes bleues.

Temps de réalisation ≈ 30 minutes.

Méthode qui permet après fixation dans l'alcool méthylique (solvant des colorants) l'action successive de deux colorants neutres. Chacun d'entre eux contient des ions colorés acides (éosine) et basiques (bleu et azur de méthylène) qui se fixent sur les éléments cellulaires complémentaires. En fin de coloration, les lames sont rincées à l'eau courante jusqu'à l'élimination de l'excès de colorant. Le dos de chaque lame ainsi que les contours du frottis sont essuyés soigneusement avec un papier absorbant. Les laisser sécher en position verticale sur un portoir à température ambiante. Après séchage complet, les mettre dans un bain de solvant (toluène) pour le montage.

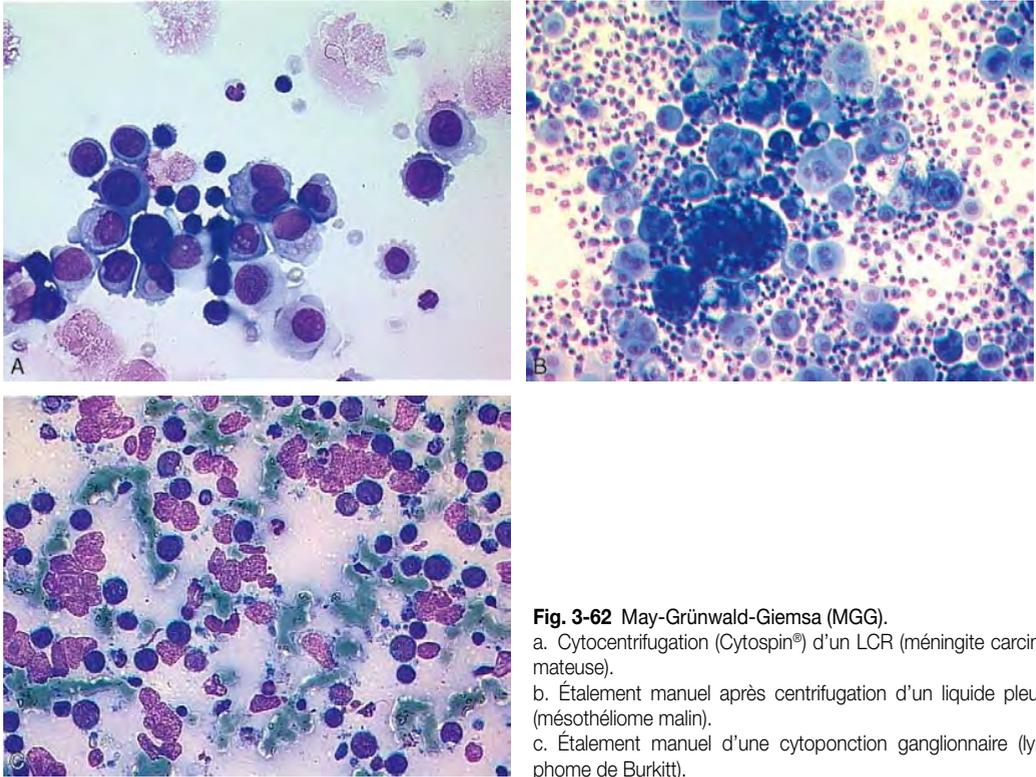
Préparation de l'eau tamponnée : solution stock A (phosphate disodique –  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 20 g/L) et solution stock B (phosphate monopotassique –  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 4 g/L). Solution de travail : 50 ml de solution A + 50 ml de solution B + 900 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 7,2.

**Tableau 3-20** Coloration du MGG.

Étapes	Étalements manuels et cytopots <sup>(1)</sup>	Étalements en couche mince <sup>(2)</sup>
	Temps	
Rinçage en eau tamponnée	–	5 minutes
May-Grünwald pur	5 minutes	–
May-Grünwald dilué au 1/2 <sup>(1)</sup> au 1/3 <sup>(2)</sup>	1 minute	1 minute et 15 secondes
Eau tamponnée	2 rinçages	–
Giemsa à 9 % <sup>(1)</sup> , à 8 % <sup>(2)</sup>	20 minutes	3 minutes et 15 secondes
Rinçage eau tamponnée	–	5 minutes
Rinçage eau courante	Quelques secondes	Quelques secondes

**Tableau 3-19** Coloration au Diff Quik®.

Étapes	Temps
Solution fixative (bleu clair) : contient du méthanol > 50 %	≈ 20 secondes
Solution colorante I (rouge) : éosine en tampon phosphate (pH 6,6) et azide de sodium comme agent conservateur	≈ 20 secondes
Solution colorante II (bleu foncé) : colorant thiazine en tampon phosphate (pH 6,6)	≈ 40 secondes
Rinçage à l'eau courante	Quelques secondes



**Fig. 3-62** May-Grünwald-Giemsa (MGG).

- Cytocentrifugation (Cytospin®) d'un LCR (méningite carcinomateuse).
- Étalement manuel après centrifugation d'un liquide pleural (mésothéliome malin).
- Étalement manuel d'une cytoponction ganglionnaire (lymphome de Burkitt).

### ● Conseils

L'emploi de l'eau de ville est fortement déconseillé car des variations imprévisibles et incontrôlables peuvent survenir compromettant le résultat de la coloration d'où l'intérêt d'utiliser une eau tamponnée. Préparer quotidiennement la solution de Giemsa. Réajuster régulièrement le niveau des bains de May-Grünwald purs et dilués et les changer 1 fois/mois. Conserver tous les soirs ces solutions au réfrigérateur à + 4 °C.

### ● Attention

Dégraisser les lames (sauf les étalements en couche mince) dans du toluène (sous hotte en fonctionnement) avant la coloration.

Résultats :

- cytoplasme :
  - acidophile : rose ou rouge clair,
  - basophile : bleu ciel au bleu foncé ;
- noyau :
  - basichromatine : violet,
  - oxychromatine : rose ;

- nucléole : bleu,
- hématie : grisâtre,
- kératine : bleu intense,
- mucus : bleu pâle.

### Papanicolaou

Coloration pentachrome de référence en cytologie gynécologique et dans les examens de cellules épithéliales (tableau 3-21 ; cf. fig. 3-58a et b, fig. 3-63a à c). Elle a pour avantage de dessiner très finement le détail des structures nucléaires et de bien mettre en évidence la différenciation cytoplasmique.

Temps de réalisation ≈ 30 minutes.

Méthode qui fait appel à une action polychromatique résultant de l'intervention d'un colorant nucléaire en phase aqueuse, l'hématoxyline de Harris, et de deux colorants cytoplasmiques en phase alcoolique, l'orange G et la solution de polychrome (mélange de vert lumière, brun de Bismarck et d'éosine). La coloration se fait en fonction de l'affinité tinctoriale des cellules.

**Tableau 3-21** Coloration de Papanicolaou.

Étapes	Temps
Eau distillée	30 secondes (uniquement pour les préparations fixées par un spray)
Éthanol 50°	1 minute
Eau du robinet	2 minutes
Hématoxyline de Harris	6 minutes pour les étalements manuels et cytospts 3 minutes pour les étalements en couche mince (LBC)
Eau du robinet	2 minutes
Eau chlorhydrique	3 secondes
Eau du robinet	1 minute et 30 secondes
Alcool ammoniacque	2 minutes
Éthanol 70°	1 minute
Éthanol 80°	1 minute
Orange G	4 minutes
Éthanol 95°	1 minute × 2 bains
Polychrome EA 50	4 minutes
Éthanol 95°	30 secondes × 2 bains
Éthanol absolu	30 secondes
Éthanol absolu	1 minute
Toluène	1 minute

L'hématoxyline de Harris colore les noyaux en gris bleu ou en violet selon la densité en ADN, l'orange G colore le glycogène en brun clair et la kératine en orange vif, et le polychrome (EA 50) colore le cytoplasme des cellules éosinophiles en rose et des cellules cyanophiles en bleu. La réhydratation est obligatoire car elle prépare l'action du colorant nucléaire. L'eau chlorhydrique à 37 % (mélange d'HCl et d'eau déminéralisée) est utilisée pour la différenciation nucléaire. L'alcool ammoniacque (mélange à 3 % d'ammoniacque concentré dans l'éthanol 70°) fixe la coloration nucléaire et prépare l'action des colorants en solution alcoolique. En fin de coloration, les lames doivent être immergées dans un bain de solvant (toluène) pour le montage.

**À noter :** Le vieillissement des colorants dépend de la quantité de lames colorées dans les mêmes bains de solution. Il est annoncé par la disparition progressive des affinités tinctoriales des cytoplasmes. Si tous les colorants sont changés,

l'on obtient dans un premier temps des frottis trop colorés.

### ● Conseils

Filtrer quotidiennement l'hématoxyline. Changer régulièrement les bains des alcools et du toluène. Compléter le niveau de l'orange G et du polychrome. Changer l'eau chlorhydrique et l'alcool ammoniacque 1 fois/mois, sinon ajuster les niveaux.

### ● Attention

Avant la coloration, immerger les lames fixées par un spray (laque) dans un bain d'eau distillée pour éliminer le film protecteur.

Résultats :

- cytoplasme des cellules :
  - superficielle (acidophile) : rose à rouge orangé,
  - intermédiaire : bleu-vert,
  - profonde (basophile) : vert plus foncé ;
- noyau : bleu ou violet foncé ;
- bactérie, trichomonas : bleu foncé ;
- hématie : rouge orangé ;
- spore : légèrement rosé ;
- nucléole : bleu foncé ;
- kératine : orangé à orange vif.

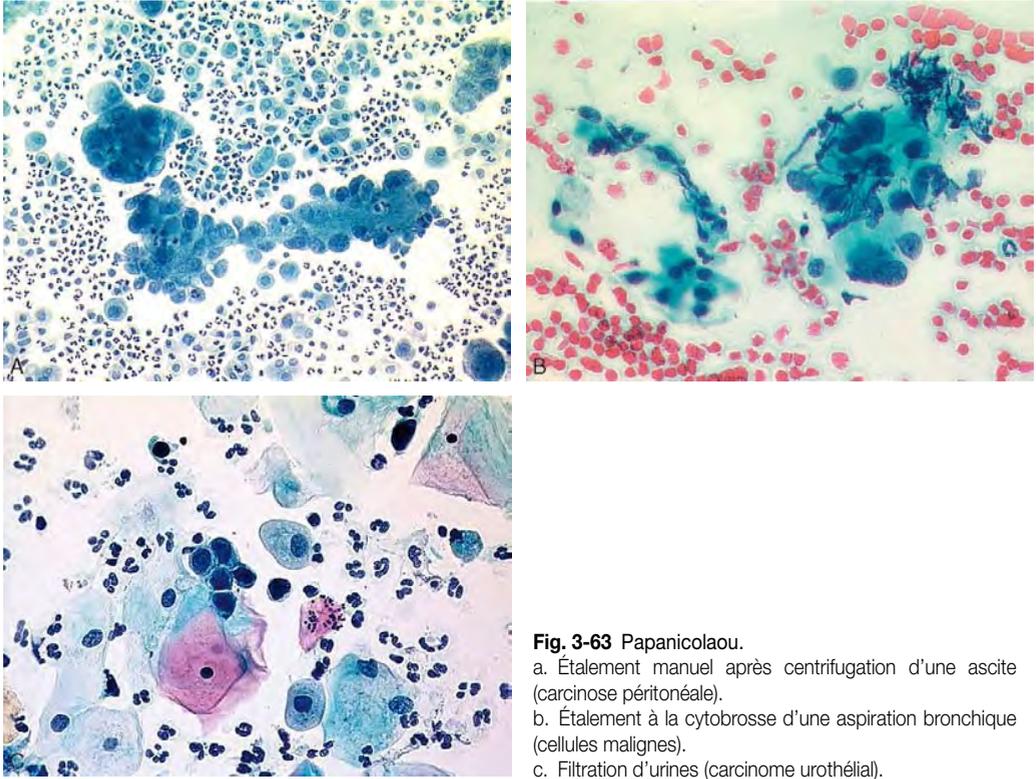
## Coloration spéciale

L'histologie et la cytologie disposent d'un nombre considérable de colorations spéciales et les variantes techniques possibles sont presque infinies. De ce fait, sont citées ici, les colorations les plus utilisées (méthode et principe), répertoriées non pas par les substances à mettre en évidence mais par ordre alphabétique.

### Bleu alcian (BA)

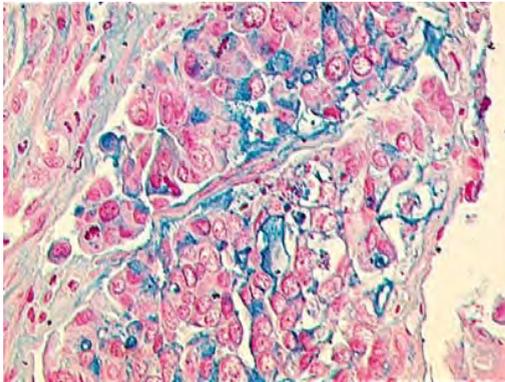
Cette coloration permet la mise en évidence des mucosubstances à caractère acide. Une mucosubstance est considérée comme un constituant riche en sucres (fig. 3-64).

- Utilité : adénocarcinome mucosécrétant, liposarcome, tumeur myxoïde (chondrosarcome myxoïde).
- Témoin : digestif (côlon).
- Temps de réalisation ≈ 40 minutes.

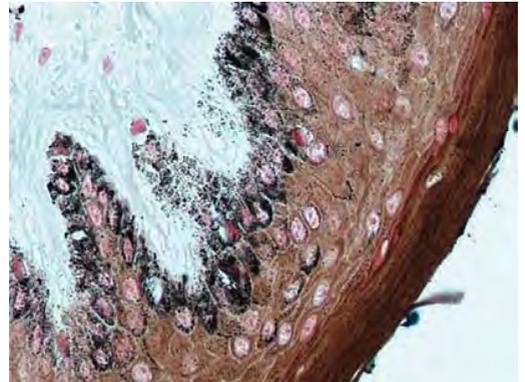


**Fig. 3-63** Papanicolaou.

- Étalement manuel après centrifugation d'une ascite (carcinose péritonéale).
- Étalement à la cyto Brosse d'une aspiration bronchique (cellules malignes).
- Filtration d'urines (carcinome urothélial).



**Fig. 3-64** Bleu alcian. Mucosécrétions en bleu turquoise (coupe tissulaire d'un ovaire).



**Fig. 3-65** Fontana. Pigments mélaniques en noir (coupe tissulaire de la peau).

Le bleu alcian est un phtalocyanine cuivrique contenant des groupements isothiouroniums (chargés positivement) qui se lient aux anions (sulfates et carboxyles) de la structure grâce à des liaisons électrostatiques. La colorabilité des diverses substances dépend du pH de la solution utilisée. Le

BA à un pH voisin de 1 colore les glucides sulfatés (mucus intestinal). Le BA à un pH entre 2,5 et 2,6 colore les glucides à groupes carboxyliques acides (matrice extracellulaire). Contre-colorer par le rouge nucléaire, déshydrater et monter en milieu résineux.

Résultats :

- substance réactive : bleu turquoise ;
- fond : rose ;
- noyau : rouge.

### Fontana

La coloration de Fontana permet la mise en évidence des substances argentaffines (caractérisation des pigments mélaniques en particulier) (fig. 3-65).

- Utilité : mélanome, neurofibrome pigmenté, sarcome à cellules claires.
- Témoin : peau (naevus ou mélanome).
- Temps de réalisation ≈ 1 heure.

Précipitation d'argent métallique (noir) aux dépens de solutions de sels d'argent sous l'influence de substances réductrices (pigments en particulier). Contre-colorer par le rouge nucléaire, déshydrater et monter en milieu résineux.

### ● Attention

Ne pas utiliser une solution de nitrate d'argent ammoniacal qui a plus de 10 jours et d'objet métallique.

Résultats :

- granulation argento-réductrice : noir sur fond rose ;
- pigments (mélanine, lipofuscine, bilirubine) : noir intense ;
- noyau : rouge.

### Giemsa lent

Cette coloration met en évidence des granulations et des détails de la structure de la cellule tant nucléaires que cytoplasmiques. Elle permet surtout l'étude des maladies hématologiques et la recherche de germes bactériens.

Temps de réalisation ≈ 1 heure et 15 minutes.

C'est une coloration polychromatique qui utilise un colorant neutre, le Giemsa (mélange complexe de bleu de méthylène, d'éosinate d'azur et de violet de méthylène) qui donne après différenciation dans de l'eau acétifiée (virage rose), poursuivie dans l'éthanol 95°, puis bloquée par l'isopropanol, un bon contraste nucléaire, une bonne définition de la chromatine et du nucléole avec variabilité de la coloration du cytoplasme selon le type des cellules. Monter en milieu résineux.

### ● Attention

La différenciation est très délicate. Il est fortement recommandé de la vérifier toutes les 5 secondes (sous lamelle) au microscope. L'arrêter lorsque les granulations azurophiles du cytoplasme des grands lymphocytes apparaissent distinctement et que la chromatine des noyaux est d'un bleu roi.

Résultats :

- cytoplasme : plus ou moins bleu ;
- noyau (ADN et ARN) : bleu foncé avec chromatine apparente ;
- granulation (substance acidophile) : rouge orangé.

### Giemsa *Helicobacter*

La coloration Giemsa *Helicobacter* est une coloration de Giemsa peu différenciée qui permet de mieux voir les bactéries spirales (*Helicobacter*). Monter en milieu résineux.

- Utilité : cancers et lymphomes gastriques.
- Temps de réalisation ≈ 35 minutes.
- Résultats : *Helicobacter* bleu foncé.

### Gram

Cette coloration permet la mise en évidence de plusieurs bactéries. Certains germes restent insensibles à cette coloration, c'est le cas des mycobactéries (famille à laquelle les agents de la tuberculose et de la lèpre appartiennent). Elle est rarement utilisée en pathologie tumorale.

- Gram (positif) : streptocoque, staphylocoque.
- Gram (négatif) : pneumocoque.
- Témoin : appendice, intestin.
- Temps de réalisation ≈ 45 minutes.

Méthode basée sur la capacité que certaines bactéries ont de retenir un complexe violet cristal/iode (de couleur bleue) lorsqu'elles sont soumises à une différenciation par l'acétone ou l'alcool et une coloration à l'aide d'un colorant basique (la fuchsine). Monter en milieu résineux.

L'iode est un agent de rétention des colorants.

Résultats :

- bactérie Gram (positif) : bleu ;
- bactérie Gram (négatif) : rouge ;
- noyau : rouge ;
- fond : jaune.

### Grimelius

Cette coloration permet la mise en évidence des granulations argentaffines et argyrophiles des cellules neuro-endocrines (fig. 3-66).

- Utilité : carcinoïde, tumeur endocrine ou neuro-endocrine.
- Témoin : intestin grêle (carcinoïde).
- Temps de réalisation ≈ 3 heures et 30 minutes.

Coloration argentique révélant les grains de sécrétions neuro-endocrines intracytoplasmiques. Contre-colorer par le rouge nucléaire, déshydrater et monter en milieu résineux.

#### ● Attention

Ne pas utiliser une solution de nitrate d'argent ammoniacal qui a plus de 10 jours et d'objet métallique.

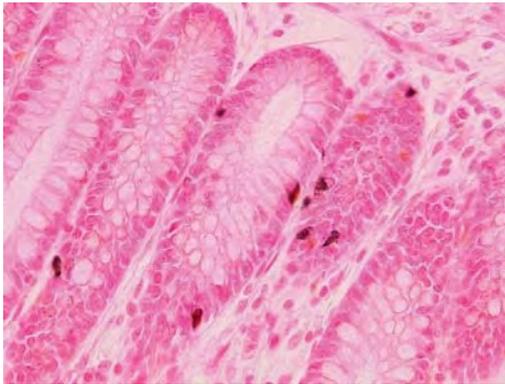
Résultats :

- substance argentaffine et argyrophile : brun foncé à noir;
- noyau : rouge;
- fond : jaune orangé pâle.

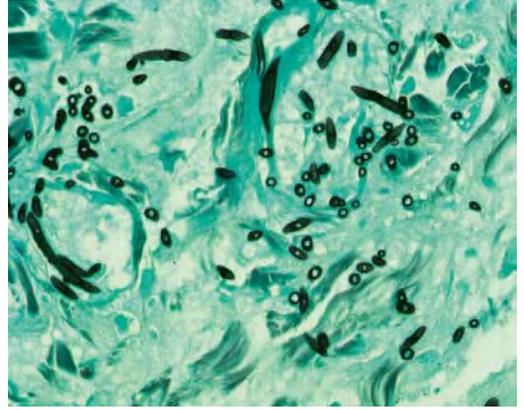
### Grocott

Le Grocott est une méthode basée sur la teneur particulièrement élevée en glucides de la paroi des champignons et la mise en évidence d'autres micro-organismes (fig. 3-67).

- Utilité : bactéries (actinomycose, nocardiose), mycose (candidose), parasite (*Pneumocystis carinii*).
- Témoin : poumon (champignons).
- Temps de réalisation ≈ 2 heures.



**Fig. 3-66** Grimelius. Substances argentaffines en brun foncé (coupe tissulaire de l'intestin grêle).



**Fig. 3-67** Grocott. Aspergillose en noir (coupe tissulaire du poumon).

Les groupes réactifs de la composante glucidique des champignons sont oxydés par l'acide chromique et les aldéhydes libérés sont mis en évidence par réduction d'un complexe d'argent-méthénamine (hexaméthylène tétramine). Colorer le fond par une solution de vert lumière et monter en milieu résineux.

#### ● Attention

Ne pas utiliser d'objet métallique.

Résultats :

- contour du champignon : noir;
- partie interne : grisâtre;
- fond : vert pâle;
- filament mycélien et levure : noir;
- mucine : gris foncé.

### Oil red O (ou huile rouge O)

L'oil red O est un colorant neutre très soluble dans les lipides neutres (cholestérides, triglycérides), son coefficient de partage fait qu'il reste dissous dans les triglycérides lors des rinçages.

- Utilité : tissu adipeux et stéatose, liposarcome.
- Temps de réalisation ≈ 30 minutes.

Identification des lipides hydrophobes en phase liquide par un mécanisme physique de transfert d'un corps coloré (lysochrome) du solvant dans lequel il se trouve (alcool) dans le corps gras en phase liquide. Contre-colorer par l'hématoxyline et monter en milieu hydrophobe.

### ● **Attention**

Lire rapidement les lames car le rouge diffuse (1 à 2 jours).

Résultats :

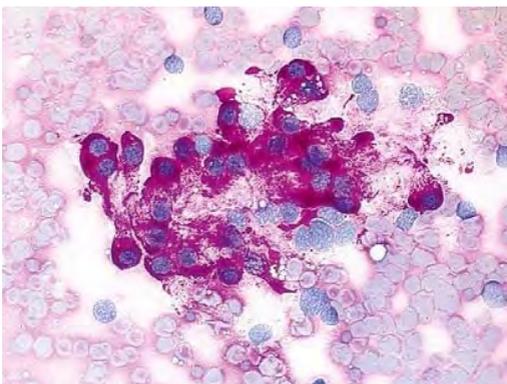
- lipide hydrophobe en phase liquide (acide gras libre insaturé, triglycéride insaturé, cholestéride insaturé) : rouge ;
- phospholipide : très faiblement ou non coloré ;
- noyau : bleu sombre.

### **Periodic acid Schiff (PAS)**

Cette coloration permet la mise en évidence du glycogène (forme de stockage des hydrates de carbone dans les cellules, comme les hépatocytes et les cellules musculaires), des mucines (mucosubstances épithéliales), des mucopolysaccharides (mucosubstances conjonctives) neutres, ainsi que les filaments et spores mycéliens (fig. 3-68).

- Utilité : chondrosarcome, PNET, rhabdomyosarcome, sarcome à cellules claires, sarcome alvéolaire des tissus mous, sarcome d'Ewing, tumeur vitelline. Positivité variable dans les carcinomes qui oriente vers une origine glandulaire (adénocarcinome). Mycose (aspergillose, candidose).
- Témoin : digestif (côlon), mais cette coloration possède un témoin interne (polynucléaires).
- Temps de réalisation ≈ 1 heure.

Un agent oxydant, l'acide périodique, est utilisé pour transformer des groupes glycols en aldéhydes. Le réactif de Schiff (solution de fuchsine basique), décoloré par l'acide sulfureux (ou un



**Fig. 3-68** PAS positif. Glycogène intracytoplasmique en rose violacé (cytoponction rénale, étalement manuel).

lavage à l'eau courante) qui réagit avec les aldéhydes libres, forme un produit de condensation de couleur rouge. Contre-colorer par l'hématoxyline, déshydrater et monter en milieu résineux.

À noter : L'acide périodique ( $\text{HIO}_4$ ) est un oxydant sélectif qui rompt les liens entre deux carbones d'un certain nombre de groupes chimiques tels que les groupes 1,2-glycol, 1,2-hydroxyle, amine.

Un contact trop prolongé avec l'acide périodique de même qu'une solution dont le pH est trop acide entraînent des faux positifs, car il y a suroxydation des aldéhydes en carboxyles.

### ● **Attention**

Le réactif de Schiff doit être parfaitement limpide et incolore sinon le jeter. Cette solution se conserve mieux au réfrigérateur à + 4°C dans un flacon opaque à la lumière et bien bouché.

Résultats :

- substance réactive : rose à rouge violacé plus ou moins intense ;
- noyau : bleu.

### **Periodic acid Schiff/bleu alcian (PAS/BA)**

La coloration PAS/BA est une coloration combinée dans laquelle le PAS met en évidence les glucides neutres et le BA, les glucides acides.

- Utilité : lésion du côlon.
- Témoin : digestif (côlon).
- Temps de réalisation ≈ 1 heure.

La différenciation se fait au niveau des mucopolysaccharides acides faiblement sulfatés colorés par le BA, et les mucopolysaccharides neutres et colorés par le PAS. Contre-colorer par l'hématoxyline, déshydrater et monter en milieu résineux.

Résultats :

- polysaccharide acide PAS (négatif) : bleu ;
- polysaccharide neutre : rouge ;
- noyau : bleu sombre.

### **Periodic acid Schiff diastase (PAS diastase)**

La coloration PAS diastase permet la mise en évidence du glycogène par extinction de son marquage

après digestion enzymatique par l'amylase (hydrolyse de glycogène). L'amylase est une enzyme (contenue dans la salive) qui clive le glycogène et l'amidon. L'enzyme  $\alpha$ -amylase est une préparation commerciale purifiée de diastase du malt.

- Utilité : lésion hépatique, sarcome alvéolaire des tissus mous.
- Témoin : foie.
- Temps de réalisation  $\approx$  1 heure.

L'utilisation de l' $\alpha$ -amylase permet de confirmer qu'une substance positive au PAS est bien du glycogène. Cette méthode nécessite deux lames, l'une traitée et l'autre pas. Contre-colorer par l'héματοxyline, déshydrater et monter en milieu résineux.

Résultats :

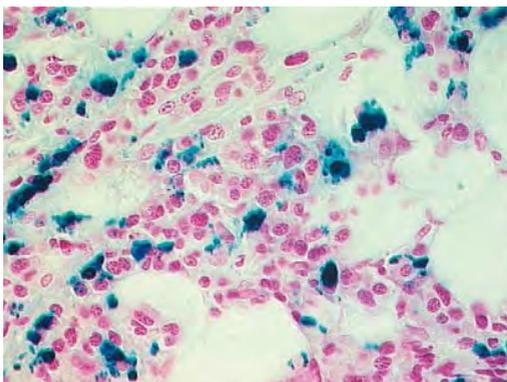
- disparition du glycogène : pas de coloration par le Schiff;
- digère le glycogène mais laisse persister la coloration rosée des mucines intra- ou extracellulaire.

### Perls

Cette coloration permet la mise en évidence de dépôts ferriques ( $Fe^{+++}$ ) dans des érythroblastes et des macrophages (sidérophages) (fig. 3-69).

- Utilité : embolie pulmonaire, hématome en résorption, différentiel des autres pigments.
- Témoin : hématome en résorption, rate.
- Temps de réalisation  $\approx$  1 heure.

En milieu acide, les ions ferriques réagissent avec le ferrocyanure de potassium en formant un précipité insoluble. Ce précipité de ferrocyanure



**Fig. 3-69** Perls. Surcharge ferrique en bleu (macrophages). Coupe tissulaire ostéomédullaire.

ferrique, de coloration bleue (bleu de Prusse), met en évidence un pigment, l'hémosidérine. Contre-colorer par le rouge nucléaire, déshydrater et monter en milieu résineux.

### ● Attention

Les mélanges de ferrocyanure de potassium et l'acide chlorhydrique doivent être préparés extemporanément et avoir une coloration jaune. Jeter toute solution présentant une teinte légèrement verdâtre. Ne pas utiliser d'objet métallique.

Résultats :

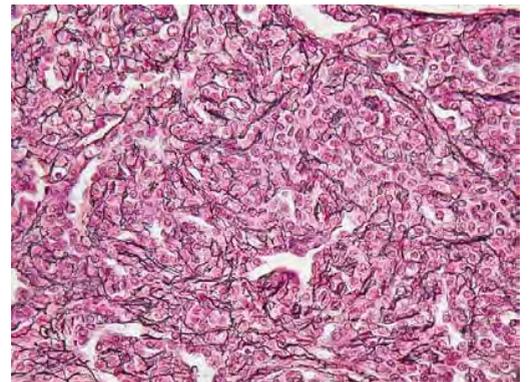
- fer ferrique et hémosidérine : bleu à bleu-vert;
- noyau : rouge.

### Réticuline

La réticuline permet la mise en évidence des fibres de réticuline du stroma (basée sur l'argyrophilie des fibres) et de préciser l'architecture des tumeurs. Les fibres de réticuline se présentent comme des fibrilles très minces, très ramifiées et anastomosées (fibres grillagées) au microscope optique (fig. 3-70). Elles peuvent constituer des réseaux à mailles plus ou moins serrées.

- Utilité : hémangiopéricytome, synoviosarcome.
- Les prélèvements ont un témoin interne.
- Temps de réalisation  $\approx$  1 heure.

L'oxydation des fibres de réticuline fait qu'elles deviennent capables de réduire les sels d'argent qui précipitent à leur contact. Le précipité est stabilisé et insolubilisé (comme une photographie) par un sel d'or et du thiosulfate de sodium.



**Fig. 3-70** Réticuline. Fibres de réticuline en noir. Coupe tissulaire du poulmon.

Contre-colorer par le rouge nucléaire, déshydrater et monter en milieu résineux.

### ● **Attention**

Ne pas utiliser une solution de nitrate d'argent ammoniacal qui a plus de 10 jours et d'objet métallique.

Résultats :

- fibre de réticuline (collagène type III) : noir intense;
- fibre de collagène I : brun pourpre;
- noyau : rouge rosé.

### **Rouge Congo**

Le rouge Congo colore la substance amyloïde. Il a la propriété physique de se fixer sélectivement entre les chaînes protéiques bêta plissées qui forment le dépôt d'amylose.

- Utilité : carcinome médullaire de la thyroïde.
- Témoin : thyroïde (carcinome médullaire).
- Temps de réalisation ≈ 1 heure.

Le colorant se lie aux fibrilles par l'intermédiaire de liens hydrogènes qui se constituent entre les groupes hydroxyles des glucides de l'amyloïde et des groupes amine et azoïque du colorant. Contre-colorer par l'hématoxyline, déshydrater et monter en milieu résineux.

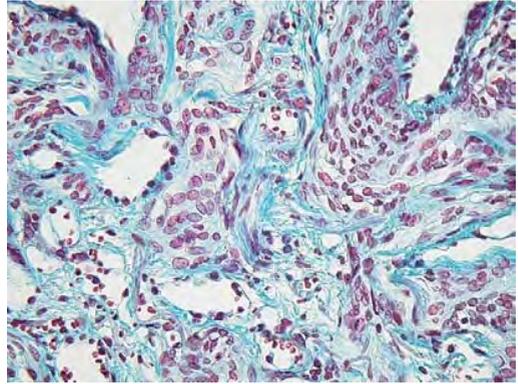
Résultats :

- substance amyloïde :
  - en lumière photonique : rose-rouge,
  - en lumière polarisée : les fibrilles montrent une biréfringence verte due à un phénomène de dichroïsme en raison de l'alignement parallèle des molécules colorantes avec les fibrilles;
- noyau : bleu.

### **Trichrome de Masson**

Le Trichrome de Masson permet la mise en évidence des fibres de collagène (ces fibres se présentent comme des bandes ondulées et non anastomosées au microscope optique). Cette coloration trichromique est utilisée pour obtenir des contrastes plus vifs entre cytoplasmes et collagène (fig. 3-71).

- Utilité : léiomyosarcome (striations longitudinales), rhabdomyosarcome (striations transversales).
- Cette coloration ne nécessite pas de témoin.
- Temps de réalisation ≈ 50 minutes.



**Fig. 3-71** Trichrome de Masson. Collagène et mucus en bleu. Coupe tissulaire du poumon.

La combinaison successive d'une laque nucléaire (hématoxyline), d'un colorant cytoplasmique (fuchsine acide faible/ponceau de xylydine) et d'un colorant du tissu conjonctif (bleu d'aniline ou vert lumière), tous deux acides forts, donne un bon contraste. Déshydrater et monter en milieu résineux.

Le bleu d'aniline donne souvent une coloration un peu plus empâtée mais permet une meilleure visualisation des fines fibrilles de collagène, il est généralement utilisé pour la neuropathie. Le vert lumière est plus transparent, il convient mieux aux biopsies rénales et digestives.

Résultats :

- collagène : bleu ou vert (suivant le colorant utilisé);
- cytoplasme : rose à rouge (muscle rose et foie rose-vert);
- noyau : bleu foncé ou brun;
- hématie et granulation éosinophile : rouge;
- mucus : bleu ou vert (suivant le colorant utilisé);
- kératine : rouge vif.
- fibre élastique : rose

### **Von Kossa**

La coloration de Von Kossa permet la mise en évidence des sels de calcium. La spécificité de cette méthode est axée davantage sur les phosphates et les carbonates de calcium, les autres anions n'étant pas mis en évidence.

Des accumulations anormales de calcium se trouvent dans les fibres élastiques en dégénérescence, de même que dans certaines lésions spécifiques (lésions caséuses de la tuberculose).

Temps de réalisation ≈ 50 minutes.

Révélation des sels de calcium (carbonate, oxalate, phosphate, sulfate) en leur substituant un cation métallique lourd (nitrate d'argent) que l'on visualise après réduction en argent métallique noir. Contre-colorer par le rouge nucléaire, déshydrater et monter en milieu résineux.

Résultats :

- dépôt de sels de calcium : noir ;
- fond : rose-rouge.

## Ziehl-Neelsen

La coloration de Ziehl-Neelsen permet la mise en évidence de certains micro-organismes (en particulier les mycobactéries) sur leurs caractères acido-alcool-résistants.

- Utilité : détection des bactéries (nocardiose, tuberculose), mycose (aspergillose).
- Témoin : granulome (follicule tuberculeux).
- Temps de réalisation ≈ 30 minutes.

Coloration de certains germes par un mélange de phénol et de fuch sine basique suivie de l'action d'éthanol additionnée d'acide chlorhydrique. Certains germes (bacille de Koch et de Hansen) résistent à l'action décolorante de l'alcool chlorhydrique (ils sont dits acido-alcool-résistants), les autres germes étant décolorés. Contre-colorer par le bleu de méthylène, déshydrater et monter en milieu résineux.

**À noter : la différenciation alcool/acide sert surtout à mettre en évidence le *Mycobacterium tuberculosis*.**

Résultats :

- bacille acido-alcool-résistant (tuberculeux) : rouge ;
- noyau : bleu foncé à bleu-vert ;
- fond : bleu pâle.

## Immunochimie

Les techniques immunochimiques sont des techniques performantes pour déterminer l'expression des protéines dans les cellules cancéreuses. Elles complètent les méthodes normalisées en pathologie.

### Mode opératoire

La procédure suivante peut servir de guide (coupes de tissus fixés et inclus en paraffine) :

1. prélèvement ;
2. fixation (AFA, formol tamponné) ;
3. inclusion en paraffine ;
4. coupes ;
5. fixation des coupes en étuve ;
6. déparaffinage ;
7. réhydratation ;
8. prétraitement : restauration antigénique combinée si nécessaire (digestion enzymatique suivie d'un traitement par la chaleur) ;
9. inhibition des peroxydases endogènes par l' $H_2O_2$  à 3 % afin de supprimer le bruit de fond interférant la manipulation ;
10. incubation d'un sérum normal de cheval qui sature les épitopes non spécifiques de l'antigène recherché ;
11. incubation de l'anticorps primaire qui se fixe sur l'épitope spécifique de l'antigène recherché ;
12. incubation de l'anticorps secondaire biotinylé qui se fixe sur la partie constante de l'anticorps primaire ;
13. incubation du complexe comprenant de l'avidine, de la biotine et de la peroxydase. Les sites libres de l'avidine fixent les biotines présentent à la surface de l'anticorps secondaire ;
14. incubation de la solution chromogène/substrat DAB qui permet de révéler le site de réaction Ag/Ac créé ;
15. contre-coloration légère à l'hématoxyline qui rend possible une détermination topographique du marquage ;
16. déshydratation en alcools croissants pour arriver au toluène (ou au xylène) ;
17. montage entre lame et lamelle ;
18. observation.

Pour l'ICC le mode opératoire est sensiblement identique. Excepté :

- les étapes post-fixation histologique ;
- la concentration des Ac adaptée en fonction du fixateur utilisé ;
- les étalements en couche mince (LBC) nécessitent pour certains épitopes nucléaires (avant la technique) une fixation complémentaire extemporanément dans un mélange (acide acétique glacial/éthanol absolu).

Les préparations cellulaires fixées sont réhydratées dans du PBS. En fonction de l'antigène recherché, elles subissent ou non une restauration antigénique par la chaleur et poursuivent le même procédé technique. La digestion enzymatique est à proscrire car elle entraîne des décollements et des altérations cellulaires importantes.

## Principe d'une technique immunochimique (méthode ABC)

La technique utilise un Ac primaire dirigé contre l'Ag cible permettant d'identifier les protéines recherchées dans la cellule. On utilise ensuite un Ac secondaire biotinylé dirigé spécifiquement contre l'Ac primaire. Un complexe avidine-biotine couplé à la peroxydase permet l'amplification du signal lors de la révélation par la diaminobenzidine (DAB) (fig. 3-72).

## Solution de rinçage

Tout au long de la manipulation des étapes de lavages et de rinçages sont nécessaires soit dans de l'eau déminéralisée, soit dans des solutions tamponnées de molarité et de pH différents, appropriées pour un marquage automatisé ou manuel (*cf.* p. 103). Les détergents, tels que le PBS et le TBS, minimisent l'absorption non spécifique des anticorps. Les détergents sont des molécules amphiphiles, c'est-à-dire qu'elles ont une partie hydrophile (chargée ou non) et une partie hydrophobe. Les détergents non ioniques sont particulièrement peu dénaturants et sont employés lorsqu'on veut préserver l'activité des protéines. Les détergents contenant un agent mouillant, Tween 20 ou triton, comme le PBT qui est du PBS Tween 20, permettent une perméabilisation douce des sites antigéniques (création de pores dans la couche de phospholipides membranaires)

car les Ac ne sont pas capables de pénétrer de façon significative à l'intérieur ou à la surface des cellules, et de réduire les fixations non spécifiques.

## Recommandations techniques

- Pour une meilleure adhérence de la coupe sur la lame de verre, utiliser de préférence des lames spéciales (chargées positivement). Ensuite, fixer les coupes sur les lames par passage d'une heure dans une étuve ventilée à 58 °C, suivi toute une nuit à 37 °C avant le déparaffinage.
- Tous les réactifs doivent s'équilibrer à température ambiante (20–25 °C) avant immunomarquage.
- Le pH des solutions doit être titré au pH-mètre (préalablement étalonné).
- Toutes les incubations doivent se dérouler à température ambiante sauf mention contraire.
- Ne pas laisser sécher les préparations pendant la procédure de marquage (risque de marquage non spécifique accru). Les prélèvements peuvent être cerclés d'un anneau de matière hydrophobe pour éviter la dispersion des réactifs.
- Pour une manipulation manuelle placer les lames dans un environnement humide (chambre humide) en position horizontale lors d'incubations prolongées.
- Après le blocage des sites non spécifiques, surtout ne pas rincer, enlever l'excès du réactif en drainant les lames.

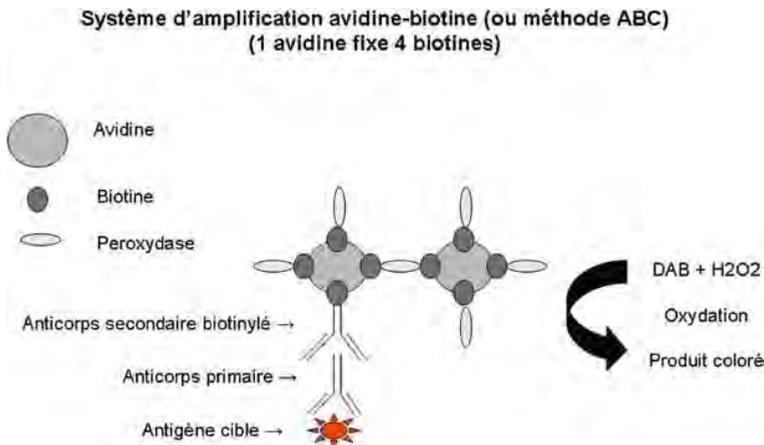


Fig. 3-72 Immunochimie. Système d'amplification avidine-biotine.

- Pour un traitement enzymatique protéolytique, le pH de la solution doit correspondre au pH d'action de l'enzyme utilisée.
- Pour le démasquage par la chaleur au four à micro-ondes :
  - placer les lames dans une (des) cuve(s) thermorésistante(s) pour four à micro-ondes contenant la solution tampon ;
  - répartir les cuves dans l'enceinte du four à micro-ondes étalonné, attendre les 97–98 °C sans toucher le point d'ébullition et maintenir ce palier ;
  - laisser refroidir les lames dans le tampon hors du four à micro-ondes à température ambiante pendant 20 minutes ;
  - rincer les lames dans une solution tampon de rinçage avant de poursuivre la technique.

### Détermination de l'origine des problèmes techniques

Les techniques immunochimiques sont généralement automatisées et contrôlées par ordinateur. Mais la préparation des échantillons cellulaires ou tissulaires et des solutions est réalisée manuellement, donc opérateur/dépendant. Lorsqu'il y a un problème, il faut savoir l'identifier (tableau 3-22). Par exemple, la présence d'un bruit de fond est en règle liée à un problème technique (mauvaise fixation, coupe trop épaisse, concentration de l'anticorps trop importante, séchage des lames, rinçages insuffisants...), l'absence de réactivité sur toutes les lames peut être due au mauvais choix de l'anticorps secondaire, à la présence d'azide de sodium (agent antibactérien) dans la dilution du

**Tableau 3-22** Causes probables des principaux problèmes techniques.

<b>Fausse positivité</b>	Le bruit de fond par son intensité peut rendre ininterprétable la lecture des lames. Il s'agit d'un marquage non spécifique. Il peut être observé dans les zones de nécrose (non systématiquement), dans les espaces intercellulaires et sur les fibres de collagène où les immunoglobulines sériques se fixent, en périphérie des prélèvements (effet de bord). Parfois, il s'agit d'un marquage topographique inattendu observé notamment en cas de démasquage antigénique par la chaleur inappropriée ou trop prolongée
<b>Fausse négativité</b>	Un résultat négatif n'a <i>a priori</i> pas de valeur. Il peut avoir différentes significations : erreur de technique, l'Ag recherché est absent ou présent en très faible quantité ou masqué
<b>Absence de réactivité sur toutes les lames</b>	Déshydratation excessive Mauvais choix de l'Ac secondaire ou du colorant pour la contre-coloration Mauvaise élimination des tampons de rinçage Omission de l'Ac dans la solution de dilution Omission de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dans la solution chromogène Omission d'une, voire plusieurs étapes Présence d'azide de sodium dans un bain tampon ou dans la dilution du complexe (ABC) Produits périmés
<b>Absence de réactivité sur quelques lames</b>	Ac primaire trop dilué Ag détruit pendant la préparation (fixation ou traitement enzymatique trop prolongé) Ag masqué
<b>Réactivité faible ou douteuse</b>	Ag en partie masqué Chromogène périmé Température ambiante trop basse Temps d'incubation trop court des Ac (surtout l'Ac primaire) ou du substrat
<b>Bruit de fond</b>	Ac primaire trop concentré Chromogène préparé à la lumière ou trop longtemps à l'avance avant l'emploi Déparaffinage incomplet Échantillon cellulaire ou tissulaire trop épais Fixation Incubation trop longue dans le chromogène Omission des agents bloquants (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , BSA) Produits périmés Rinçages insuffisants Séchage des lames au cours de la technique Température ambiante trop élevée

complexe (ABC), à l'omission de l'eau oxygénée dans la solution chromogène.

### ● **Attention**

L'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) est un agent chimique hautement toxique à l'état pur. C'est un inhibiteur des peroxydases. Ne pas l'utiliser dans les tampons de révélation de ces enzymes.

### **Principales familles d'anticorps**

Les principales familles d'anticorps se définissent par leur cible (l'Ag correspondant).

#### **Filament intermédiaire (FIs)**

Les filaments intermédiaires (FIs) forment avec les microtubules de tubuline (24 nm de diamètre) et les microfilaments ou filaments d'actine (5 à 8 nm

de diamètre) les différentes architectures du cytosquelette (réseau complexe de filaments protéiques contenu dans le cytoplasme de toutes cellules). Ils regroupent cinq classes de protéines (tableau 3-23).

L'actine est une protéine importante pour l'architecture et les mouvements cellulaires. Elle est présente dans toutes les cellules du corps et spécialement dans les cellules musculaires. La vimentine et les kératines sont des protéines importantes qui sont fabriquées par des cellules avec une spécificité variable mais souvent étroite. La vimentine est responsable du maintien de la forme cellulaire, de l'intégrité du cytoplasme, et stabilise les interactions cytosquelettiques. Elle est présente dans la plupart des cellules mésenchymateuses (fibroblastes, chondrocytes, endothéliales vasculaires). Les cytokératines CK (8–10 nm de diamètre) correspondent à

**Tableau 3-23** Anticorps spécifiques des filaments intermédiaires.

Molécules	Spécificité cellulaire		Intérêt diagnostique
Kératines ou Cytokératines	Épithéliale et mésothéliale		Nombreux carcinomes Mésothéliome (cf. tableaux 3-24 et 3-25)
Actines	Musculaires lisses	Musculaires striées	
– actine $\alpha$ -smooth	+	–	Léiomyosarcome
– actine musculaire lisse (AML)	+	–	Léiomyosarcome
– actine musculaire striée (HHF 35)	+	+	Léiomyosarcome RMS
– actine sarcomérique	–	+	RMS Sarcome
– caldesmone	+	–	Léiomyosarcome Tumeur stromale digestive
– desmine	+	+	Léiomyosarcome Mésothéliome RMS Sarcome Tumeur desmoplasiq
– myo D1	–	+	RMS
– myogénine	–	+	Néphroblastome (tumeur de Wilms) RMS
Gliofilaments (GFAP) (protéine gliale fibrillaire acide)	Gliale (astrocytes)		Astrocytome Épendymome Rétinoblastome Schwannome
Neurofilaments	Neuronale		Neuroblastome
Vimentine	Mésenchymateuse		Néphroblastome (tumeur de Wilms)

des polypeptides fibreux intracellulaires présents dans pratiquement toutes les cellules épithéliales. Il en existe une vingtaine différente chez l'homme. Elles sont classées et numérotées selon leur poids moléculaire (pm) et leur point isoélectrique, et peuvent être réparties entre une sous-famille acide (type I) numérotée de 9 à 20 et une sous-famille basique ou neutre (type II) numérotée de 1 à 8. Chaque épithélium et chaque tumeur correspondent à un profil cytokératine particulier.

**À noter : une co-expression de la kératine est possible avec la vimentine dans les épithéliums glandulaires.**

La vimentine est positive dans la plupart des tumeurs conjonctives, les mélanomes, les mésothéliomes, certains lymphomes non hodgkiniens (LNH) et carcinomes (endomètre, glandes salivaires, rein, sein, thyroïde). La mise en évidence de cytokératines de poids moléculaires différents a un grand intérêt dans le typage de certaines tumeurs et/ou leurs métastases ([tableau 3-24](#)). La pancytokératine KL1 (Ac à spectres large) est positive dans de nombreuses tumeurs malignes : carcinome (embryonnaire, neuro-endocrine), carcinome indifférencié du nasopharynx (UCNT), choriocarcinome, mésothéliome, sarcome épithélioïde, synoviosarcome, tératome, tumeur (à cellules de Merkel, desmoplasique, germinale, vitelline). La pancytokératine AE1-AE3 (cocktail de deux Ac monoclonaux : l'Ac AE1 reconnaît les kératines acides et l'Ac AE3, les kératines basiques) est utilisée pour l'identification d'une différenciation épithéliale dans une tumeur indifférenciée.

Les carcinomes sont quasiment toujours positifs pour des cocktails d'anticorps anti-cytokératines (pancytokératines : KL1 ou AE1-AE3). Certains «sous-types» de cytokératines peuvent mieux orienter le diagnostic et en particulier le profil CK 7/CK 20 ([tableau 3-25](#)).

### Antigène de surface

La plupart des CD (*cluster of differentiation* = classe de différenciation) de typage leucocytaire permettent l'identification du phénotype d'une population cellulaire et de reconnaître les cellules lymphoïdes

**Tableau 3-24** Principales cytokératines utilisées pour le diagnostic.

Molécule	Épithélium	Intérêt diagnostique
CK AE1-AE3	Simple et stratifié plus ou moins kératinisé	Mésotéliome Synoviosarcome UCNT
CK KL1	Simple et stratifié plus ou moins kératinisé	Nombreux carcinomes Mésotéliome
CK 5/6	Squameux et glandulaire, myoépithélium et mésotélium	Carcinome épidermoïde Mésotéliome
CK 7	Pulmonaire, urothélium, cellules mésotéliales	<a href="#">Cf. tableau 3-25</a>
CK 8/18	Simple et glandulaire	Carcinome (colorectal, hépatocellulaire, prostatique) Mésotéliome
CK 19	Simple et transitionnel, quelques épithéliums complexes	Carcinome : hépatocellulaire, thymique, thyroïdien (papillaire) Cholangiocarcinome
CK 20	Intestinal et gastrique, urothélium, cellules de Merkel	<a href="#">Cf. tableau 3-25</a>

**Tableau 3-25** Co-expression CK 7 et CK 20 dans les tumeurs primitives et/ou métastatiques.

<b>CK 7 (+) CK 20 (+)</b>	Carcinome (pancréatique, gastrique, biliaire, urothélial)
<b>CK 7 (+) CK 20 (-)</b>	Adénocarcinome : bronchopulmonaire, endométrial, mammaire Carcinome : ovarien (séreux), thyroïdien Cholangiocarcinome Chordome Mésotéliome
<b>CK 7 (-) CK 20 (+)</b>	Adénocarcinome colorectal Carcinome : à cellules de Merkel, ovarien (mucineux)

impliquées ([tableau 3-26](#)). Les molécules CD se répartissent en trois groupes principaux : marqueurs exprimés tout au long de la vie de la cellule, marqueurs exprimés transitoirement pendant une phase de différenciation, et marqueurs exprimés lorsque la cellule est activée. Il s'agit d'un domaine complexe; plus de 2000 CD existent, certains étant formés de plusieurs protéines. Chaque classe d'antigènes de différenciation est suivie d'un numéro dont la classification repose sur une nomenclature internationale.

**Tableau 3-26** Principaux marqueurs utiles en pathologie hématolymphoïde.

Molécule	Spécificité cellulaire	Intérêt diagnostique
EMA (antigène épithélial membranaire)	Cellules épithéliales de surface, plasmocytes et certaines cellules lymphoïdes	Carcinome Lymphome anaplasique à grandes cellules Plasmocytome
LCA ou Pan L (antigène commun leucocytaire ou pan leucocytaire)	Cellules lymphoïdes B et T	Lymphome
<i>Pour trancher entre la lignée B et T :</i>		
- CD 20-Cy et CD 79a	- Cellules lymphoïdes B	- Lymphome B
- CD 3 et CD 45 RO (UCHL1)	- Cellules lymphoïdes T	- Lymphome T
CD 1a	Cellules de Langerhans, lymphocytes T matures	Histiocytose X Thymome
CD 68	Macrophages	Histiocytofibrome malin

### Immunoglobuline (Ig)

Les anticorps non clustérisés des chaînes lourdes des immunoglobulines (anti-Ig A, G, M, D) et des chaînes légères des Igs (anti-Kappa, -lambda) sont utilisés pour rechercher la monoclonalité d'une prolifération lymphoïde B.

### Molécule d'adhérence

Ce sont des glycoprotéines de la membrane cellulaire qui assurent l'adhérence des cellules entre elles ou à la matrice extracellulaire. Elles regroupent les cadhérines, les intégrines et les sélectines.

### Antigène tumoral (oncofœtal ou néo-antigène)

Ils mettent en évidence des constituants cellulaires caractéristiques ou relativement caractéristiques d'un ou plusieurs types de cancers (tableau 3-27).

### Divers

La PS 100 est une protéine soluble à 100 % dans le sulfate d'ammonium d'où son nom. Elle marque des cellules très diverses mais peut être utile pour affirmer l'origine nerveuse ou mélanocytaire d'une tumeur maligne à cellules fusiformes.

**Tableau 3-27** Principaux anticorps des antigènes tumoraux.

Molécule	Spécificité cellulaire	Intérêt diagnostique
ACE (antigène carcino-embryonnaire)	Gerninale	Adénocarcinomes digestifs et autres (sein, pulmonaire non à petites cellules, ovarien, endométrial...)
AFP (alpha-fœtoprotéine)	Gerninale (testicule) et hépatique	Carcinome embryonnaire Hépatocarcinome
CA 125	Gerninale (endomètre et ovaire)	Carcinome (ovarien, endométrial)
PSA (antigène spécifique de la prostate)	Prostatique	Carcinome prostatique

### Enzyme (tableau 3-28)

**Tableau 3-28** Principaux anticorps des enzymes.

Molécule	Spécificité cellulaire	Intérêt diagnostique
NSE (neuro-éolase spécifique)	Neuro-endocrine et très diverse	Carcinome pulmonaire à petites cellules Neuroblastome Phéochromocytome PNET Rétinoblastome Tumeur : à cellules de Merkel, desmoplastique, neuro-ectodermique, neuro-endocrine
PAP (phosphatase acide prostatique)	Épithéliale prostatique	Carcinome prostatique Tumeur germinale
PLAP (phosphatase alcaline placentaire)	Gerninale	Carcinome embryonnaire Dysgerminome ovarien Séminome Tumeur germinale

### Marqueur de différenciation cellulaire (tableau 3-30)

La calrétinine appartient à la superfamille liée au calcium. Elle est utile pour le diagnostic des mésothéliomes. La GCDFP 15 (*gross cystic disease fluid protein 15*) est utile pour le diagnostic du carcinome apocrine du sein. La positivité nucléaire de TTF 1 (*thyroid transcription factor 1*) oriente vers un adénocarcinome pulmonaire (primitif ou

## Hormone (tableau 3-29)

**Tableau 3-29** Principaux anticorps des hormones.

Molécule	Spécificité cellulaire	Intérêt diagnostique
β-HCG (hormone chorionique gonadotrope)	Germine	Choriocarcinome Tumeur : germinale, vitelline
Calcitonine	Cellules interfolliculaires de la thyroïde	Carcinome médullaire de la thyroïde
Chromogranine A	Neuro-endocrine	Carcinome à cellules de Merkel Médulloblastome Neuroblastome Tumeur neuro-endocrine
Inhibine	Germine	Tumeur de la granulosa
Synaptophysine	Neuro-endocrine	Carcinome : à cellules de Merkel, thyroïdien (médullaire), gastro-intestinal Médulloblastome Neuroblastome Tumeur neuro-endocrine
Thyroglobuline	Cellules épithéliales vésiculaires de la thyroïde	Carcinome thyroïdien : papillaire et vésiculaire

**Tableau 3-30** Principaux marqueurs selon la spécificité cellulaire.

Spécificité	Molécules
Astrocytaire	GFAP
Conjonctive	Actine, caldesmone, desmine, myogénine, vimentine
Épithéliale	ACE, CD 15, cytokeratines, EMA, GCDFP 15, TTF 1
Germine	β-HCG, AFP, CD 117c-kit, PAP, PLAP
Leucocytaire	La plupart des CD
Mélanocytaire	HMB 45, melan A, PS 100, vimentine
Mésothéliale	Calrétinine, WT 1
Neuro-endocrine	CD 56, CD 57, chromogranine A, NSE, synaptophysine
Vasculaire	BNH 9, CD 31, CD 34, facteur VIII (von Willebrand)

carcinome neuro-endocrine à petites cellules du poumon) ou thyroïdien (médullaire, papillaire et vésiculaire). La positivité de la thyroglobuline dans les carcinomes thyroïdiens peut permettre secondairement de séparer ces deux origines.

## Oncoprotéine

Les oncoprotéines sont des protéines traduisant des gènes dont certains sont exprimés au cours des cancers (oncogènes) alors que d'autres sont déprimés ou absents (anti-oncogènes) :

- le Bcl 2 est un oncogène impliqué dans les voies de l'apoptose. Il a comme caractéristique d'être un inhibiteur puissant de la mort cellulaire programmée ;
- le Bcl 6 (proto-oncogène) code pour un répresseur transcriptionnel impliqué dans la formation des centres germinatifs, la maturation lymphocytaire B et T, du cycle cellulaire et l'apoptose. Une expression du Bcl 6 est observée avec une fréquence variable dans certains lymphomes de phénotype B (lymphome folliculaire, lymphome de Burkitt) ;
- le CD 117 (oncogène c-kit) est une protéine transmembranaire à activité tyrosine kinase. Des mutations sont observées dans les tumeurs stromales digestives (GIST) ;
- l'EGFR (*epidermal growth factor receptor*) est fortement exprimé dans les cancers épidermoïdes de la tête et du cou, des voies aérodigestives supérieures (VADS), du côlon, du pancréas, de l'ovaire et de la vessie ;
- l'HER-2 est une glycoprotéine transmembranaire à activité tyrosine kinase. Cette protéine est exprimée dans les cancers du sein mais également de l'ovaire, du côlon et du pancréas ;
- la p53 est une protéine impliquée dans la réparation de l'ADN ou l'induction de l'apoptose après un stress cellulaire. Elle est retrouvée en petite quantité dans les cellules normales mais en grande abondance dans les tumeurs malignes. Des délétions ou des mutations de la p53 sont observées dans près de 50 % des cancers ;
- le WT 1 est un gène qui code pour un facteur de transcription. Il joue un rôle critique dans le développement normal du rein et des gonades. Des mutations de ce gène provoquent des cancers du rein chez l'enfant (tumeur de Wilms).

## Marqueur de prolifération cellulaire

Ils marquent les cellules engagées dans le cycle cellulaire :

- la surexpression de la cycline D1 est observée dans une variété de lymphome (lymphome du manteau) ;
- le Ki 67 est exprimé durant toute la durée du cycle cellulaire permettant d'évaluer la fraction cellulaire en phase de croissance. Il peut être utile pour aider à déterminer le degré de malignité de certaines tumeurs comme les tumeurs stromales du tube digestif. Un index de Ki 67 élevé indique que les cellules cancéreuses se divisent rapidement ;
- l'altération de l'expression de la p53 peut être retrouvée dans pratiquement tous les types de cancer.

### Marqueur pronostic

Ils sont des facteurs dont la valeur permet de préciser le potentiel évolutif du cancer :

- l'expression de l'ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) est corrélée à un bon pronostic des lymphomes T anaplasiques ;
- l'expression de Bcl 2 est corrélée à un mauvais pronostic des lymphomes B diffus à grandes cellules ;
- la surexpression de HER-2 (Cerb B2) est corrélée à un mauvais pronostic des cancers invasifs du sein.

### Marqueur prédictif

Ils sont utilisés pour déterminer le statut potentiel de réponse à un traitement antitumoral ciblé spécifique :

- la détermination des récepteurs hormonaux (récepteurs aux œstrogènes [RO] et à la progestérone [RP]) est effectuée essentiellement sur des lésions mammaires afin d'évaluer l'hormonosensibilité en vue d'un traitement spécifique. L'expression nucléaire des récepteurs hormonaux (RH) est réalisée par une analyse semi-quantitative. La positivité des RO et/ou de RP (seuil de positivité > 10 %

des cellules tumorales marquées) est associée à une meilleure réponse à un traitement par hormonothérapie. L'absence des RO est associée à une meilleure réponse à la chimiothérapie ;

- l'absence de l'amplification (par technique FISH) de Cerb B2 (HER-2) est corrélée à une absence de réponse au traitement par l'Herceptine® dans les cancers du sein.

### Cibler la nature de la tumeur

Certains anticorps permettent la détermination des grandes classes de cancer ou servent d'orientation diagnostique (tableau 3-31).

Chaque tumeur est différente et peut exprimer de nombreux facteurs uniques. La vimentine peut être présente au niveau de certains carcinomes et lymphomes non hodgkiniens. Il existe également les réactivités croisées de certains anticorps liées à des épitopes communs à des sites antigéniques de cellules différentes. Par exemple, des antigènes épithéliaux (cytokératines, EMA) peuvent être exprimés par des sarcomes, des mélanomes ou même des lymphomes. Les sarcomes ont des marqueurs dépendant de la cellule matricielle : AML, caldesmone, CD 31, CD 34, CD 99 (mic-2), CD 117 (c-kit), desmine, myogénine, PS 100. Certains sarcomes (sarcome épithélioïde, synoviosarcome) co-expriment les CK et la vimentine.

Pour un étiquetage plus précis de la tumeur suspectée, ou la recherche étiologique en cas de métastase isolée sans point de départ, une combinaison d'anticorps est donc nécessaire pour rechercher une cohérence dans les résultats (positif/négatif). Ce panel d'anticorps (soigneusement choisi par le pathologiste) permet d'obtenir des arguments pour ou contre chaque hypothèse diagnostique (tableaux 3-32 et 3-33).

**Tableau 3-31** Orientation diagnostique selon l'immunophénotypage.

Cytokératine (+) EMA (+) LCA (-)	Cytokératine (-) LCA (+)	Cytokératines (-) LCA (-) Melan-A (+) HMB 45 (+) PS 100 (+) Vimentine (+)	Cytokératine (-) LCA (-) PS 100 (-) Vimentine (+)	Cytokératine (-) EMA (-) LCA (-)
↓	↓	↓	↓	↓
Carcinome	Lymphome	Mélanome	Sarcome	Autre tumeur

**Tableau 3-32** Profil habituel d'expression de certaines tumeurs primitives et/ou métastatiques (liste non exhaustive).

Tumeur	CK	Desmine	GFAP	LCA	NF	Vimentine	Autre
Léiomyosarcome	–	+	–	–	–	±	Cf. <a href="#">tableau 3-23</a>
Rhabdomyosarcome	–	+	–	–	–	±	Cf. <a href="#">tableau 3-23</a>
Tumeur d'Ewing PNET	–	–	–	–	–	+	CD 99+
Tumeur gliale (astrocytome, épendymome)	–	–	+	–	–	+	
Néphroblastome (tumeur de Wilms)	–	–	–	–	–	+	Myogénine+ WT1+
Neuroblastome	–	–	–	–	+	–	Anti-GD2+ (en cytologie) Neuroblastome (NB84)+

**Tableau 3-33** Profil habituel d'expression de certaines tumeurs hématolymphoïdes (liste non exhaustive).

Tumeur hématolymphoïde	LCA	CD 20	CD 79a	CD 43	CD 3	CD 30	CD 15	Autres
Leucémie lymphoïde chronique (LLC)	+	+	+	+	–	–	–	Bcl2+ CD5+ CD23+ IgD+ IgM+
Lymphome anaplasique à grandes cellules	±	–	–	±	–	+	–	ALK1+ EMA+
Lymphome B	+	+	+	–	–	–	–	
Lymphome B diffus à grandes cellules	+	+	+	±	–	–	–	
Lymphome de Burkitt	+	+	+	–	–	–	–	Bcl6+ CD10+ IgM+ Ki67+
Lymphome du MALT	+	+	+	–	–	–	–	Bcl2+ IgD- IgM+ +
Lymphome du manteau	+	+	+	–	–	–	–	CD5+ Cycline D1+ IgD+ IgM+
Lymphome folliculaire	+	+	+	–	–	–	–	Bcl2+ CD10+ IgD- IgM+ Lambda+
Lymphome T	+	–	–	+	+	–	–	[CD4 et CD8+ ou CD4 et CD8-] CD5+
Maladie de Hodgkin	–	–	–	–	–	+	+	EMA ±
Plasmocytome	–	–	+	±	–	–	–	EMA+

## Spécificité des principaux anticorps

Une vaste gamme d'anticorps de bonne qualité est commercialisée pour confirmer et préciser plus amplement les diagnostics, et permettre également l'étude des facteurs pronostics et prédictifs de la réponse thérapeutique ([tableau 3-34](#)). Grâce au progrès de la recherche, chaque année, de nouveaux anticorps sont mis à la disposition des pathologistes avec des indications nouvelles de plus en plus spécifiques.

La détection du virus d'Epstein-Barr (EBV) est utile dans le carcinome indifférencié du nasopharynx (UCNT), et les différents sous-types de papillomavirus (HPV) pour les néoplasies intra-épithéliales du col utérin. Pour certains d'entre eux (suivant le stade d'infestation), le marquage est tantôt nucléaire, tantôt cytoplasmique.

## Illustration

Immunochimie réalisée sur des préparations tissulaires (IHC) – coupes en paraffine ou cyto bloc (CB) – et des préparations cytologiques (ICC) – étalements manuels (EM) ou en milieu liquide (LBC).

## Témoin

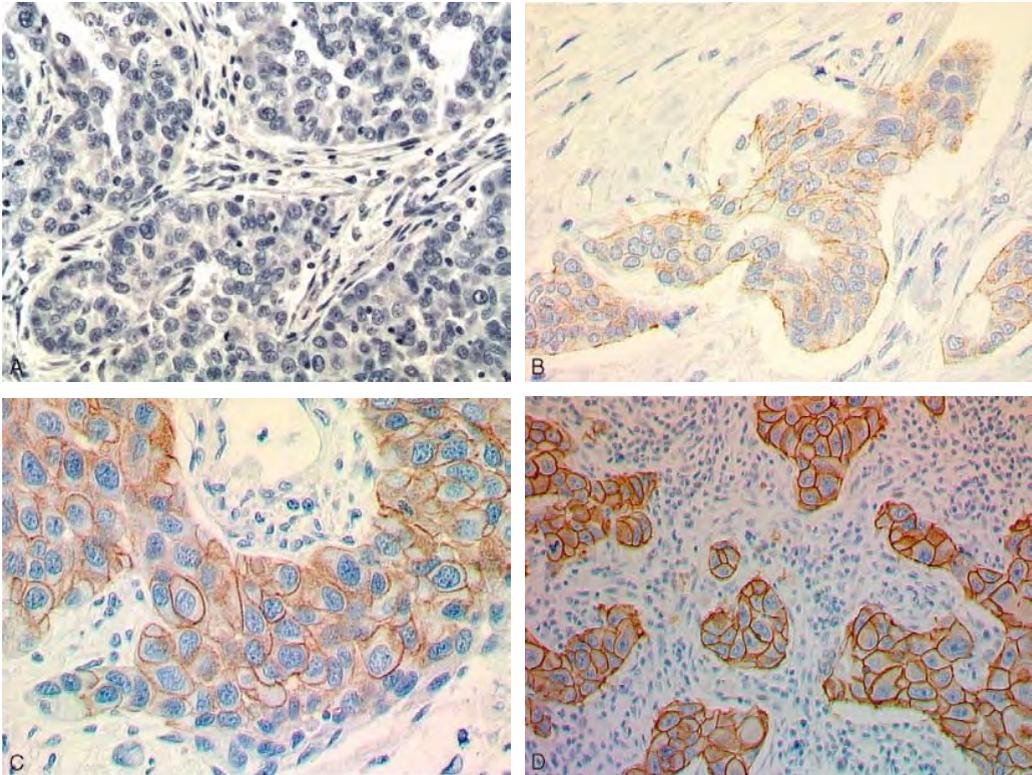
L'analyse des témoins positifs et négatifs est primordiale et doit toujours constituer l'étape préalable à l'interprétation d'un immunomarquage. Elle permet de juger de la bonne qualité technique et de comparer l'intensité du marquage ([fig. 3-73a à d](#)).

## Technique spécifique

L'analyse des échantillons cellulaires et tissulaires peut être complétée par des études utilisant des techniques morphologiques ou non morphologiques qui

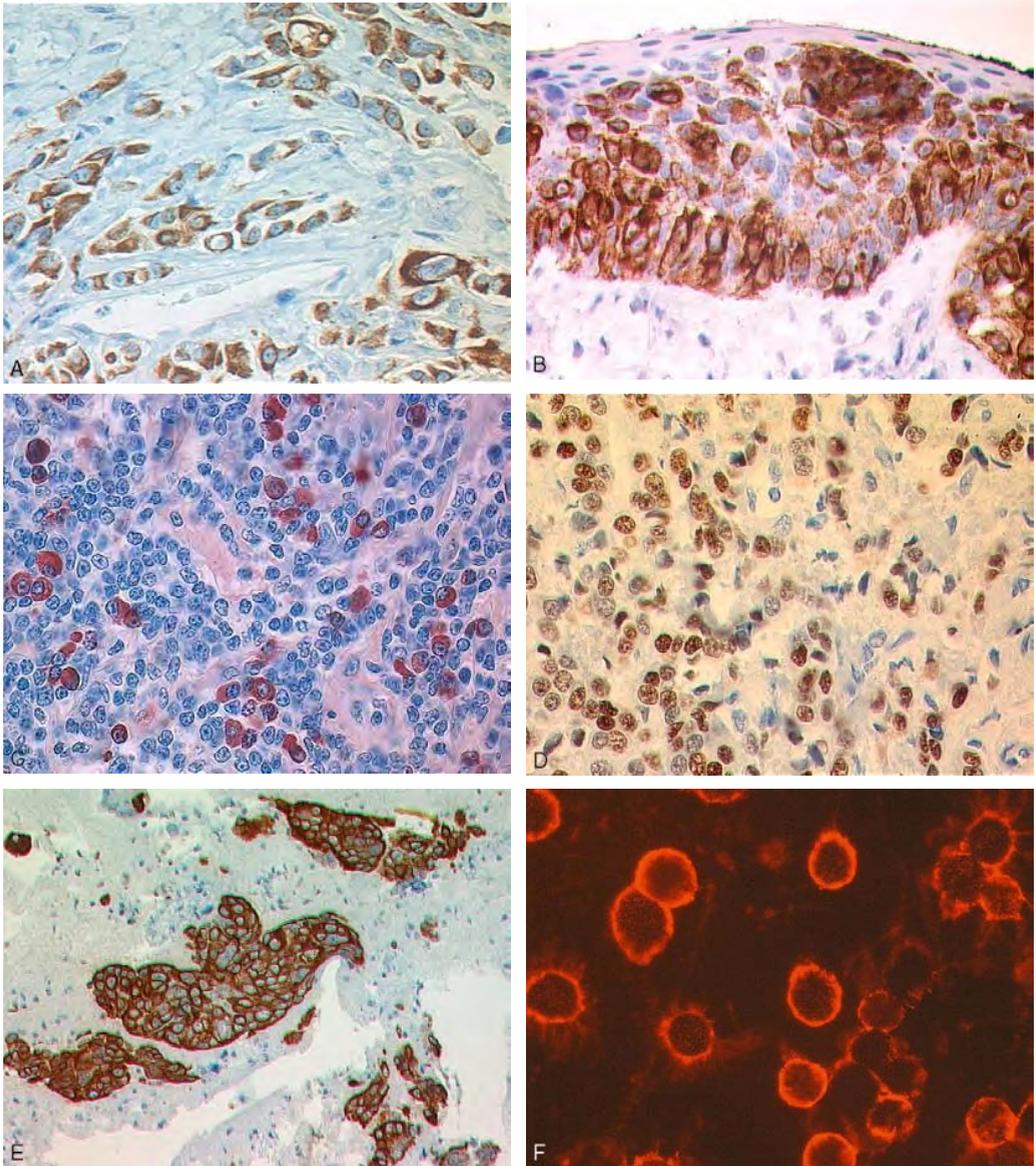
**Tableau 3-34** Principaux marqueurs utilisés pour le diagnostic.

Hémopathie		Différenciation neuro-endocrine	Tumeur conjonctive	Tumeur épithéliale mammaire	Organe spécifique	Divers	Virus
ALK 1	CD 23	CD 99	Actines	Cerb B2 (HER-2)	ACE	Calrétinine	EBV
Bcl 2	CD 30	Chromogranine	BNH 9	GCDFP 15	AFP	Cytokératines	HPV
CD 1a	CD 43	NSE	CD 34	RO	$\beta$ -HCG	EMA	
CD 3	CD 79a	Synaptophysine	CD 68	RP	CA 125	HMB 45	
CD 4	Cycline D1		Desmine		Calcitonine	Ki 67	
CD 5	Ig A, G, M, D		PS 100		PAP	p53	
CD 8	Kappa		Vimentine		PLAP		
CD 10	Lambda				PSA		
CD 15	LCA				Thyroglobuline		
CD 20					TTF 1		

**Fig. 3-73** IHC : marquage membranaire anti-Cerb B2 (HER2-neu) des cellules tumorales (carcinome canalaire infiltrant du sein), peroxydase/DAB, contre-coloration par l'hématoxyline de Harris.

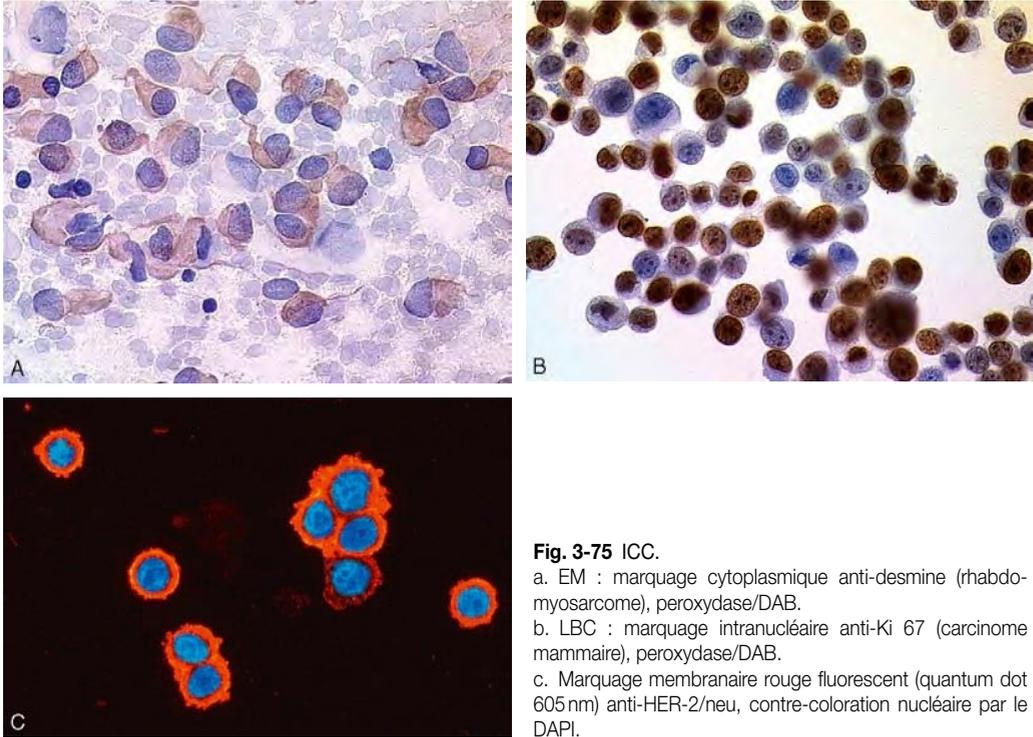
- Témoin négatif (pas de marquage).
- Témoin positif, intensité faible (+).
- Témoin positif, intensité modérée (++)
- Témoin positif, intensité forte (+++).

**Immunomarquage** (fig. 3-74 et 3-75)



**Fig. 3-74** IHC.

- Marquage cytoplasmique anti-cytokératines KL1 (mésothéliome malin), peroxydase/DAB.
- Marquage cytoplasmique anti-HMB 45 (mélanome), peroxydase/DAB.
- Marquage cytoplasmique anti-IgM (lymphome), peroxydase/AEC.
- Marquage intranucléaire anti-récepteurs œstrogènes RO (carcinome mammaire), peroxydase/DAB.
- CB : marquage cytoplasmique anti-cytokératines AE1-AE3 (métastase carcinome épidermoïde), peroxydase/DAB.
- Marquage membranaire rouge fluorescent (quantum dot 605 nm) anti-HER-2/neu, pas de contre-coloration.



**Fig. 3-75** ICC.

a. EM : marquage cytoplasmique anti-desmine (rhabdomyosarcome), peroxydase/DAB.

b. LBC : marquage intranucléaire anti-Ki 67 (carcinome mammaire), peroxydase/DAB.

c. Marquage membranaire rouge fluoescient (quantum dot 605 nm) anti-HER-2/neu, contre-coloration nucléaire par le DAPI.

sont réalisées soit au sein des laboratoires de pathologie, soit dans des laboratoires de génétique oncologique (en relation étroite avec les pathologistes) et des centres de ressources biologiques (CRB).

Les nouvelles techniques utilisées en anatomo-cytopathologie font appel à des procédures sophistiquées, généralement issues de la recherche en biologie moléculaire ou de la cytogénétique. Elles nécessitent une grande rigueur opératoire et sont totalement conditionnées par le mode de fixation initiale des cellules ou des tissus prélevés.

### Détection des micrométastases

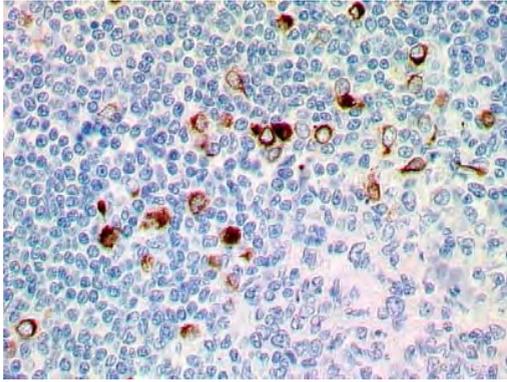
L'essor du dépistage des tumeurs assure la découverte de cancers de plus petite taille et dont les envahissements (métastases) ganglionnaires ou viscéraux sont minimes, nécessitant la mise en œuvre de techniques immunochimiques (ICC ou IHC) utilisant des anticorps spécifiques pour leur reconnaissance.

Dans le cadre du bilan d'extension initial de certaines tumeurs malignes qui tendent à disséminer, la détection de cellules tumorales (micrométastases)

est réalisée dans le(s) ganglion(s) lymphatique(s) drainant(s) la tumeur (ganglion sentinelle : GS) prélevé(s) au cours de l'intervention chirurgicale (cf. fig. 4-14a et b) et/ou à partir d'un échantillon de moelle osseuse obtenu par ponction. Les micrométastases sont caractérisées par un diamètre oscillant entre 0,2 et 2 mm et sont donc difficilement repérables avec les méthodes conventionnelles de diagnostic.

### Micrométastase et ganglion

Le concept du ganglion sentinelle s'applique aux tumeurs pour lesquelles l'atteinte ganglionnaire est un facteur pronostic important. Des niveaux de coupes additionnelles sont réalisés à partir de bloc(s) tissulaire(s) fixé(s) et inclus en paraffine. Le nombre de niveaux de coupe et leur espacement varie (il n'existe pas de protocole standardisé), certains allant jusqu'à l'épuisement du bloc. Après immunomarquage (anti-cytokératine pour les carcinomes mammaires ou anti-HMB 45 pour les mélanomes), chaque coupe tissulaire est analysée par le pathologiste au microscope optique



**Fig. 3-76** Détection des micrométastases dans un ganglion sentinelle drainant une tumeur maligne du sein. IHC : marquage cytoplasmique des cellules malignes, anti-cytokératines KL1, peroxydase/DAB.

(fig. 3-76). Si l'analyse montre la présence de cellules cancéreuses, l'ablation complète de la chaîne ganglionnaire (ou des ganglions afférents) est alors pratiquée au cours d'une nouvelle intervention chirurgicale.

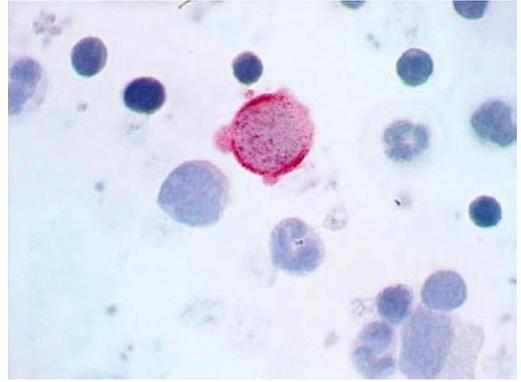
### Micrométastase et moelle osseuse

Après séparation des cellules par centrifugation sur Ficoll® (destruction du fond hémorragique), des cytoplots sont réalisés. Les immunomarquages des préparations cytologiques sont analysés grâce à un automate analyseur d'images composé d'un microscope couplé à un ordinateur : une cellule maligne parmi des milliers de cellules mononucléées analysées peut être détectée (fig. 3-77).

### Détection du neuroblastome et de ses métastases médullaires

Le neuroblastome est un cancer de l'enfant qui apparaît généralement avant 6 ans. Cette tumeur maligne se développe à partir du système nerveux sympathique. Elle se forme au détriment des petites cellules rondes dérivées de la crête neurale. Les neuroblastomes sont principalement composés de neuroblastes (organisés parfois en rosette) et de cellules de Schwann. Les sites de prédilection sont l'abdomen, en rétropéritonéal ou surrénalien, moins souvent au niveau du cou, du thorax ou du pelvis.

La dissémination dans la moelle osseuse est due aux caractéristiques spécifiques de certains



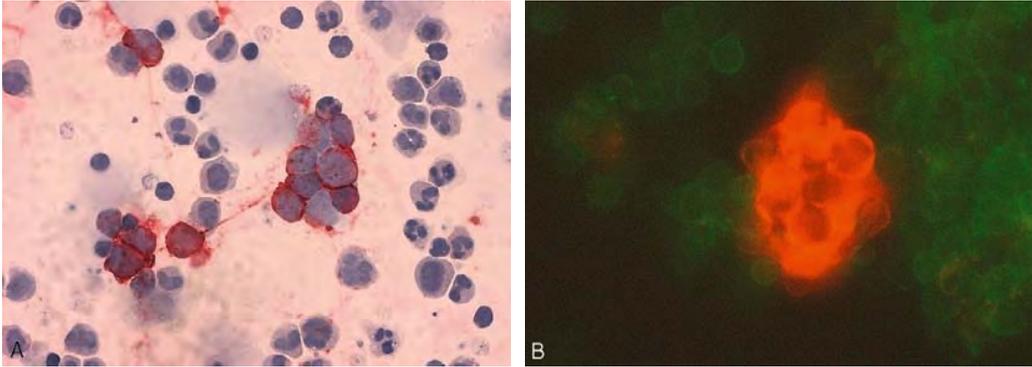
**Fig. 3-77** Détection des micrométastases dans la moelle osseuse dans le cadre d'un bilan d'extension pour cancer du sein.

ICC : marquage cytoplasmique d'une cellule maligne isolée, anti-cytokératines (8, 18, 19), phosphatase alcaline (APAAP)/fuchsiine.

neuroblastomes. L'amplification de l'oncogène N-MYC (dès lors que le nombre de copies est supérieur à trois) est un facteur de mauvais pronostic (risque élevé de développer des métastases). La recherche d'une atteinte à distance du site initial est capitale au moment du diagnostic et indispensable dans la surveillance (pendant et après traitement par chimiothérapie) pour déceler une éventuelle rechute. L'évaluation de l'extension ostéomédullaire est basée sur des prélèvements de moelle (myélogrammes) réalisés principalement aux niveaux des épines iliaques antérieure et postérieure (zone active d'érythropoïèse) chez l'enfant et des tibias chez le nourrisson. L'analyse des étalements conventionnels colorés au MGG n'est pas toujours suffisante pour confirmer si la moelle est envahie. Une étude complémentaire plus précise qui regroupe les ponctions de plusieurs secteurs (pool médullaire) est analysée par immunocytochimie, phosphatase alcaline (fig. 3-78a) et/ou en fluorescence (fig. 3-78b). Ces techniques extrêmement sensibles permettent de détecter une cellule maligne parmi des milliers de cellules.

### Cytométrie en flux

La cytométrie en flux (CMF) étudie le cycle cellulaire et permet ainsi d'évaluer l'activité proliférative de la tumeur. Elle est réalisée à partir de suspensions



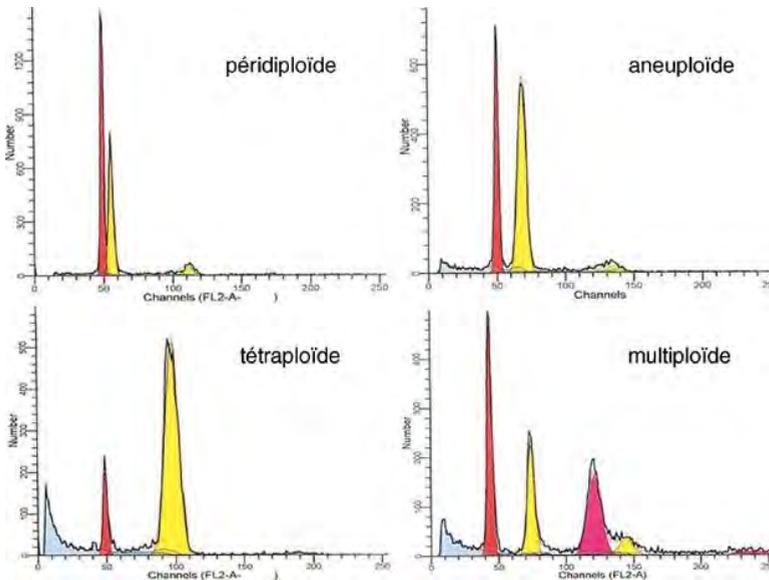
**Fig. 3-78** Détection des métastases médullaires d'un neuroblastome.

a. ICC : marquage cytoplasmique des neuroblastes, anti-GD 2, APAAP/fuchsine.

b. ICC : marquage rouge intense des neuroblastes, anti-GD 2, fluorescence.

cellulaires provenant d'un produit de cytoponction ou après broyage d'un tissu frais ou congelé. Cette technique de morphométrie consiste à faire défiler des cellules dissociées et préalablement marquées par un fluorochrome (iodure de propidium) devant un faisceau laser. Une étude quantitative de l'ADN (ploïdie) des cellules tumorales et de la phase de synthèse (S) est calculée à l'aide de logiciels. Les résultats sont visualisés sur des histogrammes (fig. 3-79) :

- diploïde : cellule présentant deux jeux de chromosomes homologues ( $2N$ ). Des tumeurs malignes peuvent être diploïdes ;
- aneuploïde : anomalies du nombre de chromosomes ;
- tétraploïde : état d'une cellule qui possède quatre lots de chromosomes ;
- multiploïde : présence de plusieurs pics différents de  $2N$ .



**Fig. 3-79** Cytométrie en flux (CMF). Histogrammes.

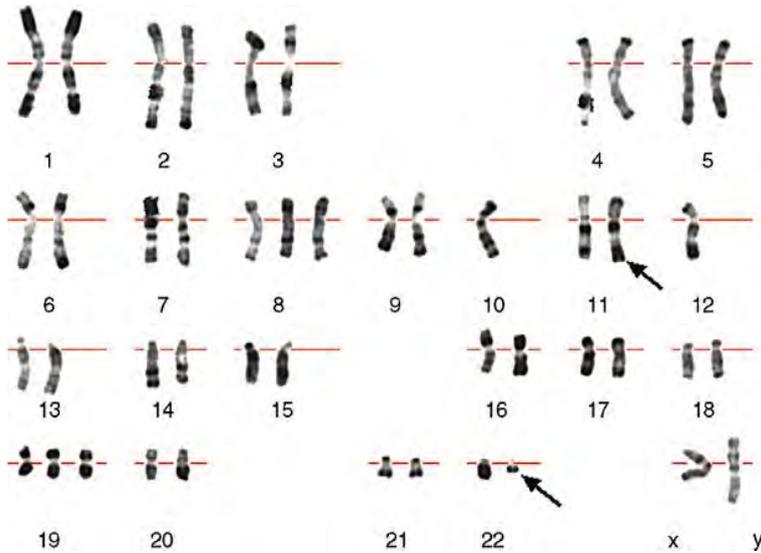


Fig. 3-80 Caryotype d'un sarcome d'Ewing. Présence d'une translocation 11;22 (flèches).

### Technique cytogénétique

Les techniques cytogénétiques regroupent l'analyse caryotypique classique et l'hybridation *in situ*. Elles ont pour but l'identification des anomalies chromosomiques caractéristiques de certains types tumoraux.

### Analyse caryotypique

Cette étude consiste à partir d'un fragment tumoral ou produit de cytoponction, placé de manière stérile dans un milieu de culture cellulaire (RPMI), à établir un caryotype afin de mettre en évidence une anomalie chromosomique spécifique (délétion ou translocation) (fig. 3-80). Cette technique peut aider au typage de certains cancers et lymphomes (tableau 3-35).

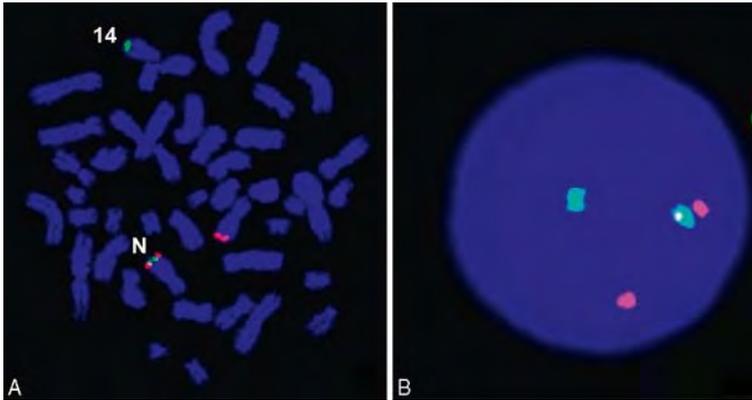
La notation t(8;14) signifie qu'il y a une translocation entre le chromosome 8 et 14. La notation t(8;14)(q;q) indique que la translocation entre le chromosome 8 et 14 a concerné les bras longs de deux chromosomes. Lorsque c'est le bras court qui est concerné, on le représente par la lettre p. Les numéros (q24;q32) précisent les bandes chromosomiques dans lesquelles sont survenus les points de cassure.

### Hybridation *in situ*

L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH : hybridation *in situ* en fluorescence) ou chromogénique

Tableau 3-35 Exemples de translocations chromosomiques caractéristiques de certaines tumeurs malignes.

Type tumoral	Anomalie chromosomique
Leucémie aiguë lymphoïde (LAL)	t(4;11)(q21;q23)
Leucémie myéloïde aiguë (LMA)	t(8;21)(q22;q22)
Leucémie myéloïde chronique (LMC)	t(9;22)(q34;q11)
Lymphome de Burkitt	t(8;14)(q24;q32) t(8;22)(q24;q11) t(2;8)(p12;q24)
Lymphome de la zone marginale	t(11;18)(q21;q21)
Lymphome du manteau	t(11;14)(q13;q32)
Lymphome folliculaire	t(14;18)(q32;q21)
Lymphome T anaplasique à grandes cellules	t(2;5)(p23;q35)
Carcinome folliculaire de la thyroïde	t(2;3)(q13;p25)
Carcinome papillaire de la thyroïde	t(10;17)(q11;q23)
Carcinome papillaire du rein	t(X;1)(p11;q21)
Chondrosarcome myxoïde	t(9;17)(q22;q11)
Fibrosarcome infantile	t(12;15)(p13;q25)
Liposarcome myxoïde	t(12;16)(q13;p11)
Rhabdomyosarcome alvéolaire	t(2;13)(q35;q14) t(1;13)(p36;q14)
Sarcome à cellules claires	t(12;22)(q13;q12)
Sarcome alvéolaire des parties molles	t(X;17)(p11;q25)
Synoviosarcome	t(X;18)(p11;q11)
Tumeur desmoplastique à petites cellules rondes	t(11;22)(p13;q12)
Tumeur d'Ewing/PNET	t(11;22)(q24;q12) t(21;22)(q22;q12)



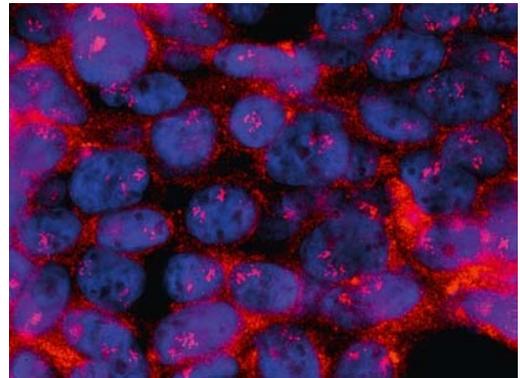
**Fig. 3-81** FISH avec sonde bicolore de la région du gène MYC dans un lymphome de Burkitt.

a. Sur chromosome. N = MYC normal. Le signal vert distal de la sonde MYC de l'un des chromosomes 8 est transloqué sur un chromosome 14.

b. Sur noyau interphasique. Le clivage de l'un des signaux bicolores témoigne de la translocation de MYC.

(CICH : hybridation *in situ* avec chromogène) est une technique de cytogénétique moléculaire qui permet de détecter dans les chromosomes ou les noyaux des translocations, des amplifications ou des délétions de segments de chromosomes (fig. 3-81) sous réserve de leur taille suffisante (il est impossible de déceler les délétions intragéniques ou les mutations ponctuelles). Cette technique permet de mettre en évidence des séquences d'ADN (et d'ARN, en recherche) grâce à des sondes d'acides nucléiques complémentaires et couplées à un fluorochrome (FISH) ou à une enzyme (CICH). Elle est basée sur les propriétés d'appariements spécifiques de l'ADN. Les sondes marquées dénaturées viennent se fixer sur les régions complémentaires de l'ADN tissulaire qui a été préalablement ouvert (dénaturation : cf. encadré ci-dessous). Les signaux sont observables au microscope en fluorescence pour la FISH (fig. 3-82) ou en lumière ordinaire pour la CICH.

**À noter :** la dénaturation de l'ADN est un processus qui consiste à séparer les deux brins complémentaires d'une molécule d'ADN en l'exposant à une température élevée. C'est la rupture des liaisons hydrogènes entre les bases qui provoque cette séparation.



**Fig. 3-82** FISH HER-2. Présence de 15 signaux HER-2 en amas dans les noyaux : amplification du gène.

### Technique de biologie moléculaire

La biologie moléculaire est l'étude des molécules porteuses du message héréditaire ADN et ARN, de leur structure, synthèse, altérations, mutations ou transformations. Les techniques de biologie moléculaire permettent de préciser, confirmer ou exclure un diagnostic, suivre l'évolution de la maladie, prédire et évaluer la réponse au traitement ou diagnostiquer une prédisposition héréditaire à développer un cancer.

La PCR (*polymerase chain reaction*) est une technique qui permet de recopier de manière

exponentielle un fragment d'ADN grâce à l'utilisation d'une enzyme (polymérase). Cette technique permet de détecter dans certaines tumeurs une translocation chromosomique spécifique. On recherche, en fait, à partir de l'ARN tumoral, les transcrits de fusion spécifiques, conséquences des translocations. On fait appel pour cela à la RT-PCR (polymérisation en chaîne après transcription inverse) quantitative en temps réel. Après un choix adéquat des amorces oligonucléotidiques, le fragment de la région du remaniement sur les deux chromosomes impliqués s'amplifie en cas de présence de la translocation spécifique dans la tumeur.

### Gènes associés aux pathologies cancéreuses (trois grandes catégories)

#### Oncogènes

Également appelés *proto-oncogènes*, ils sont les régulateurs positifs de la prolifération cellulaire. Ils contribuent à transformer une cellule normale en une cellule cancéreuse. Une mutation au sein d'une seule des deux copies du proto-oncogène est nécessaire pour entraîner la production d'une protéine hyperactive qui stimule continuellement la prolifération cellulaire.

#### Gènes suppresseurs de tumeurs

Ils sont les gardiens de l'intégrité du génome et des régulateurs négatifs (les freins) de la prolifération cellulaire. Ils peuvent déclencher la mort d'une cellule trop endommagée et éviter ainsi qu'elle ne se développe de manière anarchique. Ils sont inactivés dans les cellules cancéreuses, ce qui permet à la cellule de proliférer malgré la présence d'erreur génétique. Pour qu'ils soient hors d'usage, il faut que les deux copies du gène soient inactivées. Parmi ces garants du bon fonctionnement cellulaire, on trouve les gènes TP53, BRCA1, BRCA2, RB.

#### Gènes de réparation de l'ADN

Ils correspondent aux gènes des multiples systèmes de réparation qui sont capables de détecter et de réparer les lésions de l'ADN qui ont modifié les

oncogènes ou les gènes suppresseurs de tumeur. Ces systèmes de réparation sont également inactivés dans les cellules cancéreuses.

#### Gènes de prédisposition au cancer

La mutation des gènes BRCA1 et BRCA2 (*breast cancer* ou cancer du sein) sont les principaux gènes de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire. Devant le caractère imprévisible du cancer ovarien, une ovariectomie prophylactique (bilatérale) peut être proposée aux femmes porteuses d'anomalies de ces gènes.

#### Typage des virus

La prolifération anarchique incontrôlée de certaines protéines virales de type HPV dit à haut risque (HPV 16, 18) est associée au cancer du col de l'utérus. La détection du virus d'Épstein-Barr (EBV) est utile dans quelques cas rares de pathologie tumorale (carcinome indifférencié du nasopharynx : UCNT).

#### Oncogènes impliqués dans des tumeurs :

- CCND1 : translocation avec le gène des chaînes lourdes des immunoglobulines dans les lymphomes du manteau ;
- EGFR : surexpression ou mutation activatrice dans les carcinomes ;
- HER-2 : amplification dans certains carcinomes mammaires et ovariens ;
- KIT : mutation activatrice dans les tumeurs stromales digestives (GIST) ;
- KRAS : mutation activatrice dans les cancers colorectaux, pancréatiques, ovariens, vésicaux, thyroïdiens, les adénocarcinomes pulmonaires ;
- MYC : translocation avec les gènes des chaînes des immunoglobulines dans les lymphomes de Burkitt ;
- N-MYC : amplification dans certains neuroblastomes.

#### Anti-oncogènes :

- RB : rétinoblastomes ;
- TP53 : gène le plus souvent impliqué avec des mutations somatiques dans de très nombreux cancers ;
- WT1 : néphroblastomes (tumeur de Wilms).

### Technique utilisée pour l'évaluation d'un marqueur tumoral

Les altérations génétiques observées au cours de la transformation maligne sont extrêmement variées et souvent nombreuses, délétions et réarrangements chromosomiques, amplifications géniques, pertes de chromosomes entiers, mutations ponctuelles. L'étude de gènes impliqués dans les cancers peut être effectuée sur l'ADN de la cellule tumorale, mais également sur l'ARN – premier produit du gène – et enfin la protéine – produit fini du gène (tableau 3-36).

**Tableau 3-36** Techniques spécifiques en fonction du matériel.

	FISH	Immunochimie	RT-PCR
Anomalie détectée	Amplification Translocation	Surexpression protéique	Transcrit de fusion
Fragment tissulaire congelé ou frais	Oui	IHC	Oui
Produit de ponction congelé ou frais	Oui	ICC	Oui
Bloc d'inclusion	Oui	IHC	Non <sup>(1)</sup>
Coupe tissulaire	Oui	IHC	Non <sup>(1)</sup>

(1) Parfois possible dans des conditions rigoureuses de fixations.

# Chapitre 4

## Actes médicaux

### Préambule

---

L'anatomo-cytopathologie regroupe des examens très variés et aux très nombreuses applications pratiques. Elle est importante dans le dépistage des cancers (gynécologiques, du sein, de la peau [mélanome], du poumon, de la prostate, colorectaux...) et indispensable dans le cadre du suivi de la maladie afin d'apprécier l'effet d'un traitement en cours, de diagnostiquer une éventuelle récurrence, voire l'apparition d'un nouveau cancer. Le dépistage est une démarche qui vise à détecter, au plus tôt, en l'absence de symptômes, des lésions susceptibles d'être cancéreuses ou d'évoluer vers un cancer. Le frottis cervico-utérin est la méthode de référence du dépistage du cancer du col de l'utérus.

Les examens initiaux sont indispensables pour déterminer la nature bénigne ou maligne d'une lésion. Les techniques de prélèvements sont nombreuses et le choix de la technique est fonction du type de la lésion à ponctionner et/ou à biopsier, et de sa meilleure visibilité et accessibilité (à la palpation ou en imagerie médicale). Les prélèvements sont réalisés par des médecins spécialistes en consultation, dans les hôpitaux de jour (en ambulatoire), dans le service d'imagerie médicale (sous échographie, mammographie, scannographie ou tomodesitométrie), au lit du patient ou au bloc opératoire. Le conditionnement, l'acheminement et la prise en charge des prélèvements cytologiques ou histologiques sont fondamentaux surtout en cancérologie. Ils constituent un prologue dont dépend la qualité et la pertinence des étapes successives conduisant au diagnostic anatomo-cytopathologique de bénignité ou de malignité orientant l'attitude décisionnelle : surveillance ou indication thérapeutique dans ses différentes modalités (*cf.* p. 141).

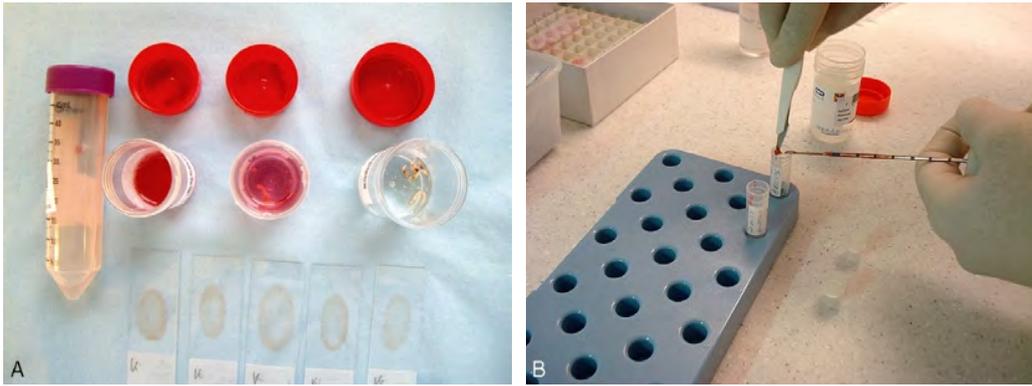
Dans certains services ou cabinets de pathologie, le (la) technicien(ne) de laboratoire réceptionne et enregistre les prélèvements. Il (elle) peut aider le pathologiste pour la macroscopie : examens extemporanés (à l'antenne du bloc opératoire), prise en charge de certaines pièces d'exérèse chirurgicale fixées (sous la responsabilité du pathologiste). Le (la) technicien(ne) de laboratoire peut être également sollicité(e) pour assister le médecin au moment des prélèvements (cytoponctions et/ou biopsies) en consultation (*fig. 4-1a et b*). Pour comprendre les informations cliniques et/ou les indications médicales, il est nécessaire de connaître les termes d'imagerie médicale, des actes chirurgicaux et médicaux les plus couramment utilisés. Quant aux aspects cliniques, macroscopiques et radiologiques utiles à la compréhension du langage médical, ils sont décrits dans le glossaire (*cf.* p. 161).

### Prélèvement cytologique

---

Les prélèvements cytologiques sont réalisés par des médecins spécialistes, toutefois, les prélèvements gynécologiques peuvent être réalisés par des cytotechnicien(ne)s diplômé(e)s et habilité(e)s.

Il existe plusieurs méthodes et techniques permettant de recueillir des cellules. Les conditions de l'étude cytologique dépendent de la qualité des techniques de prélèvement, et un bon prélèvement conditionne la qualité du diagnostic. Selon la nature du prélèvement et l'étude envisagée (diagnostic et/ou examens complémentaires), le matériel obtenu peut être étalé et/ou placé dans des solutions de conservation spécifique. Les liquides physiologiques sont placés dans des tubes (ou flacons) stériles adaptés ; par exemple, en tube sec pour les liquides (céphalorachidien, pleuraux,



**Fig. 4-1** Prélèvements cytologiques et histologiques pour le diagnostic.

a. Étalement pour analyse cytologique et fragments tissulaires placés dans un fixateur formolé (transparent) pour analyse histologique et dans des milieux de culture (rose) pour études cytogénétique et de biologie moléculaire.

b. Fragments tissulaires placés en tubes secs pour cryoconservation.

péritonéaux) ou les urines, et en tube hépariné pour les liquides kystiques. Le matériel cytologique est précieux, le produit d'une cytoponction ou d'un liquide est parfois peu cellulaire.

## Cytologie gynécologique

Après avoir exposé le col utérin à l'aide d'un spéculum, le frottis cervico-utérin ou le frottis vaginal est réalisé (en dehors de la période des règles) à l'aide d'un dispositif de prélèvement (cytobrosse, spatule) au niveau de l'endocol, de l'exocol et/ou du vagin. Une aspiration endométriale (ou endo-utérine), visant à recueillir des cellules au niveau de l'endomètre, peut être réalisée à l'aide d'une sonde.

## Ponction

Une ponction est un geste médical qui consiste à introduire une aiguille dans une lésion solide ou liquide dans lequel se trouvent des cellules caractéristiques. Ce prélèvement se fait dans une tumeur primitive ou dans un tissu secondairement envahi par des métastases.

La ponction lombaire (PL) est un examen qui permet de prélever quelques microlitres de liquide céphalorachidien (LCR) à l'aide d'une longue aiguille fine introduite dans le bas du dos entre les deux apophyses épineuses des dernières vertèbres lombaires.

La ponction pleurale permet de prélever du liquide situé entre les deux feuillets de la plèvre à l'aide d'une aiguille introduite en transpariétale.

La ponction péritonéale (ou d'ascite) permet de prélever à l'aide d'une aiguille du liquide situé dans la cavité abdominale. Une ponction péritonéale est généralement réalisée au cours d'une intervention chirurgicale (abdominale) ou d'une laparotomie exploratrice, tandis qu'une ponction d'ascite (liquide pathologique) est faite dans le cadre d'un suivi de la maladie, le plus souvent au niveau de la fosse iliaque gauche à mi-distance entre l'épine iliaque antéro-supérieure gauche et l'ombilic.

Une ponction évacuatrice peut être réalisée à l'aide d'un drainage pour les épanchements abondants (allant de quelques centilitres à plusieurs litres) afin de soulager le patient d'une gêne respiratoire (liquide pleural) ou de douleurs abdominales (ascite), par exemple.

Les échantillons de moelle osseuse (myélogrammes) sont prélevés au niveau du sternum chez l'adulte, des épines iliaques antérieure et postérieure chez l'enfant et des tibias chez le nourrisson, à l'aide d'un trocart monté d'une seringue.

## Cytopathologie clinique

Une cytoponction est une technique simple et rapide de prélèvement (sans anesthésie systématique) réalisée après désinfection

cutanée avec une aiguille fine, le plus souvent de 0,6 mm de diamètre (23 gauges ou G) avec ou sans aspiration selon que la lésion est palpable (fig. 4-2) ou non (fig. 4-3). Le produit de cytoponction obtenu est délicatement projeté à l'aide d'une seringue sur des lames à raison d'une goutte par lame (fig. 4-4a), jusqu'à son épuisement puis étalé (fig. 4-4b). Si du liquide est recueilli (fig. 4-5), celui-ci est placé dans un tube hépariné.

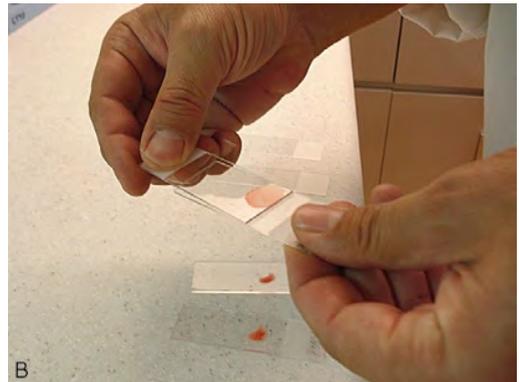
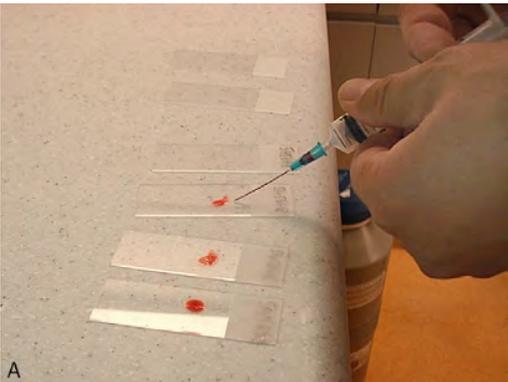
Pour une cytoponction palpable, la lésion est immobilisée entre deux doigts, l'aiguille est introduite rapidement dans sa partie centrale par le plan cutané. Un mouvement régulier et multidirectionnel de va-et-vient dans la zone de résistance tissulaire est effectué afin que les cellules montent



**Fig. 4-2** Cytoponction d'une masse inguinale.



**Fig. 4-3** Cytoponction échoguidée au bloc opératoire d'une masse intra-abdominale.



**Fig. 4-4** Produit de cytoponction.

- Produit projeté sur lame à l'aide d'une seringue.
- Étalement manuel du produit.



**Fig. 4-5** Cytoponction d'un kyste synovial.

Pour une cytoponction d'une lésion non palpable ou profonde, la trajectoire de l'aiguille est soit guidée sous repérage échographique (fig. 4-6) soit orientée sous repérage scannographique (fig. 4-7). La cytoponction est effectuée à l'aide d'une aiguille montée par un mouvement de va-et-vient et de rotation, et de manière multidirectionnelle pour certaines lésions (mammaires, ganglionnaires) prélevées sous échographie. Dès que la sérosité apparaît dans l'embout de l'aiguille, le piston de la seringue est relâché. Sous contrôle échographique,



**Fig. 4-6** Cytoponction sous repérage échographique d'une lésion mammaire.

La trajectoire de l'aiguille est guidée par une sonde et visualisée en temps réel sur l'écran de l'échographe.

les ponctions intéressent principalement les lésions mammaires infracliniques ou non palpables d'image échographique nette, ainsi que la thyroïde. Sous repérage scannographique, elles visent plus particulièrement à recueillir du matériel provenant d'organe comme le foie, le pancréas, les poumons, les reins, les surrénales et les adénopathies lombo-aortiques et médiastinales.

## Cytologie pulmonaire

L'aspiration et le brossage bronchiques sont des prélèvements dirigés sous fibroscopie visant à recueillir au niveau d'un flacon piège (contenant du sérum physiologique) des cellules superficielles de la muqueuse bronchique.

Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) est réalisé sous bronchoscopie pour analyser des lésions périphériques alvéolaires du poumon. Une solution isotonique est instillée puis récoltée pour rechercher la présence de cellules tumorales ou d'agents pathogènes, en particulier le germe responsable de la pneumocystose (*Pneumocystis carinii*).

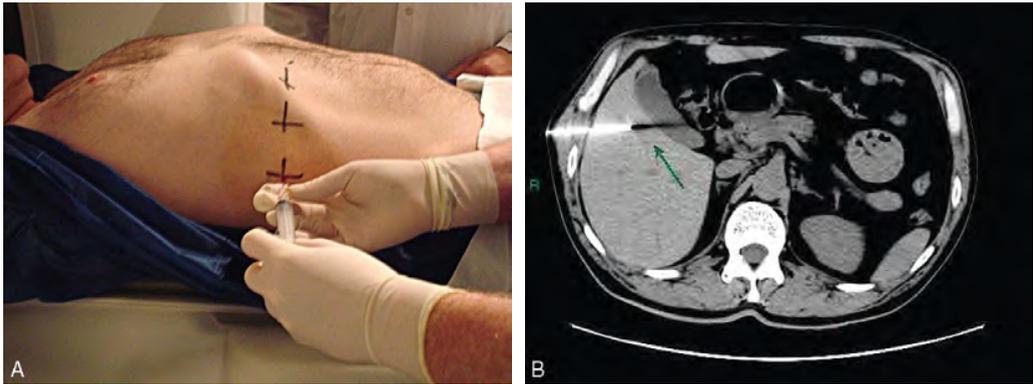
## Cytologie urinaire

Les urines sont recueillies (dans un flacon stérile) par miction spontanée (fait d'uriner) ou par sondage sous cystoscopie.

## Autres prélèvements

Le grattage s'effectue après ablation des croûtes de la lésion à l'aide d'un vaccinostyle (petit instrument en forme de plume affûtée sur ses deux côtés) ou d'un scalpel, par empreinte de la lésion ou par scarification – grattage et étalement du produit de grattage. Le grattage mamelonnaire est réalisé pour rechercher une maladie de Paget – forme particulière du cancer du sein (fig. 4-8).

L'examen d'un écoulement mamelonnaire vise à recueillir le produit de sécrétion spontané ou provoqué (obtenu par un massage délicat centripète du sein) qui est étalé sur lame.



**Fig. 4-7** Cytoponction sous repérage scannographique d'une lésion hépatique.

a. Cytoponction de la lésion avec une longue et fine aiguille montée d'une seringue.

b. Coupe scannographique. Contrôle du bon positionnement de la pointe de l'aiguille dans la lésion hépatique (flèche).



**Fig. 4-8** Grattage mamelonnaire à l'aide d'un scalpel (maladie de Paget du mamelon).

## Biopsie

La biopsie est un prélèvement d'un échantillon tissulaire que le médecin «préleveur» estime représentatif de l'ensemble de la lésion. Il existe deux sortes de biopsies. Les biopsies simples ont pour but de prélever un fragment tissulaire sous forme de cylindre ou «carotte» généralement de petite taille (quelques millimètres à quelques centimètres de long) et de diamètre varié (cf. fig. 3-24a et b). Une biopsie présente l'avantage d'établir un diagnostic histopathologique dans le cas d'une tumeur trop étendue ou inextirpable, de dispenser l'examen extemporané

au moment de son exérèse chirurgicale, ou de pouvoir traiter un cancer qui est mieux soigné par la chimiothérapie comme les lymphomes. Les biopsies-exérèses (généralement réalisées au bistouri) ont pour but d'enlever la lésion (cf. fig. 3-12) ou éventuellement la tumeur dans sa totalité avec une collerette minimale du tissu avoisinant (petite tumeur cutanée, polype). La valeur des biopsies repose sur leur taille, leur nombre, le choix de la zone biopsiée, la bonne préservation des tissus, le repérage topographique des biopsies multiples dans des flacons différents et répertoriés. Les microbiopsies doivent être manipulées avec précaution en évitant toute fragmentation et être fixées immédiatement après leur réalisation (cf. fig. 3-4b) pour éviter les artefacts liés au dessèchement tissulaire.

## Matériel de prélèvement

On parle de microbiopsies pour les prélèvements effectués avec des aiguilles de calibre intermédiaire entre 14 et 18 gauges (G). Ces aiguilles permettent d'obtenir de fins cylindres de tissu. Chaque prélèvement nécessite le retrait de l'aiguille et sa réintroduction dans la lésion pour effectuer des prélèvements successifs. Les microbiopsies sont réalisées avec un instrument automatique (nommé pistolet) muni d'un emporte-pièce (fig. 4-9). Les carottes tissulaires mesurent généralement entre



**Fig. 4-9** Microbiopsie percutanée (après anesthésie locale) d'une tumeur mammaire avec un pistolet automatique.

10 et 20 mm de longueur et entre 1 à 2 mm de diamètre (cf. fig. 3-4c).

Les macrobiopsies se définissent comme des prélèvements assistés par le vide (aspiration) à l'aide d'aiguilles de plus grand calibre entre 8 et 11 G. Ces aiguilles permettent par une seule introduction dans une région anatomique (glande mammaire) l'obtention de plusieurs prélèvements de la zone visée (cf. fig. 3-24b). La macrobiopsie par aspiration permet un prélèvement volumétrique, guidé en temps réel, de lésions le plus souvent infracliniques. Ce type d'aiguille est adapté aux prélèvements percutanés des foyers de microcalcifications, nécessitant un échantillonnage plus large à cause de leur hétérogénéité histologique.



**Fig. 4-10** Punch biopsie d'un nodule sur cicatrice de mastectomie (amputation du sein).

Un punch biopsie est un prélèvement effectué (au niveau d'une lésion cutanée) avec un instrument mécanique muni d'un emporte-pièce cylindrique (fig. 4-10) qui ramène un échantillon tissulaire variant entre 2 et 6 mm. Un prélèvement au Trucut est un prélèvement réalisé avec un petit trocart (instrument en forme de poinçon cylindrique).

## Mode de guidage

Les biopsies sont généralement réalisées sous anesthésie locale ou générale légère à l'aide d'une aiguille coupante, d'une curette, d'une pince ou d'un pistolet automatique (cf. fig. 4.9). Pour les lésions percutanées, une incision minimale de quelques millimètres au scalpel est réalisée au niveau de la peau pour permettre l'introduction de l'aiguille jusqu'à la lésion. Les biopsies sont généralement effectuées par des médecins spécialistes (dermatologue, pathologiste) pour les lésions palpables, par des radiologues pour les lésions non palpables (échoguidées, sous stéréotaxie ou sous scanner), et par des médecins spécialistes (chirurgien, gynécologue, pneumologue) au cours d'intervention chirurgicale ou d'exploration par voie endoscopique ou fibroscopique.

## Biopsie radioguidée

Le mode de guidage est choisi selon le site de la lésion et le type d'anomalie. La précision des prélèvements est de l'ordre du millimètre. Le geste peut être réalisé sous repérage échographique, la progression de l'aiguille est attentivement surveillée sur l'écran de l'échographe jusqu'à l'anomalie. Le dispositif de prélèvement est équipé d'un ressort qui permet à l'aiguille de détacher un fragment de tissu d'un mouvement rapide. Sous repérage scanographique, la cible et le bon positionnement de l'aiguille sont visualisés sur un écran informatique. La technique est identique à celle pratiquée sous échographie. Sous repérage stéréotaxique, l'aiguille est introduite à une profondeur calculée par ordinateur jusqu'à l'anomalie et les prélèvements sont aspirés à l'intérieur de celle-ci.

Les lésions mammaires bénéficient, en plus des techniques de prélèvements sous contrôle échographique, de procédures par Mammotome®

(nom commercial donné à un dispositif de prélèvement guidé par stéréotaxie sur une table dédiée numérisée). Ce mode de prélèvement biopsique, réalisé en ambulatoire, est effectué principalement pour des lésions infracliniques ou anomalies mammographiques (microcalcifications), et constitue des alternatives à la biopsie-exérèse chirurgicale. Les prélèvements (macrobiopsies) sont réalisés au niveau du sein à l'aide d'une aiguille creuse à usage unique munie d'un couteau cylindrique rotatif, l'aspiration est faite par dépression (fig. 4-11a). Cette aiguille est appelée sonde de macrobiopsie ou sonde de Mammotome®. La sonde est commandée par un système informatisé qui dirige dans l'espace. Cette méthode permet de réaliser des prélèvements multiples en barillet ramenant des carottes tissulaires (cf. fig. 3.24b) ou de retirer une zone d'environ 10 mm de large et de 15 à 20 mm de long (fig. 4-11b). Lorsque l'anomalie est constituée de microcalcifications, les prélèvements peuvent être radiographiés pour confirmer leur présence dans les échantillons tissulaires.

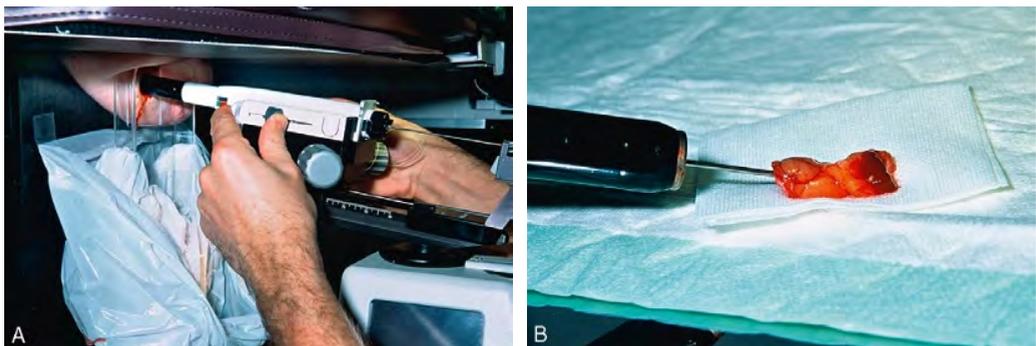
### Biopsie par voie endoscopique ou fibroscopique

L'endoscopie est une méthode utilisée pour explorer, par la vue et à l'aide d'un endoscope (appareil optique composé de tubes rigides et muni d'un dispositif d'éclairage), les tumeurs profondes d'un organe creux ou situées autour d'une cavité interne. La fibroscopie est une sorte d'endoscopie

réalisée avec un fibroscope (petit tube souple formé de fibres optiques flexibles) qui permet de visualiser l'intérieur des cavités. En fonction du siège anatomique de la lésion, les biopsies peuvent être réalisées sous bronchoscopie (bronches), coelioscopie (cavité abdominale), coloscopie (côlon, gros intestin), coloscopie (col utérin), cystoscopie (vessie), fibroscopie (larynx, trachée, bronches), gastroscopie (estomac), hystérescopie (cavité du corps utérin), laparoscopie (cavité abdominale), laryngoscopie (larynx), œsophagoscopie (voies digestives), rectoscopie (rectum).

## Imagerie médicale

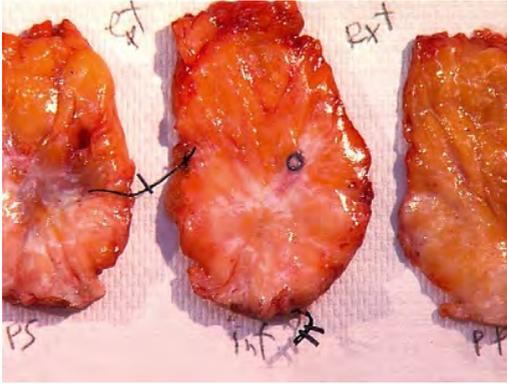
Les examens radiologiques sont indispensables pour bien situer la tumeur, ses limites et sa taille, et vérifier si elle s'est propagée à d'autres parties du corps, afin d'effectuer des prélèvements ciblés à la palpation ou radioguidés. Dans certains cas, l'imagerie médicale permet le repérage peropératoire afin d'optimiser la précision du geste opératoire, en plaçant un petit repère métallique (clip, hameçon) au centre de la zone à prélever (fig. 4-12), pour en faciliter l'exérèse totale tout en épargnant le maximum de tissu sain. Un contrôle radiologique de la pièce chirurgicale orientée à l'aide de fils est effectué pour s'assurer que l'ensemble de la lésion est dans la pièce d'exérèse (cf. fig. 3-27b). En anatomopathologie, l'imagerie médicale est parfois nécessaire pour rechercher et/ou mettre



**Fig. 4-11** Prélèvement sous Mammotome® d'une lésion mammaire.

a. Dispositif de prélèvement.

b. Échantillon tissulaire d'une lésion mammaire prélevé avec une sonde de Mammotome®.



**Fig. 4-12** Tumorectomie du sein.

La pose de clip (visible au milieu de la pièce chirurgicale ouverte) indique la zone à prélever.

en évidence dans des fragments tissulaires placés en cassettes (fixés et inclus en paraffine) la présence de microcalcifications d'une lésion mammaire, par exemple (cf. fig. 3-27c).

La **mammographie** est l'examen de référence pour l'exploration du sein qui utilise les rayons X en très faible quantité et qui permet d'obtenir des images de sa structure interne. Elle permet de dépister des tumeurs de quelques millimètres. La mammographie précise l'aspect, la taille et la localisation exacte de la lésion ou de l'anomalie. Les images sont classées en fonction du degré de suspicion de leur caractère pathologique selon la classification ACR – *American College of radiology* (tableau 4-1).

L'**échographie** est une méthode qui permet d'explorer à l'aide d'une sonde (externe ou intracavitaire) de haute fréquence un organe ou une région du corps au moyen d'ultrasons (foie, surrénale, sein, thyroïde, ganglion). Les images obtenues sont observables sur un écran vidéo. Lorsqu'une anomalie est bien visible et accessible, elle permet de guider en temps réel la trajectoire de l'aiguille afin d'effectuer des prélèvements (cf. fig. 4-6).

La **stéréotaxie** est une technique en trois dimensions qui apporte des informations précises pour localiser une lésion de petite taille. Elle est utilisée en neurochirurgie et pour les lésions mammaires. L'appareil de stéréotaxie couplé au mammographe permet, outre la réalisation de ponction et/ou

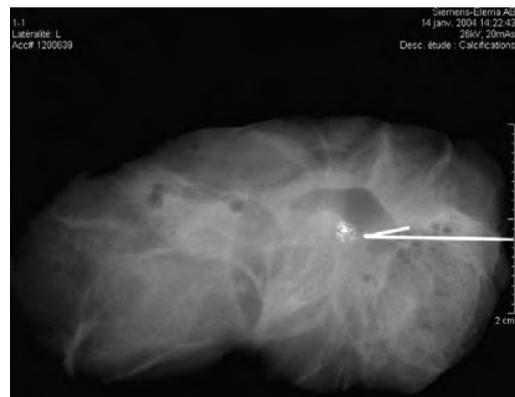
**Tableau 4-1** Classification ACR.

<b>ACR 0</b>	Classification « d'attente » utilisée avant que le bilan d'imagerie soit complété
<b>ACR 1</b>	Mammographie normale
<b>ACR 2</b>	Bénin
<b>ACR 3</b>	Probablement bénin
<b>ACR 4 a</b>	Indéterminé plutôt bénin
<b>ACR 4 b</b>	Indéterminé
<b>ACR 4 c</b>	Indéterminé plutôt suspect
<b>ACR 5</b>	Suspect (évoque d'un cancer)
<b>ACR 6</b>	Malin (confirmé par un diagnostic histologique)

biopsie d'une lésion avec une précision millimétrique, d'effectuer des repérages peropératoires. Le but du repérage est de placer dans la zone « anormale » un ou plusieurs fils métalliques en forme de harpon ou d'hameçon qui aident le chirurgien à localiser la lésion à exciser (fig. 4-13).

La **scintigraphie** est une technique particulièrement utilisée pour étudier les lésions thyroïdiennes et osseuses grâce à l'injection d'un produit faiblement radioactif (marqueur isotopique) qui se fixe électivement sur un tissu particulier.

Le **scanner** utilise le principe des rayons X couplés à un ordinateur pour analyser les divers plans de l'organisme en effectuant des « coupes » anatomiques de 1 à 10 mm d'épaisseur. Afin d'augmenter le contraste, l'examen scannographique



**Fig. 4-13** Radiographie d'une pose d'hameçon avant l'intervention chirurgicale pour microcalcifications du sein.

est souvent précédé d'une injection d'iode. Le scanner permet de déceler la présence de tumeurs dans les organes avec la possibilité d'en déterminer la taille mais aussi la forme (image tridimensionnelle). Le scanner est très utilisé dans la surveillance de la plupart des cancers. Lorsqu'une lésion suspecte est accessible, il permet d'orienter l'aiguille jusqu'à la cible afin d'effectuer des prélèvements (cf. fig. 4-7a et b).

L'**IRM (imagerie par résonance magnétique)** est une étude multiplanaire qui fournit des images de grande qualité des différents constituants de l'organisme. Cette technique n'utilise pas de rayons X mais une onde radio (identique à celle utilisée dans un téléphone mobile) qui fait vibrer (résonner) les molécules d'eau contenues dans le corps. Le terme de magnétique signifie qu'un aimant est utilisé pour la création des images. L'IRM joue un rôle important en pathologie tumorale pour la détection des tumeurs cérébrales (primitives ou secondaires), les tumeurs osseuses et de la moelle épinière, et le bilan d'extension locorégionale des tumeurs. Les prélèvements sous IRM sont limités car ils nécessitent du matériel médical compatible avec les hauts champs magnétiques (matériel aimanté).

La **TEP-SCAN (tomographie à émission de positions)** ou **PET-SCAN** (en anglais) est un appareil qui permet de visualiser l'activité des cellules. Cet examen est principalement utilisé en oncologie pour poser un diagnostic et évaluer l'efficacité des traitements. La TEP peut détecter les cellules tumorales à l'aide d'un traceur radioactif, le glucose marqué au fluor. La combinaison des deux techniques (scanner multicoupes + TEP) donne des résultats d'une précision inégalée.

## Traitement

Le traitement du cancer requiert plusieurs armes thérapeutiques. Il existe beaucoup de cancers guéris par la chirurgie (80 %), mais bien souvent il faut y associer la chimiothérapie et/ou radiothérapie. Chaque cas étant différent, il nécessite «son» traitement approprié. En général, il s'agit d'un traitement standard conventionnel ou d'un

traitement dans le cadre de protocole d'étude (essai clinique).

## Chirurgie carcinologique

La chirurgie représente la base du traitement de la majorité des cancers curables et nécessite le recours à plusieurs spécialités. Chaque intervention chirurgicale porte un nom bien spécifique qu'il est utile de connaître (cf. p. 159). La chirurgie à visée curative peut intervenir à la suite du diagnostic (établi sur une biopsie) après un traitement (chimiothérapie ou radiothérapie) visant à diminuer le volume de la tumeur à extraire ou pour la résection d'une métastase. Dans certains cas, la tumeur s'étant trop propagée, l'opération ne vise qu'à améliorer le confort du malade. Dans le cadre d'un traitement locorégional, l'acte chirurgical se limite souvent à une chirurgie conservatrice (exérèse, tumorectomie) enlevant la tumeur ainsi qu'une partie significative du tissu environnant, et conservant l'organe. Parfois, une ablation de l'organe (amputation) est indispensable. Cette chirurgie est mutilante selon l'organe atteint. Il peut être nécessaire d'y associer l'ablation des ganglions satellites si la tumeur est lymphophile. Afin d'évaluer l'extension ganglionnaire, le prélèvement du ganglion sentinelle peut être effectué dans le but d'éviter un curage ganglionnaire extensif (exérèse monobloc de la graisse contenant les ganglions lymphatiques). Cette méthode est très utilisée dans les cancers du sein (pour les tumeurs unifocales de petite taille  $\leq 15$  mm), le cancer de la peau (en particulier le mélanome), mais aussi pour les cancers de la cavité buccale, de l'oropharynx, du col utérin, du canal anal, du côlon. Concrètement, cette technique consiste à injecter avant l'opération une solution colorée inerte (bleu de patenté) ou une solution marquée avec un isotope radioactif au niveau d'une tumeur qui n'a pas été traitée au préalable. Le produit suit le trajet lymphatique qui part de la tumeur pour aller colorer le premier relais ganglionnaire qui la draine (c'est le ganglion sentinelle). Les ganglions sentinelles qui ainsi désignés sont retirés (fig. 4-14a) et examinés extemporanément (fig. 4-14b) par un pathologiste (idéalement, le ganglion sentinelle



**Fig. 4-14** Macroscopie d'un ganglion sentinelle (état frais).

a. Exérèse d'un ganglion sentinelle et du vaisseau lymphatique colorés en bleu.

b. Dissection minutieuse du ganglion sentinelle en vue d'un examen extemporané.

doit être chaud et coloré en bleu). Lorsqu'ils sont indemnes, cela évite un curage ganglionnaire.

La chirurgie réparatrice est souvent nécessaire en cas de chirurgie délabrante (œsophage, rectum, sein). Le but est de maintenir une fonction (création d'un réservoir après l'ablation d'une vessie, rétablissement de la continuité digestive) ou de diminuer les séquelles d'une chirurgie mutilante (reconstruction mammaire ou de la sphère ORL, pose d'une prothèse). Elle peut être réalisée dans le même temps que l'opération ou secondairement de façon différée.

La chirurgie «*second look*» est une chirurgie de réévaluation post-thérapeutique qui consiste à vérifier l'effet du traitement sur le cancer ou à en évaluer son extension.

La chirurgie prophylactique peut être employée pour les patients porteurs de lésions dont le risque d'évolution vers un cancer est important (dysplasie [CIN II, CIN III], polypes intestinaux) et pour les personnes présentant une mutation génétique avérée ou une histoire familiale évocatrice de prédisposition génétique (polypose colique, cancers du sein ou des ovaires).

## Chimiothérapie

La chimiothérapie est un traitement qui consiste à utiliser des substances chimiques cytotoxiques qui détruisent préférentiellement les cellules cancéreuses afin de soigner la maladie ou d'enrayer sa

progression. Elle participe également à la réduction du risque de récurrence. Ces médicaments extraits de végétaux ou produits en laboratoire par synthèse peuvent être administrés par perfusions (voie intraveineuse) ou parfois sous forme de comprimés. La chimiothérapie néo-adjuvante (ou première) est utilisée avant un traitement locorégional afin de réduire la taille de la tumeur et d'éliminer d'éventuelles cellules cancéreuses disséminées dans le corps (métastases). La chimiothérapie adjuvante est utilisée en complément d'un traitement locorégional (chirurgie ou radiothérapie) afin de détruire les cellules cancéreuses qui peuvent être disséminées à distance de la tumeur primitive. La chimiothérapie est aussi utilisée en soins palliatifs pour soulager la douleur ou d'autres symptômes d'un cancer sans espoir de guérison.

## Radiothérapie et curiethérapie

La radiothérapie et la curiethérapie ont pour but de réduire ou détruire des cellules cancéreuses en évitant d'affecter les tissus sains environnants.

La radiothérapie est souvent utilisée pour réduire la taille de la tumeur avant le geste chirurgical ou pour éliminer les cellules cancéreuses ayant survécues à la chirurgie. Elle utilise des rayonnements ionisants (cobalt [minerai], rayons gamma, rayons X ou électrons). Ces rayons peuvent être émis par un appareil situé à l'extérieur du corps

(radiothérapie externe) ou à l'intérieur (curiethérapie). Le gray est l'unité de mesure utilisée pour définir la dose de rayons délivrée.

La curiethérapie est pratiquée au moyen de petites sources radioactives (généralement l'iridium) contenues dans une aiguille ou un fil placé temporairement au contact des zones à traiter. Ce traitement s'adresse à de nombreux cancers pourvu qu'ils soient accessibles et de petit volume (moins de 4 à 5 cm de diamètre).

- Curiethérapie interstitielle : à l'intérieur des tissus (langue, lèvre, peau, sein, prostate, anus, etc.).
- Curiethérapie endocavitaire : dans les cavités naturelles (nasopharynx ou cavum, vagin, utérus).

La protonthérapie est une technique particulière de radiothérapie ultraprécise à base de protons permettant de traiter certaines tumeurs de l'œil ou de la base du crâne, situées à proximité immédiate d'organes vitaux (cerveau, moelle épinière).

La tomothérapie utilise un appareil qui délivre une dose parfaitement adaptée à la tumeur en épargnant au maximum les tissus sains avoisinants. Cet appareil associe un accélérateur de faible énergie délivrant une irradiation avec modulation

d'intensité et un scanner intégré, ce qui permet de guider en trois dimensions l'irradiation.

## Hormonothérapie

L'hormonothérapie est un traitement qui a pour but de bloquer la croissance tumorale de certains cancers qui apparaissent dans des organes normalement sensibles à l'action des hormones (prostate, sein, thyroïde) et vise à réduire le risque de rechute métastatique. Il est le plus souvent utilisé pour traiter les cancers hormono-sensibles du sein soit en supprimant l'activité des ovaires, soit en administrant des médicaments anti-hormones qui entrent en compétition avec les hormones naturelles.

## Immunothérapie

L'immunothérapie est un traitement par anticorps consistant à moduler les réactions immunitaires de l'organisme (interféron, interleukines) ou en utilisant un anticorps spécifique dirigé contre des cibles moléculaires, ainsi l'Herceptine® est un anticorps de souris anti-HER-2 humanisé qui se fixe sur les cellules surexprimant HER-2 (cf. fig. 3-82) et entraîne leur mort.

# Chapitre 5

## Glossaires

### Lexique étymologique

Pour la compréhension du vocabulaire médical, il est utile de connaître la signification de quelques racines provenant du latin ou du grec ancien et de quelques suffixes (tableaux 5-1, 5-2 et 5-3).

### Principaux types de cellules

L'organisme est composé d'environ 5000 milliards de cellules réparties dans plus de 200 types cellulaires différents qui composent les tissus. On peut les classer selon leur forme (caliciforme, cubique, cylindrique, pavimenteuse, sphérique, etc.) et leur fonction très diverse. Le suffixe «-blaste» désigne une cellule jeune (caractère embryonnaire), précurseur de la lignée correspondante, et le suffixe «-cyte» désigne une cellule mature en phase quiescente.

#### A

**Adamantoblaste** : cellule épithéliale qui élabore l'émail dentaire. Syn. améloblaste.

**Adipocyte (ou cellule adipeuse)** : cellule conjonctive fixe qui dérive du lipoblaste. Elle contient une volumineuse gouttelette lipidique (triglycérides, acides gras libres) optiquement vide. Elles sont isolées ou en petits amas qui se regroupent en lobules pour former le tissu adipeux.

**Agranulocyte** : lymphocyte et monocyte. Le noyau n'est pas polylobé et le cytoplasme ne contient pas de granulations visibles au microscope optique. Syn. mononucléaire.

**Amacrine** : variété de neurone qui module l'impulsion nerveuse. Elle ne possède pas d'axones mais de nombreuses dendrites.

**Améloblaste** : cf. adamantoblaste.

**Angioblaste** : cellule embryonnaire génératrice de l'endothélium.

**Apocrine** : cf. idrosadénoïde.

**APUD (amine precursor uptake and decarboxylation)** : nom donné à des cellules situées essentiellement dans l'encéphale, les glandes endocrines ou le tube digestif et qui sécrètent pour la plupart des hormones.

**Argentaffine et argirophile** : cellule entéro-endocrine (APUD) associée au tube digestif qui se colore par les sels d'argent.

**Astrocyte** : cellule (gliale) de soutien du tissu nerveux (système nerveux central) caractérisée par des prolongements cytoplasmiques qui lui donnent une forme étoilée.

#### B

**Basale** : cellule provenant de la couche profonde de l'épithélium malpighien.

**Basophile** : cf. polynucléaire.

**Bâtonnet** : cellule visuelle photosensible de la rétine.

**Bordante ou pariétale** : cellule des glandes gastriques (estomac) qui sécrète les produits acides (acide chlorhydrique).

**Brünner (cellule de)** : cellule des glandes de Brünner (duodénum).

#### C

**Cajal (cellule de)** : cellule nerveuse musculaire impliquée dans la régulation de la mobilité intestinale (circulation de la nourriture).

**Caliciforme** : cellule épithéliale cylindrique en forme de calice qui synthétise et sécrète du mucus. Elle est particulièrement présente au niveau

**Tableau 5-1** Racines d'ordre général.

A-	Privation, manque de
Acanth(o)-	En forme d'épine
Alvéol(o)-	Cavité de ruche
Andr(o)-	Homme, mâle
Aniso-	Inégal
Anté-	Avant
Anti-	Contre
Apex-	Sommet, pointe
Arachn(o)-	Araignée
Astr(o)-	En forme d'étoile
Bi-, bis-	Deux
Bio-	Vie
Cancér(o)-, carcin(o)-	Cancer
Cary(o)-, kary(o)-	Noyau
Chrom(o)-	Couleur, chrome
Coel(o)-	Cavité, creux
Cry(o)-	Froid
Dé-, dés-	Séparation, privation
Dendr(o)-	En forme d'arborescence
Dis-	Différence
Dys-	Difficulté
Endo-	Au-dedans
Épi-	Sur, dessus
Ex-, exo-	Hors de
Extra-	En dehors, extérieur à
Follicul(o)-	Petit sac
Fongi-	Champignon
Galact(o)-	Lait
Glomérul(o)-	Peloton
Gon(o)-	Semence
Granul(o)-	Petit grain
Graph(o)-	Écrire
Hémi-	À demi, la moitié de
Homéo-, homo-	Semblable
Hyal(o)-	Transparent
Hydr(o)-	Eau
Hyper-	Au-dessus, excès

Hypo-	Dessous, insuffisance
In-	Privé de, contraire, négation
Inter-	Entre, parmi
Intra-	À l'intérieur
Iso-	Égal
Juxta-	À côté de
Kéra-, kérat(o)-	Corne, cornée
Koïl(o)-	Creux
Kyst(o)-	Kyste
Latér(o)-	Côté
Léio-	Lisse
Leuc(o)-	Blanc
Lip(o)-	Graisse, gras
Luté(o)-	Jaune
Lymph(o)-	Relatif à la lymphe
Lys(o)-	Dissolution
Macr(o)-	Grand, gros
Malin, maligne	Méchant
Méat(o)-	Orifice d'un canal
Méga-	Grand
Mélan(o)-	Noir
Méso-	Milieu
Méta-	À distance
Mi-	Au milieu, à moitié, à demi
Micr(o)-	Petit
Mon(o)-	Seul, unique
Morph(o)-	Forme
Muc(o)-	Humeur visqueuse
Multi-	Beaucoup
Myc(o)-	Champignon
Myx(o)-	Mucus
Nécr(o)-	Mort, cadavre
Néo-	Nouveau, jeune
Neutr(o)-	Ni acide, ni basique
Nuclé(o)-	Noyau
Olig(o)-	Petit, peu nombreux, rare
Or(o)-	Relatif à la bouche
Orth(o)-	Droit, normal, régulier

**Tableau 5-1** (Suite)

Papill(o)-	Papille
Para-	À côté de, auprès, contre
Path(o)-	Souffrance, changement
Pauci-	Pauvre, peu nombreux
Per-	Pendant
Péri-	Autour de
Phlegm(o)-	Inflammation, brûlure
Phyll(o)-	Feuille
Phyt(o)-	Plante
Poly-	Nombreux, plusieurs
Post-	Après
Pré-	Avant, devant
Pseud(o)-	Faux, erreur, similitude
Pycn(o)-	Condensé
Py(o)	Relatif au pus
Re-, ré-	De nouveau, répétition
Réticul(o)-	Petit filet
Rétro-	En arrière de, derrière
Sac, sacc(o)-	Petite cavité
Sclér(o)-	Dur, fibreux
Sidér(o)-	Fer
Sperm(o)-	Semence
Sphér(o)-	Sphère, globe, boule
Spongi(o)-	Structure d'une éponge
Squam(o)-	Écaille
Stéat(o)-	Graisse
Stén(o)-	Rétrécissement
Sudor(o)-	Relatif à la sueur
Supra-	Au-dessus, au-delà, supérieur
Syn-, sym-	Avec
Trans-	Au-delà, à travers
Trich(o)-	Cheveu, poil
Ultra-	Excessif
Xanth(o)-	Jaune
Xén(o)-	Étranger
Xér(o)	Sec

**Tableau 5-2** Topographie anatomique et origine tissulaire.

Abdomin(o)-	Bas-ventre, abdomen
Adén(o)-	Glande, ganglion lymphatique
Adip-	Graisse
Adrén(o)-	Glande surrénale
Amél(o)-	Émail
Amygdal(o)-	Amygdale
Angi(o)-	Vaisseau
Aort(o)-	Aorte
Blast(o)-	Développement embryonnaire
Brach(o)-	Bras
Bronch(o)-	Bronche
Bucc(o)-	Bouche
Cæc(o)-	Cæcum
Céphal(o)-	Tête
Cérébell(o)-	Cervelet
Cérébr(o)-	Cerveau
Cervic(o)-	Cou, nuque
Cervic(o)-	Utérus
Cholécyst(o)-	Vésicule biliaire
Chondr(o)-, cond(r)o-	Cartilage
Chord(o)-	Ébauche embryonnaire
Chori(o)-, chor(o)-	Membrane, chorion
Chori(o)-	Membrane de l'œil (choroïde)
Clavicul(o)-	Clavicule
Cléid(o)-	Clavicule
Cœli(o)-	Abdomen, péritoine
Colo-	Côlon
Colp(o)-	Vagin
Cortic(o)-	Cortex (cérébral, surrénal)
Cubit(o)-	Coude
Cuti-, cutané	Peau
Cyst(o)-	Vessie
Cyt(o)-	Cellule
Derm(o)-, dermat(o)-	Peau
Duodén(o)-	Intestin grêle
Embryo-	Embryon, fœtus

(suite)

Tableau 5-2 (Suite)

Encéphal(o)-	Encéphale
Entér(o)-	Intestin
Épendym(o)-	Membrane du cerveau
Fibr(o)-	Filament
Fœt(o)-	Fœtus
Gangl-	Ganglion
Gastér(o)-, gastr(o)-	Estomac
Gloss(o)-	Langue
Glott(o)-	Orifice du larynx
Gyn(o)-, gynec(o)-	Femme
Hém(a)-, hémat(o)-, hém(o)-	Sang
Hépat(o)-	Foie
Hist(o)-	Tissu
Hystér(o)-	Utérus
Jugul(o)-	Gorge
Lapar(o)-	Abdomen, flanc
Laryng(o)-	Larynx
Lip(o)-	Graisse
Lomb(o)-	Rein
Mamm(o)-	Sein
Mast(o)-	Sein
Maxill(o)-	Maxillaire
Médull(o)-	Moelle
Méning(o)-	Méninge
Métr(o)-	Utérus
Muscul(o)-	Muscle
Myél(o)-	Moelle
Myo-	Muscle, fibre
Nas(o)-	Nez
Néphr(o)-	Rein
Neur(o)-	Nerf
Névr(o)-	Nerf
Ocul(o)-	Œil
Odont(o)-	Dent
Oment-	Épiploon
Orchid-	Testicule
Osté(o)-	Os
Ovari(o)	Ovaire
Péd(i)-	Pied
Pelv(i)-	Bassin

Périné(o)-	Périnéal
Péritoné(o)-	Péritoine
Pharyng(o)-	Pharynx
Phléb(o)-	Veine
Piné(o)-	Pinéal (hypophyse)
Pleur(o)-	Plèvre
Pneum(o)-	Poumon
Pod(o)-	Pied
Proct(o)-	Anus
Prostat(o)-	Prostate
Pulm(o)-	Poumon
Pyél(o)-	Bassinnet
Rén(o)-	Rein
Rétin(o)-	Rétine
Rhabdo-	Fibre musculaire
Rhin(o)-	Nez
Sacr(o)-	Sacrum
Salping(o)-	Trompe utérine
Scapul(o)-	Épaule
Scrot(o)-	Bourse
Sigmoïd(o)-	Sigmoïde
Spin(o)-	Colonne vertébrale
Splén(o)-	Rate
Stern(o)-	Sternum
Strom(a)-, stomat(o)-	Bouche
Surrénal(o)-	Glande surrénale
Symphath(ico)-	Système nerveux sympathique
Synovi(o)-	Synoviale
Temp(o)-	Partie latérale de la tête
Tén(o)-, tendin(o)-	Tendon
Thorac(o)-	Cavité thoracique
Thyr(o)-	Thyroïde
Traché(o)-	Trachée
Ur(o)-	Urine
Utér(o)-	Utérus
Vagin(o)-	Vagin
Vascul(o)-	Vaisseau
Vein(o)-	Veine
Vésic(o)-	Vessie
Vulv(o)-	Vulve

**Tableau 5-3** Suffixes généraux.

- algie	Douleur
- blaste	Cellule jeune
- blastome	Tumeur embryonnaire (maligne)
- cèle	Collection liquidienne
- chroïque, -chromisme	Couleur
- cyte	Cellule
- ectasie	Dilatation d'un segment
- ectopie	Situation anormale
- graphie	Inscrire
- iforme	Ayant la forme de
- ite	Inflammation
- lingual	Langue
- logie	Étude scientifique d'un sujet
- lyse	Destruction
- morphe	Forme
- oïde ou -oïdal	Ressemblance, en forme de
- ome ou -oma	Maladie, tumeur, tuméfaction
- ose	Maladie chronique non inflammatoire
- pathie	Affection générale d'un organe
- plasia	Modeler
- plastie	Processus néoformateur
- ptôse	Chute d'organe
- rrhée	Écoulement
- rrxie	Cassure, brisure
- scope, -scopie	Regarder, examen par la vue
- thélium	Divers tissus
- thérapie	Soin, traitement

du tractus respiratoire et gastro-intestinal. Syn. mucipare.

**Cellule à épines** : cf. kératinocyte.

**Cellule alpha** : cellule des îlots de Langerhans (pancréas endocrine) qui sécrète le glucagon. Syn. cellule à glucagon.

**Cellule bêta** : cellule des îlots de Langerhans (pancréas endocrine) qui sécrète l'insuline. Syn. cellule à insuline.

**Cellule C (de la thyroïde)** : cellule appartenant à l'épithélium de la vésicule thyroïdienne qui synthétise et sécrète la calcitonine. Syn. cellule parafolliculaire.

**Cellule claire** : cellule chargée en glycogène ou en lipide.

**Cellule de la granulosa** : cellule du cortex ovarien qui sécrète la progestérone.

**Cellule de soutien** : cellule du tissu conjonctif.

**Cellule du collet** : cellule muqueuse de l'estomac.

**Cellule G** : cellule antrale (estomac) qui sécrète la gastrine (hormone stimulatrice de la sécrétion d'acide chlorhydrique).

**Cellule géante** : volumineuse cellule d'origine histiomonocytaire contenant plusieurs noyaux (multinucléée). Elle peut résulter d'anomalies de la division cellulaire ou de la fusion de cellules. Syn. plasmode.

**Centrocyte** : cellule de la lignée lymphoïde. Cf. cellule clivée.

**Chondrocyte** : volumineuse cellule cartilagineuse riche en glycogène et en enclaves lipidiques.

**Chromaffine** : cellule neuro-ectodermique (médullosurrénale) dont le cytoplasme contient des granulations de catécholamine qui se colorent par les sels de chrome.

**Chromatocyte** : toute cellule capable de synthétiser un pigment organique (essentiellement localisée dans l'épiderme).

**Chromophile** : cellule sécrétoire de l'antéhypophyse qui a une forte affinité pour les colorants acides et basiques.

**Chromophobe** : cellule sécrétoire de l'antéhypophyse qui n'a pas d'affinité pour les colorants acides ou basiques.

**Clara (cellule de)** : cellule épithéliale non ciliée des bronchioles respiratoires.

**Clivée** : petite cellule lymphoïde au noyau incisé avec chromatine dense. Syn. centrocyte.

**Cône** : cellule visuelle photosensible de la rétine.

**Conjonctive** : cellule qui entre dans la constitution du tissu conjonctif. Elle a un rôle de réserve et de soutien.

## D

**Dendritique** : cellule qui dérive du monocyte et qui intervient dans la réponse immune en présentant les antigènes aux lymphocytes T. Elle est

présente dans les ganglions lymphatiques, la rate, les tissus et en petit nombre dans le sang.

**Différenciée** : cellule qui a acquis des caractères lui permettant d'assurer ses fonctions.

**Ductale** : cellule bordant un canal.

**Dyskératosique** : cellule avec anomalie de la kératinisation.

## E

**Embryonnaire** : cellule jeune avant la différenciation. *Cf.* indifférenciée, souche.

**En bague à chaton** : cellule à noyau refoulé par une vacuole de mucus (observée dans les carcinomes colloïdes).

**Endocrine** : cellule glandulaire qui déverse sa sécrétion (hormone) dans les espaces intercellulaires.

**Endothéliale** : cellule aplatie qui tapisse les vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que la cavité cardiaque. Elle empêche la coagulation et intervient dans le système immunitaire en jouant le rôle de présentatrice d'antigène.

**Entérochromaffine** : cellule entéro-endocrine (APUD) associée au tube digestif. Syn. cellule argentaffine.

**Entérocyte** : cellule épithéliale cylindrique de l'intestin grêle impliquée dans les processus de digestion et d'absorption.

**Épendymaire** : cellule de la névrologie qui tapisse la paroi des ventricules cérébraux et de l'épendyme.

**Épendymocyte** : cellule du tissu nerveux qui forme l'épendyme (membrane qui tapisse les cavités du cerveau et le tube central de la moelle épinière).

**Épithéliocyte** : cellule thymique qui constitue la trame réticulée du thymus.

**Épithéliale** : cellule appartenant à un épithélium qui a une fonction de protection (mécanique ou chimique).

**Épithélioïde** : cellule de la lignée histiomonocytaire qui ressemble grossièrement à une cellule épithéliale. Elle constitue un des éléments de l'inflammation.

**Érythrocyte** : cellule de la lignée myéloïde (précurseur des hématies).

**Exocrine** : cellule qui déverse son produit de sécrétion par l'intermédiaire d'un canal excréteur.

## F

**Fibrocyte** : cellule fixe du tissu conjonctif de forme fusiforme ou étoilée. Elle synthétise les fibres et la substance fondamentale.

**Fœtale** : syn. embryonnaire.

**Folliculaire** : cellule formant la paroi des vésicules de la thyroïde. Elle sécrète la thyroglobuline.

## G

**Galactophorique** : cellule glandulaire du sein (canal galactophorique).

**Gamète** : cellule germinale sexuelle (ovocyte et spermatozoïde).

**Gamétocyte (ou gamonte)** : cellule précurseur des gamètes.

**Germinale** : cellule de la lignée des gamètes.

**Gliale (ou gliocyte)** : cellule du système nerveux central qui présente des prolongements qui s'intriquent avec ceux des cellules nerveuses. Les cellules gliales sont de quatre types (astrocytes, oligodendrocytes, cellules épendymaires et cellules microgliales).

**Glandulaire** : cellule spécialisée dans l'élaboration de produits de sécrétion souvent organisée en unités fonctionnelles ou unités sécrétantes.

**Globule blanc** : *cf.* leucocyte.

**Globule rouge** : *cf.* hématie.

**Gonocyte** : cellule germinale des glandes génitales (ovaire et testicule).

**Gonies** : cellule germinale initiale qui au cours de la gamétogenèse se différencie en gamète mâle (spermatozoïde) ou en gamète femelle (ovocyte).

**Granulocyte** : *cf.* polynucléaire.

## H

**Hématie** : cellule sanguine anucléée d'environ 7  $\mu$  de diamètre, aplatie, biconcave de profil, support de l'hémoglobine. Elle est de couleur grisâtre à la coloration de MGG. Syn. érythrocyte, globule rouge.

**Hépatocyte** : cellule du foie riche en glycogène.

**Histiocyte** : cellule mobile qui dérive du monocyte et qui réside dans les tissus conjonctifs. *Cf.* macrophage.

**Hodgkin (cellule de)** : cellule de grande taille nettement nucléolée au cytoplasme parfois lacunaire. Cellule caractéristique de la maladie de Hodgkin.

**Hürthle (cellule de)** : oncoocyte du corps thyroïde ou de la glande thyroïde.

## I

**Idrosadénoïde** : cellule à cytoplasme abondant éosinophile et granuleux. Syn. apocrine.

**Immature** : cellule qui n'a pas encore atteint son développement complet. *Cf.* embryonnaire.

**Immunocyte** : cellule qui joue un rôle important dans l'immunité en se différenciant en lymphocyte B ou plasmocyte.

**Immunocompétente** : cellule lymphoïde qui joue un rôle essentiel dans les réactions d'immunité. Syn. immunocyte.

**Indifférenciée** : cellule n'ayant pas les caractéristiques d'une cellule avec une fonction précise. Syn. embryonnaire, primordiale, souche.

**Intermédiaire** : cellule provenant des couches moyennes de l'épithélium malpighien.

**Interstitielle** : cellule située dans les interstices qui entourent les éléments différenciés d'un organe.

## K

**Kératinocyte (ou cellule à épines)** : cellule épithéliale majoritaire de l'épiderme qui synthétise la kératine (protéine donnant aux cellules des propriétés protectrices).

**Koïlocyte** : cellule malpighienne de type intermédiaire ou superficiel avec volumineux noyau à contour irrégulier et cytoplasme présentant une large clarification (aspect en écaille d'huître) témoignant une infection virale.

**Küpfner (cellule de)** : phagocyte situé le long des sinusoides hépatiques.

## L

**Langerhans (cellule de)** : histiocyte de très grande taille à cytoplasme très abondant et éosinophile, à noyaux très nombreux disposés en «fer à cheval»

à la périphérie du cytoplasme. Elle est le plus souvent présente dans l'inflammation spécifique, la tuberculose et la sarcoïdose.

**Langerhans (cellule de)** : cellule de la lignée histiocyttaire siégeant au niveau de la peau et qui migre dans la lymphe afférente, puis se localise dans les ganglions où on l'appelle cellule dendritique. Elle possède un granule caractéristique en forme de raquette.

**Leucocyte** : cellule de plusieurs types dont les monocytes, lymphocytes, granulocytes ou polynucléaires. Leur rôle commun est de lutter contre des agressions extérieures surtout microbiennes. Syn. globule blanc.

**Leydig (cellule de) ou cellule interstitielle du testicule** : cellule du testicule qui sécrète la testostérone.

**Lipoblaste** : cellule précurseur des adipocytes contenant de petites vacuoles lipidiques à contour net.

**Lipophage** : macrophage au cytoplasme spumeux comportant de nombreuses vacuoles lipidiques cytoplasmiques colorées en rouge par la coloration Oil Red O.

**Lutéinique folliculaire** : nom donné aux cellules de la granulosa (ovaire) dont le cytoplasme contient un pigment jaune brillant.

**Lutéinique thécale** : cellule de la thèque interne (ovaire) sécrétant les œstrogènes qui sont nécessaires pour maintenir la prolifération de la muqueuse utérine. Syn. paralutéinique.

**Lymphoblaste** : cellule souche qui se transforme en petit ou grand lymphocyte.

**Lymphocyte** : cellule présente dans le sang, la moelle osseuse et les tissus lymphoïdes. Les types principaux sont les lymphocytes de phénotype B, T ou NK (*cf.* le système immunitaire). Petit lymphocyte, cellule mobile à noyau très dense et cytoplasme très peu abondant, il se transforme en immunoblaste (B ou T). Grand lymphocyte, cellule caractérisée par un cytoplasme un peu plus volumineux contenant parfois des grains azurophiles.

**Lymphoïde** : cellule représentant plusieurs types cellulaires dont le rôle est de protéger l'organisme contre les infections.

**Lymphoplasmocytaire** : cellule correspondant à un stade de différenciation d'un lymphocyte B en plasmocyte.

## M

**Macrophage** : volumineuse cellule (grand phagocyte) distribuée dans la plupart des tissus et bordant aussi les cavités séreuses et les alvéoles pulmonaires; selon son siège : dans les tissus (histiocyte), dans le sang (monocyte).

**Mastocyte des tissus conjonctifs** : cellule se trouvant le plus souvent à proximité des vaisseaux sanguins et qui intervient dans les allergies et l'inflammation. Leur cytoplasme contient de nombreuses granulations basophiles riches en médiateurs qui sécrètent l'héparine, la sérotonine, l'histamine.

**Mastocyte associé aux muqueuses** : cellule présente dans l'intestin et les poumons.

**Mégacaryocyte** : cellule de la lignée myéloïde qui produit les plaquettes (ou thrombocytes).

**Mélanocyte** : cellule d'origine neuro-ectodermique (issue de la crête neurale) d'aspect étoilé qui synthétise la mélanine. Elle siège essentiellement au niveau de la peau et exceptionnellement au niveau de l'œil, du système nerveux ou des muqueuses aérodigestives.

**Méningoblaste** : cellule méningée fusiforme.

**Merkel (cellule de)** : cellule neuro-épithéliale située au niveau de la couche basale de l'épiderme.

**Mésangiale** : cellule de soutien du glomérule rénal.

**Mésenchymateuse** : cellule spécifique du tissu conjonctif embryonnaire à partir de laquelle les tissus conjonctif et de soutien adulte se développent.

**Mésothéliale** : cellule qui tapisse un mésothélium.

**Métamyélocyte** : cellule de la lignée myéloïde de morphologie intermédiaire entre celles du myélocyte et du polynucléaire.

**Microgliale** : phagocyte résidant du cerveau où il migre durant la période périnatale.

**Monoblaste** : cellule souche de la lignée myéloïde.

**Monocyte** : cellule circulante du sang qui peut migrer dans les tissus pour y devenir un macrophage. Elle a un noyau volumineux, central ou

périphérique, réniforme avec un cytoplasme bien visible contenant des granules azurophiles.

**Mononucléaire (ou grand lymphocyte)** : cellule sanguine mononucléée avec cytoplasme agranuleux (lymphocytaire et monocytaire).

**Mucipare** : *cf.* caliciforme.

**Musculaire cardiaque** : cellule musculaire striée d'un type particulier. Leur noyau est unique et central. Elles sont bifurquées à leurs extrémités et forment entre elles un réseau à larges mailles.

**Musculaire lisse** : cellule des muscles lisses (non striés) fusiforme à noyau allongé unique et central avec cytoplasme éosinophile fibrillaire.

**Musculaire striée** : cellule des muscles striés très allongée contenant de nombreux noyaux allongés et périphériques.

**Myélocyte** : cellule de la lignée myéloïde précurseur d'un leucocyte granuleux (ou polynucléaire) qui possède des granulations basophiles, neutrophiles ou éosinophiles caractéristiques de ce dernier.

**Myéloplaxe** : cellule géante.

**Myoblaste** : cellule embryonnaire destinée à se transformer en fibres musculaires striées.

**Myocyte** : cellule musculaire différenciée possédant la fonction de contractibilité.

**Myoépithéliale** : cellule d'origine épithéliale de forme allongée ou étoilée renfermant des microfilaments contractiles entourant un acinus muqueux ou séreux de certaines glandes exocrines comme les glandes sudoripares, lacrymales, salivaires, mammaires, bronchiques.

**Myofibroblaste** : cellule musculaire fusiforme de morphologie intermédiaire à celle du fibroblaste et qui joue un rôle dans les processus de cicatrisation et de réparation tissulaire.

## N

**Nævocyte** : petite cellule à cytoplasme éosinophile peu abondant plus ou moins chargé de pigment mélanique.

**Neuroblaste** : cellule issue d'une cellule souche neuro-épithéliale. Elle est caractéristique du neuroblastome (tumeur maligne du nourrisson et du jeune enfant).

**Neuro-endocrine** : cellule sécrétant des amines ou des peptides et possédant des caractères métaboliques communs. Syn. APUD.

**Neurone** : cellule nerveuse hautement spécialisée de forme étoilée avec des prolongements (axone et dendrites).

**Neutrophile** : *cf.* polynucléaire.

## O

**Odontoblaste** : cellule d'origine mésenchymateuse qui élabore la dentine (ou ivoire) des dents.

**Oligodendrocyte** : cellule de la névrologie présente essentiellement dans la substance blanche du système nerveux central.

**Oncocyte** : cellule à cytoplasme granuleux.

**Ostéoblaste** : cellule mésenchymateuse responsable de la synthèse et de la sécrétion de l'ostéoïde qui après calcification constitue l'os.

**Ostéoclaste** : cellule géante multinucléée à cytoplasme spumeux qui résorbe en permanence le tissu osseux pour permettre sa régénération par les ostéoblastes.

**Ostéocyte** : cellule responsable du maintien de la matrice osseuse. Elle est située dans l'épaisseur des travées osseuses au sein d'une logette.

**Ovocyte** : gamète mature femelle située dans le parenchyme ovarien et qui n'a pas encore subi les phases de méiose.

**Oxyphile** : cellule à petit noyau et cytoplasme très éosinophile et granulaire contenant de nombreuses mitochondries.

## P

**Paneth (cellule de)** : cellule située à la base des cryptes des glandes de Lieberkühn de l'intestin grêle caractérisée par des grains de sécrétions acidophiles.

**Parafolliculaire** : cellule thyroïdienne sécrétant la calcitonine. *Cf.* cellule C de la thyroïde.

**Paralutéinique** : *cf.* lutéinique thécale.

**Pariétale** : cellule de l'estomac (glandes de fundus) productrice de l'acide chlorhydrique.

**Peptidique** : cellule de l'estomac (glandes de fundus) qui sécrète la pepsine. Syn. principale.

**Péricyte** : cellule de nature histiocytaire qui entoure les vaisseaux sanguins.

**Phagocyte** : cellule ayant les capacités (mobilité, équipement enzymatique) de réaliser une phagocytose. Elle intervient dans les réactions inflammatoires. Les phagocytes comprennent les macrophages, les monocytes et les neutrophiles.

**Physaliphore** : grande cellule qui contient des vacuoles intracytoplasmiques et sécrète une substance mucoïde.

**Pinéaloocyte** : cellule de l'épiphyse ressemblant à un neurone qui synthétise la mélatonine.

**Plaquette** : petit élément figuré du sang qui a un rôle déterminant dans la coagulation. Syn. thrombocyte.

**Plasmocyte** : cellule provenant de la transformation d'un lymphocyte B. Elle synthétise et sécrète des anticorps.

**Plasmode** : grosse cellule multinucléée résultant de la fusion de plusieurs cellules et dans laquelle tous les noyaux restent indépendants. Syn. cellule géante plurinucléée.

**Pneumocyte** : cellule épithéliale des alvéoles pulmonaires.

**Podocyte** : cellule épithéliale qui entoure les capillaires glomérulaires du rein.

**Polynucléaire** : cellule de la lignée myéloïde qui représente la majorité des leucocytes sanguins. Elle possède un noyau unique mais segmenté avec nombreuses granulations intracytoplasmiques qui contiennent des enzymes. Elle a des propriétés de phagocytose :

- polynucléaire car la cellule semble présenter plusieurs noyaux (en fait, ce sont plusieurs lobes) ;
- granulocyte car la cellule possède de nombreux granules dans le cytoplasme (cytoplasme granuleux) ;
- selon les affinités tinctoriales de leurs granulations :
  - basophile : noyau bilobé avec nombreuses granulations très irrégulières qui se colorent par les colorants basiques en bleu sombre,
  - éosinophile : noyau bilobé avec nombreuses granulations régulières qui se colorent par les colorants acides en rouge,

- neutrophile : noyau multilobé avec granulations à peine visibles puisqu'elles ne se colorent ni par les colorants acides ou basiques (grisâtre).

**Primordiale** : *cf.* indifférenciée, souche.

**Principale** : cellule de l'estomac (glandes de fundus) qui sécrète la pepsine. Syn. peptidique.

**Pyocyte** : polynucléaire neutrophile altéré observé dans des lésions purulentes.

## R

**Réticulée** : cellule de soutien des vaisseaux sanguins.

**Réticulo-épithéliale** : cellule qui provient de l'endoderme.

## S

**Schwann (cellule de)** : cellule de la névrologie responsable de la formation de la gaine de myéline.

**Sertoli (cellule de)** : cellule des tubes séminifères du testicule.

**Sézary (cellule de)** : cellule mononucléée de la lignée lymphocytaire dont le noyau volumineux, irrégulier a une chromatine striée.

**Sidérophage** : macrophage chargé de pigment hémossidérinique coloré en bleu par la coloration de Perls.

**Somatique** : cellule (non sexuelle) qui constitue les tissus et les organes.

**Souche** : cellule indifférenciée dotée de la capacité de s'auto-renouveler par division pour donner de nouvelles cellules souches ou pour se différencier en d'autres types cellulaires. Syn. embryonnaire, indifférenciée ou primordiale.

**Spermatozoïde** : cellule sexuelle mâle qui contient le matériel génétique. Elle est produite par le testicule.

**Spumeuse** : cellule à cytoplasme vacuolisé rempli de lipides.

**Sternberg, cellule de (Reed-Sternberg)** : cellule lymphoïde monstrueuse caractéristique de la maladie de Hodgkin avec gros noyau central ou excentré, anfractueux, polylobé, comportant plusieurs nucléoles volumineux, irréguliers, disposés en « œil de hibou ».

**Stromale** : cellule conjonctive.

**Superficielle** : cellule provenant de la couche superficielle de l'épithélium malpighien.

**Syncytiale** : cellule résultant de la fusion de plusieurs cellules et comportant plusieurs noyaux.

**Synovocyte** : cellule bordant le tissu synovial.

## T

**Thécale** : cellule des follicules ovariens.

**Thymocyte** : cellule T (ou lymphocyte T) immature migrant de la moelle osseuse dans le thymus pour y acquérir son immunocompétence.

**Thyréocyte/thyrocyte** : cellule thyroïdienne qui sécrète une hormone (la thyroglobuline).

**Totipotente** : cellule embryonnaire initiale (premier blastomère).

**Transitionnelle** : *cf.* urothéliale.

**Tricholeucyte** : cellule à limite irrégulière en rapport avec l'existence de dendrites et de voiles (appelé leucocyte chevelu à cause de son aspect).

**Thrombocyte** : *cf.* plaquette.

**Trophoblaste** : cellule d'origine foetale qui participe à la mise en place du placenta.

## U

**Urothéliale** : cellule qui revêt les voies excréto-urinaires (urothéliums). Leur forme change légèrement selon le lieu (bassinets, uretères, vessie). Syn. transitionnelle.

## V

**Vésiculaire** : cellule qui sécrète les hormones thyroïdiennes (riches en iode).

## Topographie anatomique

---

Un organe est une entité structurale et fonctionnelle composée de différents tissus doués de capacités complémentaires et exerçant une fonction spécifique, mais n'ayant de sens qu'au sein d'un système. On distingue les organes pleins (foie, glandes salivaires, ovaires, pancréas, prostate, reins, seins...) et les organes creux (côlon, estomac, rectum, vessie...).

**A**

**Abdomen (nom familier, le ventre)** : occupe la moitié inférieure du tronc, au-dessous du thorax séparé par le diaphragme et au-dessus du bassin. Il contient la majeure partie de l'appareil digestif, le foie, la rate et une partie de l'appareil génito-urinaire.

**Amygdales palatines** : formations lymphoïdes situées de part et d'autre du voile du palais dans l'oropharynx.

**Anus** : orifice terminal du rectum muni d'un sphincter (muscle).

**Appendice (iléocœcal ou vermiculaire)** : diverticule tubulaire attaché au cœcum.

**B**

**Bulbe rachidien** : partie inférieure du tronc cérébral.

**C**

**Cœcum** : partie initiale du côlon dans laquelle aboutit le grêle. C'est un cul-de-sac auquel l'appendice est fixé. Il est situé dans la fosse iliaque droite.

**Canal anal** : partie basse du rectum qui transporte les fèces pour leur élimination par un conduit musculaire.

**Cardia** : jonction de l'œsophage et de l'estomac.

**Cavité buccale (bouche)** : cavité limitée par les lèvres et les arcades dentaires. Elle comprend le plancher buccal, la langue mobile, les joues, le palais (ou voûte palatine), l'isthme du gosier et des glandes salivaires annexes.

**Cavité nasale** : fosse relative au nez. Elle s'ouvre vers l'extérieur par les narines séparées par la cloison nasale et vers le pharynx (narines internes ou choanes).

**Cavum** : cavité de la gorge située en arrière des fosses nasales. Syn. nasopharynx.

**Cerveau** : partie antérieure de l'encéphale.

**Cervelet** : région inférieure du cerveau située en arrière du bulbe rachidien et de la protubérance annulaire sous les lobes occipitaux.

**Cœliaque** : région se rapportant à l'abdomen et aux intestins.

**Cœur** : organe situé dans le médiastin antérieur entre les deux poumons. Sa pointe tournée à gauche repose sur le diaphragme.

**Col de l'utérus** : partie inférieure de l'utérus faisant saillie dans le vagin.

**Côlon (ou gros intestin)** : partie du tube digestif située dans la cavité abdominale. Il fait suite à l'intestin grêle et se termine par l'anus. Il comporte plusieurs segments, le cœcum, le côlon ascendant (ou côlon droit), le côlon transverse, le côlon descendant (ou côlon gauche), le côlon sigmoïde et le rectum.

**Corde vocale** : membrane située à la base du larynx dont la vibration permet l'émission de la voix. Elles sont au nombre de quatre (deux supérieures et deux inférieures).

**Corticosurrénale** : *cf.* surrénale.

**D**

**Dent** : petit organe composé d'émail (ou ivoire) ancré dans les mâchoires inférieure et supérieure. Elle est constituée d'une partie visible (la couronne), d'une partie cachée (la racine) et d'une zone intermédiaire (le collet).

**Diaphragme** : muscle transversal en forme de dôme qui sépare le thorax de l'abdomen et qui joue un rôle majeur dans la respiration.

**Douglas (cul-de-sac)** : pli (ou repli) dans la partie la plus inférieure du péritoine situé entre l'utérus et le rectum chez la femme et entre la vessie et le rectum chez l'homme.

**Duodénum** : première partie de l'intestin grêle comprise entre l'estomac et le jéjunum et dont la boucle (cadre) enserme la tête du pancréas. On y retrouve des glandes mucosécrétantes (glandes de Brünner).

**E**

**Endocol** : partie interne du col utérin débutant au niveau de l'orifice cervical.

**Endomètre** : muqueuse qui tapisse la cavité utérine.

**Épididyme** : organe qui coiffe le bord supérieur du testicule.

**Épigastre** : région de l'abdomen située entre les cartilages costaux et l'ombilic.

**Épiglotte** : languette de cartilage située au-dessus et en avant de l'orifice supérieur du larynx qui referme la glotte au moment de la déglutition.

**Épines iliaques (EIAD – EIAG – EIPD – EIPG)** : secteurs de moelle osseuse des os iliaques qui forment le pelvis (bassin osseux). De localisation : A (antérieure), P (postérieure), D (droite), G (gauche).

**Épiphyse** : petite glande endocrine située sous la partie postérieure du corps calleux du cerveau. Syn. glande pinéale.

**Épiploon** : large expansion du péritoine composée d'un double feuillet qui maintient les organes abdominaux en place. Le grand épiploon relie l'estomac au côlon transverse et le petit épiploon relie le foie à l'estomac.

**Estomac** : viscère creux de l'appareil digestif en forme de cornemuse situé dans la partie supérieure gauche de l'abdomen (région épigastrique). Il communique avec l'œsophage par le cardia et avec le duodénum par le pylore.

**Ethmoïde** : os situé entre les deux orbites et creusé de cavités remplies d'air.

**Exocol** : partie externe (intravaginale) du col utérin.

## F

**Foie** : volumineuse glande mixte annexée au tube digestif, située dans l'hypocondre droit sous le diaphragme. Le ligament suspenseur (ou falciforme) du foie marque la division en lobe droit et lobe gauche présentant huit segments : lobe droit (segments : V, VI, VII et VIII) et lobe gauche (segments : I, II, III et IV).

**Fosse iliaque** : l'une des deux régions de la cavité abdominale contenant les uretères, le cæcum et l'appendice, le côlon pelvien ; chez la femme, les ovaires et les trompes utérines.

## G

**Ganglion** : ce terme désigne deux types de formations anatomiques et physiologiques différentes.

- Les ganglions lymphatiques sont des petits organes réniformes de taille variable situés sur le trajet des vaisseaux lymphatiques drainant une région anatomique et concentrés dans certaines régions du corps :

- ganglions superficiels : cervicaux (carotidien ou jugulaire, rétro- et sous-maxillaire, sous-digastrique, spinal, sus- et sous-claviculaire, occipital...), axillaires (aisselle), épitrochléens (coude), rétropoplités (creux du genou), inguinaux (pli de l'aîne) ;

- ganglions profonds : médiastinaux (région para-aortique), abdomino-pelviens (iliaque, lombaire, mésentérique, pelvien, rétrocrural) ;

- à noter : le ganglion de Troisier est situé en sus-claviculaire gauche (souvent révélateur d'un cancer de l'estomac). Le ganglion de Rotter correspond à un ganglion interpectoral.

- Les ganglions sympathiques sont des structures en nodule appartenant au système nerveux.

**Ganglion sentinelle** : ganglion lymphatique (du premier relais ganglionnaire) situé dans le territoire du drainage lymphatique d'une tumeur.

**Gencive** : muqueuse entourant la racine des dents et recouvrant le périoste des maxillaires.

**Gland** : partie renflée du pénis à l'extrémité duquel s'ouvre le méat urétral.

**Glande pinéale** : cf. épiphyse.

**Glandes lacrymales** : petites glandes exocrines situées à la partie supérieure, antérieure et externe des orbites.

**Glandes salivaires principales** : glandes exocrines situées au niveau du cou et de la face. Ce sont des organes bien individualisés au nombre de trois paires : la parotide (en arrière de la branche montante de la mâchoire inférieure ou mandibule sous l'oreille), la sous-maxillaire ou sous-mandibulaire (entre la mâchoire inférieure et la base de langue) et la sublinguale (sous la langue sur le plancher buccal).

**Glandes salivaires accessoires** : îlots salivaires disséminés principalement dans les muqueuses de la cavité buccale et de la langue.

**Glotte** : orifice du larynx.

## H

**Hypocondre** : chacune des deux parties latérales de l'abdomen située au-dessous des fausses côtes.

**Hypopharynx** : gouttières latérales situées derrière le larynx. Cf. pharynx.

**Hypophyse** : petite glande endocrine située entre les pédoncules cérébraux et logée dans une fossette de l'os sphénoïde (la selle turcique).

**Hypothalamus** : région du cerveau située dans le plancher du troisième ventricule.

## I

**Iléon** : partie terminale de l'intestin grêle qui s'abouche dans le cæcum.

**Intestin** : portion de l'appareil digestif (intestin grêle et côlon).

**Intestin grêle** : segment du tube digestif qui relie l'estomac au gros intestin. Il comprend le duodénum, le jéjunum et l'iléon. Il contient des glandes de Lieberkühn.

## L

**Langue** : organe musculaire charnu et mobile qui siège dans la cavité buccale.

**Laryngopharynx** : partie du pharynx située au niveau du larynx.

**Larynx** : organe musculomembraneux des VADS situé entre le pharynx et la trachée. Il comprend les régions sus-glottique, glottique et sous-glottique. En plus de sa fonction de conduit aëriifère, il joue un rôle très important dans la phonation.

**LLETTE** : appendice de chair obstruant l'orifice des fosses nasales durant la déglutition.

## M

**Médiastin** : espace virtuel situé entre les deux cavités pleurales (région médiane du thorax juste en arrière du sternum). Il est divisé en trois compartiments. Le médiastin antérieur loge le cœur et le thymus. Le médiastin moyen comporte la trachée, les ganglions médiastinaux et les gros vaisseaux. Le médiastin postérieur est occupé par l'œsophage et l'espace paraspinal.

**Médullosurrénale** : *cf.* surrénale.

**Mésentère** : organe de soutien de l'intestin grêle formé par l'accolement de deux feuillettes du péritoine.

**Moelle épinière** : portion du système nerveux central située dans le trou des vertèbres.

**Moelle osseuse** : substance molle et grasseuse localisée dans les alvéoles des os plats et les épiphyses des os longs.

## N

**Nasopharynx** : situé derrière les fosses nasales. Syn. cavum.

## O

**Œsophage** : partie du tube digestif située entre le pharynx et le cardia de l'estomac.

**Œsopharynx** : partie du conduit de l'appareil digestif qui fait communiquer le pharynx et l'estomac.

**Orbite** : cavité creusée dans le crâne et contenant le globe oculaire.

**Oropharynx** : région qui comprend le voile du palais, les amygdales et la base de langue. *Cf.* pharynx.

**Ovaires** : glandes mixtes de l'appareil génital féminin profondément situées de chaque côté de la cavité pelvienne en dessous et en arrière des trompes utérines.

## P

**Pancréas** : volumineuse glande mixte annexée au tube digestif (duodénum) située derrière l'estomac. Il présente une tête (extrémité volumineuse), un isthme (portion comprise entre la tête et le corps), le corps (à la forme d'un rectangle) et la queue (extrémité gauche).

**Parathyroïdes** : petites glandes endocrines situées à la face postérieure et de chaque côté de la thyroïde.

**Parotide** : *cf.* glandes salivaires principales.

**Pelvien** : partie basse du bassin où sont situés les organes génitaux et urinaires.

**Pénis** : organe sexuel externe de l'homme. Syn. verge.

**Péritoine** : membrane séreuse de la cavité abdominale qui isole l'appareil digestif du reste des organes. Elle est constituée d'un feuillet pariétal appliqué contre les parois abdominales et pelviennes et d'un feuillet viscéral qui recouvre ou engaine les organes de la cavité abdomino-pelvienne. Entre ces deux feuillettes existe un liquide citrin

(liquide péritonéal) pauvre en cellules en l'absence d'infection.

**Petit bassin** : partie inférieure du bassin qui contient les organes génito-urinaires et le rectum.

**Pharynx** : organe musculomembraneux des VADS situé entre la cavité buccale et l'œsophage. C'est le carrefour des voies de la déglutition et de la respiration. Il comprend le rhinopharynx (portion supérieure située en arrière de la cavité nasale qui fait partie de l'appareil respiratoire), l'oropharynx (partie moyenne en arrière de la cavité buccale) et l'hypopharynx (portion inférieure située en arrière du larynx qui s'ouvre dans l'œsophage).

**Plèvre** : membrane séreuse qui enveloppe les poumons. Elle est constituée de deux feuilletts séparés l'un de l'autre par une quantité infime de liquide (liquide pleural) évalué à 2 ml à l'état normal. Le feuillet pariétal tapisse les côtes, le diaphragme et le médiastin et le feuillet viscéral est appliqué sur les poumons.

**Poumons** : organes spongieux et élastiques situés dans le thorax, séparés par le médiastin et enveloppés dans une membrane séreuse (la plèvre). Ils sont constitués de lobes divisés en segments et de bronches, bronchioles et alvéoles pulmonaires. Le lobe droit comporte trois lobes (supérieur, moyen et inférieur) et le lobe gauche n'en comporte que deux (supérieur et inférieur). Chaque poumon contient une bronche de Nelson (bronche lobaire inférieure). Le poumon gauche contient la lingula, partie du lobe supérieur en forme de langue.

**Prostate** : glande mixte de l'appareil génital masculin située sous la vessie entourant le col vésical et la partie initiale de l'urètre.

**Psoas** : muscles pairs situés dans le bassin.

**Pylore** : jonction de l'estomac et du duodénum.

## R

**Rate** : organe fortement vascularisé situé en dessous de la partie gauche du diaphragme (hypocondre) et derrière l'estomac.

**Rectum** : segment terminal du tube digestif (gros intestin) situé dans le petit bassin en avant du sacrum entre le côlon sigmoïde et l'anus. Il est composé de l'ampoule rectale (partie haute) et du canal anal (partie basse).

**Reins** : organes pairs en forme de haricot situés en arrière du péritoine de part et d'autre de la colonne vertébrale au niveau des dernières vertèbres dorsales et des premières lombaires. Chaque rein est coiffé d'une glande surrénale.

**Rétropéritonéal** : région située en arrière du péritoine qui contient principalement les reins et l'appareil urinaire.

## S

**Sac vittelin** : annexe embryonnaire appendue à l'ombilic.

**Seins (ou glandes mammaires)** : glandes exocrines situées de chaque côté du sternum. Elles présentent sur la face antérieure une saillie formant la pointe du sein (mamelon) entourée d'une zone pigmentée (aréole).

**Sigmoïde** : partie du côlon descendant qui forme ensuite le rectum.

**Sinus** : cavité tapissée de muqueuses, creusée dans un massif osseux. Il existe plusieurs sinus au niveau de la face qui communiquent avec les cavités nasales.

**Sternum** : os plat de la face antérieure du thorax sur lequel les côtes et les clavicules s'articulent.

**Surrénales** : glandes endocrines situées au pôle supérieur de chaque rein qui comporte une partie externe (corticosurrénale ou cortex surrénalien) et une partie interne (médullosurrénale).

## T

**Testicules** : glandes mixtes de l'appareil génital masculin situées dans les bourses (ou scrotum) en avant et en bas de la cavité abdominale.

**Thorax** : partie supérieure du tronc limitée par les côtes, le sternum et le diaphragme. Il contient l'œsophage, la trachée, le cœur et les poumons.

**Thymus** : organe lymphoïde situé dans le médiastin antérieur (en arrière du sternum) au-dessus du cœur.

**Thyroïde** : glande endocrine située à la partie antérieure du cou (en avant de la trachée). Elle est composée de deux lobes latéraux reliés à leur partie inférieure par un isthme. Sa forme ressemble à la lettre H.

**Trachée** : partie comprise entre l'extrémité inférieure du larynx et l'origine des bronches.

**Trompes utérines (ou de Fallope)** : prolongements tubulaires pairs qui s'étendent de la surface de l'ovaire à l'utérus.

## U

**Uretères** : canaux qui prennent naissance dans le bassin des reins, le quittent par le hile pour aboutir dans la vessie.

**Urètre** : canal évacuateur de l'urine qui se présente différemment selon le sexe. Chez la femme, il s'étend de la vessie à la vulve et chez l'homme du col de la vessie à l'extrémité de la verge où il constitue la voie unique à la fois génitale et urinaire.

**Utérus** : organe creux de l'appareil génital féminin situé dans la cavité pelvienne entre la vessie et le rectum. Il est constitué d'une partie basse (le col de l'utérus) et d'une partie plus haute (le corps utérin) séparées par un isthme.

## V

**VADS (voies aérodigestives supérieures)** : ensemble de cavités tapissées de muqueuse regroupant la bouche, la gorge (pharynx et larynx), les sinus de la face et l'oreille interne.

**Vagin** : conduit qui relie le col utérin à la vulve.

**Verge** : *cf.* pénis.

**Vésicule biliaire** : réservoir membraneux situé sous le foie où s'accumule la bile que celui-ci sécrète.

**Vessie** : réservoir (contenant l'urine) situé dans le petit bassin. Elle est plaquée contre la paroi postérieure de la symphyse pubienne.

**Vulve** : ensemble des organes génitaux externes féminins. Elle présente une fente elliptique dont la région centrale forme le vestibule dans lequel s'ouvrent l'urètre (vers l'avant) et le vagin (vers l'arrière).

## Interventions chirurgicales

Une pièce opératoire correspond à l'exérèse chirurgicale partielle ou totale d'une tumeur et éventuellement de l'organe ou des organes sièges de celle-ci. Certaines pièces complexes comprennent

plusieurs organes et/ou le curage des ganglions afférents. Les suffixes techniques associés au nom de l'organe intéressé permettent de construire les termes couramment utilisés en chirurgie :

- -ectomie = exérèse ;
- -plastie = reconstruction ;
- -stomie = anastomose entre un viscère creux et la peau ou entre deux organes ;
- -tomie = incision d'un organe plein ou ouverture d'un organe creux.

## A

**Ablation** : *cf.* exérèse.

**Adénectomie** : consiste à enlever un ou plusieurs ganglion(s) lymphatique(s).

**Adénoïdectomie** : ablation des végétations adénoïdes (petites glandes pharyngées situées au fond de la gorge).

**Amputation** : opération qui consiste à retirer une partie de membre ou un organe important. Elle s'impose pour traiter certains cancers localisés.

**Amygdalectomie** : ablation des deux amygdales palatines.

**Annexectomie** : ablation des annexes utérines (ovaire + trompe).

**Appendicectomie** : ablation de l'appendice.

## B

**Buccopharyngectomie** : ablation d'une partie du fond de bouche et du pharynx.

## C

**Cholécystectomie** : ablation de la vésicule biliaire.

**Colectomie** : ablation partielle ou totale du côlon.

**Colpectomie** : ablation plus ou moins totale du vagin.

**Colpohystérectomie** : extirpation de l'utérus et d'une partie plus ou moins étendue de vagin.

**Conisation** : intervention par voie vaginale visant à retirer une partie du col utérin (cette chirurgie conserve l'utérus).

**Curage axillaire** : consiste à enlever plusieurs ganglions lymphatiques au niveau de l'aisselle.

**Curage ganglionnaire (ou évidemment ganglionnaire)** : exérèse de la totalité ou d'une partie

d'un site de ganglions lymphatiques (curage axillaire, iliaque).

**Curetage** : consiste à nettoyer « gratter » avec une curette une cavité naturelle (utérus).

## D

**Duodéno pancréatectomie** : ablation d'une partie du pancréas et du duodénum.

## E

**Énucléation** : mode particulier d'évidement d'une tumeur. Se dit aussi de l'extirpation de l'œil à travers la conjonctive incisée.

**Exentération** : ablation de tout contenu d'une cavité (évidement de la cavité orbitaire ou du globe oculaire seul).

**Exérèse** : consiste à enlever une lésion, une partie d'organe ou la totalité d'un organe. L'exérèse est dite « élargie » si elle dépasse les limites anatomiques de l'organe.

## G

**Gastrectomie** : ablation partielle ou totale de l'estomac.

**Glossectomie** : ablation partielle ou totale de la langue.

## H

**Hépatectomie** : ablation partielle ou totale du foie.

**Hystérectomie totale avec annexectomie bilatérale (HTAB)** : ablation totale de l'utérus avec ablation des annexes utérines (ovaires + trompes).

**Hystérectomie totale ou sub-totale** : ablation totale ou partielle de l'utérus.

**Hypopharyngectomie** : ablation partielle ou totale du larynx et du sinus piriforme.

## L

**Laparotomie** : consiste à ouvrir la paroi abdominale pour l'examiner (laparotomie exploratrice) ou enlever une lésion.

**Laryngectomie** : ablation partielle ou totale du larynx.

**Lobectomie** : retirer un lobe d'un organe au niveau du poumon, du foie, par exemple.

**Lobo-isthmectomie** : ablation de l'isthme et d'un lobe de la thyroïde.

## M

**Mandibulectomie** : ablation partielle ou totale de la mâchoire inférieure.

**Mammectomie (ou mastectomie)** : ablation complète du sein. Après une mammectomie deux modalités sont possibles, le port d'une prothèse mammaire externe dans le soutien-gorge ou la reconstruction du sein qui peut être immédiate (RMI) ou différée.

**Maxillectomie** : ablation partielle ou totale du maxillaire.

**Métastasectomie** : ablation d'un ou plusieurs foyers métastatiques.

## N

**Néphrectomie** : ablation partielle ou totale d'un rein.

## O

**Œsophagectomie** : résection d'une partie de l'œsophage.

**Omentectomie** : résection plus ou moins étendue du grand épiploon.

**Orchidectomie** : ablation d'un testicule.

**Ovariectomie** : ablation d'un ovaire.

## P

**Panectomie** : exérèse de la plaque aréolomammaire et du cône de tissu sous-jacent.

**Pancréatectomie** : ablation partielle ou totale du pancréas.

**Parotidectomie** : ablation partielle ou totale de la glande parotide.

**Pelvectomie** : ablation d'une partie du pelvis.

**Pelviglossectomie** : ablation d'une partie de la langue et du plancher buccal.

**Pelvimandibulectomie** : ablation d'une partie de la mâchoire inférieure et du plancher buccal.

**Pharyngolaryngectomie** : ablation du larynx et d'une partie de l'hypopharynx (ou sinus piriforme).

**Pneumonectomie** : consiste à retirer la totalité d'un poumon.

**Prostatectomie** : ablation partielle ou totale de la prostate.

**Proctectomie** : ablation partielle ou totale du rectum.

**Pyramidectomie** : ablation des canaux galactophores rétro-aréolaires.

## Q

**Quadrantectomie** : ablation d'un quadrant. Par exemple, pour le sein : QSE (quadrant supéro-externe), QSI (quadrant supéro-interne), QIE (quadrant inféro-externe), QII (quadrant inféro-interne).

## R

**Reconstruction** : consiste à reconstruire un organe enlevé. Elle peut se faire à l'aide d'une prothèse ou par une greffe d'un tissu prélevé sur une autre partie du corps.

**Rectosigmoïdectomie** : ablation du rectum et du côlon sigmoïde.

**Résection** : *cf.* exérèse.

## S

**Salpingectomie** : ablation de l'une ou des deux trompes utérines.

**Splénectomie** : ablation de la rate.

**Segmentectomie** : consiste à retirer un segment d'organe.

## T

**Thyroïdectomie** : ablation partielle ou totale de la thyroïde.

**Tumorectomie** : ablation d'une lésion au sein d'un organe tout en respectant les tissus alentours.

## V

**Vulvectomie** : résection partielle ou totale de la vulve.

## Termes cliniques, macroscopiques et microscopiques

### A

**Acanthose** : épaissement de la peau dû à une multiplication exagérée de cellules.

**Acellulaire** : dépourvu de cellules.

**Achromatique** : substance cellulaire qui ne prend pas ou peu les colorants.

**Achromique** : sans pigment.

**Acidophile** : composant cellulaire ou tissulaire ayant une affinité élective pour les colorants acides (éosine). Syn. éosinophile.

**Acineux, euse** : en forme de grappe de raisin.

**Acinus** : cavité arrondie, élément d'une structure en grappe (glande).

**Adénoïde** : qui a rapport au tissu ganglionnaire lymphoïde.

**Adénomateux, euse** : qui se rapporte à un adénome.

**Adénopathie** : toute affection d'un ganglion lymphatique qui a augmenté de volume et/ou paraît cliniquement suspect.

**Adipeux, euse** : de nature grasseuse.

**Agrégat** : ensemble de particules inertes.

**Alvéolaire** : dont l'architecture ressemble aux alvéoles pulmonaires (en forme de nuage).

**Amphophile** : composant ayant une égale affinité pour les colorants acides et basiques.

**Amyloïde/amylose** : ensemble de substances de nature protéique ou glycoprotéique et de composition chimique complexe et variable ayant en commun un aspect éosinophile homogène (coloration HES) et certaines affinités tinctoriales (colorations spéciales).

**Anaplasique** : caractérise un processus tumoral dans lequel cytologie et architecture sont très éloignées de celles du tissu ayant donné naissance à la tumeur. Syn. indifférencié.

**Anastomosé** : communication entre deux conduits de même nature (entre deux cavités). En

microscopie, fibrilles indépendantes les unes des autres qui semblent former un réseau (en forme de grillage).

**Anévrisme** : dilatation segmentaire d'une artère avec perte de parallélisme de ses parois à l'origine d'une cavité remplie de sang et de caillots.

**Angiectasie** : dilatation pathologique non tumorale des vaisseaux.

**Angiomateux, euse** : qui se rapporte à un angiome.

**Anhiste** : image microscopique dépourvue de structures cellulaires ou tissulaires reconnaissables.

**Anisocaryose** : inégalité de taille des noyaux au sein d'une population cellulaire homogène. Syn. anisonucléose.

**Anisochromie** : inégalité de coloration.

**Anisocytose** : inégalité de taille des cellules au sein d'une population cellulaire.

**Anisonucléose** : inégalité de la taille des noyaux. Syn. anisocaryose.

**Anthracose** : infiltration des poumons par la poussière de charbon inhalée.

**Anthracosique** : pigment le plus souvent retrouvé au niveau des ganglions cervicaux et des voies aérodigestives supérieures (VADS), chez le fumeur par exemple.

**Anucléé** : dépourvu de noyau.

**Apex** : sommet ou extrémité.

**Apical** : qui se rapporte à l'apex d'une cellule ou d'un organe (apex pulmonaire).

**Aplasia** : arrêt transitoire ou définitif de la multiplication cellulaire dans un tissu qui doit normalement se renouveler en permanence (aplasie médullaire). Absence d'un organe provoquée par l'absence de développement de son ébauche embryonnaire.

**Arachnoïde/arachnoïdien, ienne** : en forme de toile d'araignée.

**Arborescent** : qui a la forme d'un arbre.

**Argentaffine/argyrophile** : substances cellulaires ou tissulaires qui se colorent par les sels d'argent.

**Artefact** : aspect anormal (structure artificielle) secondaire aux différentes manipulations

techniques nécessaires à l'obtention des préparations microscopiques.

**Aster** : en forme d'étoile. Image cytologique formée par des microtubules.

**Atrophie cellulaire** : diminution réversible de la masse fonctionnelle d'une cellule qui se traduit par une réduction de taille et par la raréfaction ou la disparition de ses constituants normaux (vacuoles lipidiques, myofibrilles...).

**Atrophie tissulaire** : diminution de la masse d'un tissu ou d'un organe due à l'atrophie des cellules qui le composent.

**Atypie/atypique** : caractères cytologiques et architecturaux différents de ceux du tissu qui lui a donné naissance.

**Atypie cytocellulaire** : anomalie morphologique nucléaire et/ou cytoplasmique.

**Autolyse** : autodestruction cellulaire ou tissulaire.

**Avasculaire** : dépourvu de vaisseaux sanguins ou lymphatiques.

**Azurophile** : qui se colore en rouge par l'éosinate d'azur.

## B

**Basaloïde** : ressemblant aux cellules de la couche basale de l'épiderme.

**Basophile** : composant cellulaire ou tissulaire ayant une affinité élective pour les colorants basiques (hématoxyline).

**Bénin, igne** : se dit d'une maladie ou d'une tumeur non cancéreuse (sans gravité).

**Biconcave** : en creux (courbure vers l'intérieure).

**Binucléaire/binucléé** : qui comporte deux noyaux.

**Borderline (ou lésion frontière)** : tumeur à la limite de la malignité, ce qui signifie qu'elle est intermédiaire entre une tumeur bénigne et une tumeur maligne.

**Botryoïde** : ayant la forme d'une grappe de raisin.

## C

**Caillot** : résultat de la coagulation du sang.

**Calcification** : dépôts anormaux de calcium dans les tissus. Macroscopiquement, induration pierreuse de couleur blanc opaque.

**Calcosphérite** : calcification observée dans certaines tumeurs (carcinome papillaire).

**Caliciforme** : en forme de gobelet.

**Canalaire** : en forme de canal.

**Cancer** : terme général donné aux tumeurs malignes.

**Capsule tumorale** : plan fibreux séparant plus ou moins nettement les cellules tumorales du tissu préexistant.

**Carcinoïde** : terme désignant l'architecture qu'une prolifération tumorale adopte dans certaines tumeurs endocrines et neuro-endocrines.

**Carcinomateux, euse** : qui ressemble à un carcinome.

**Carcinose** : désigne une généralisation cancéreuse caractérisée par la grande diffusion et la petite taille de nombreux foyers tumoraux (carcinose péritonéale).

**Caryolyse** : lésion nucléaire irréversible témoignant de la mort cellulaire. Le noyau est totalement détruit, lysé.

**Caryopycnose** : variété d'altération nucléaire, le noyau devient très petit, punctiforme avec une chromatine dense.

**Caryorrhixis** : variété de destruction nucléaire, la chromatine du noyau est fragmentée en petites mottes.

**Caséum/caséux, euse** : macroscopie, substance blanche grisâtre, molle, opaque qui rappelle l'aspect du fromage blanc (lait caillé). Microscopie, substance anhiste, éosinophile finement granuleuse ou homogène. Elle est caractéristique de la tuberculose et peut être observée au cours d'autres maladies infectieuses.

**Cérébrospinal** : relatif au cerveau et à la moelle épinière.

**Chéloïde** : lésion hypertrophique du derme survenant après une plaie ou spontanément.

**Chiasmatisque** : relatif au chiasma (nerf optique).

**Chondroïde** : qui a l'aspect du cartilage.

**Choroïdien, ienne** : relatif à la choroïde (rétine).

**Chromaffine** : qui présente une grande affinité de coloration pour le chrome ou les sels de chrome.

**Chromatine** : matériel nucléaire possédant une affinité pour les colorants basiques.

**Chromatinien/chromatique** : relatif à la couleur ou à la chromatine.

**Chromophile** : composant cellulaire ou tissulaire ayant une forte affinité pour les colorants acides et basiques.

**Chromophobe** : composant cellulaire ou tissulaire n'ayant d'affinité ni pour les colorants acides ni pour les colorants basiques.

**Clarification** : peu cellulaire.

**Colloïde** : substance visqueuse qui ressemble à de la gelée. Syn. muqueux.

**Congestion** : excès de sang dans un organe ou dans un territoire de l'organisme.

**Corps étranger** : élément non digestible par l'organisme.

**Cribriforme** : aspect en trou de « gruyère ».

**Crypte** : cavité ou anfractuosité présente à la surface d'un organe.

**Cutané** : relatif à la peau.

**Cyanophile** : substance colorée en bleue (les noyaux par l'hémalum ou l'hématoxyline). Syn. basophile.

**Cytolyse** : destruction des cellules.

## D

**Dermoïde** : structure qui rappelle celle de la peau (derme).

**Desmoplasie** : formation nodulaire à centre clair entourée de réticuline.

**Desmoplastique** : plaque discoïde de liaison intercellulaire observée surtout au niveau des tissus épithéliaux et comprenant une condensation de filaments cytoplasmiques.

**Desquamation (ou exfoliation)** : dissociation des cellules superficielles d'un épithélium malpighien qui se séparent les unes des autres.

**Diapédèse** : passage actif à travers les parois vasculaires des éléments du sang. Ce passage précède la migration de ces cellules vers un foyer inflammatoire.

**Différenciation ductale** : qui ressemble à des glandes.

**Différencié** : caractères cytologiques et architecturaux qui sont proches de ceux du tissu qui lui a donné naissance.

**Digitiforme** : projection en doigts de gant.

**Döderlein** : bacille physiologique faisant partie de la flore habituelle du vagin.

**Ductulaire** : structure d'un canal, d'une glande.

**Dyscaryose** : anomalie nucléaire observée dans les dysplasies, caractérisée essentiellement par une irrégularité de la forme des noyaux qui n'est plus ronde.

**Dyskératose** : kératinisation au sein de cellules individuelles qui sont de petite taille à cytoplasme éosinophile et qui conservent souvent un noyau pycnotique.

**Dysplasie** : désigne la survenue d'atypies cytonucléaires en l'absence de signes d'invasion franche.

**Dystrophie** : irrégularité nucléaire ou altération tissulaire liées à un trouble nutritionnel (hormonal, métabolique, nerveux, vasculaire).

## E

**Ectasie** : dilatation d'un conduit, d'un segment d'organe creux ou d'un vaisseau.

**Ectodermique** : relatif à l'ectoderme (peau, phanères, glandes cutanées, système nerveux et organes sensoriels).

**Ectopique** : anomalie de situation d'un tissu ou d'un organe.

**Embole (ou embol)** : corps figuré (endogène ou exogène) migrant dans la circulation.

**Embole tumoral (néoplasique)** : amas de cellules tumorales circulant dans le système lymphatique ou vasculaire.

**Embolie** : obstruction d'un vaisseau sanguin par un caillot ou un corps étranger (exogène ou endogène).

**Empyème** : présence de pus dans une cavité préexistante (pleurésie, péritonite).

**Encapsulé** : se dit d'une tumeur circonscrite entourée d'une enveloppe fibreuse.

**Encéphaloïde** : de consistance molle.

**Endocrinien** : relatif aux glandes endocrines ou à leurs sécrétions.

**Endométrioïde** : muqueuse tubaire devenue identique à la muqueuse utérine.

**Éosinophile** : qui se colore par l'éosine. Cf. acidophile.

**Épanchement** : accumulation d'un liquide organique dans une cavité ou un tissu qui normalement n'en contient pas ou peu (liquide péritonéal ou pleural ou synovial).

**Épidermoïde** : dont la nature rappelle celle de l'épiderme. Mature ou différencié, lorsque les cellules rappellent celles du corps muqueux de Malpighi. Immature ou indifférencié, lorsque les cellules rappellent celles de la couche basale de l'épiderme.

**Épithélioïde** : qui ressemble à l'épithélium mais qui n'en est pas.

**Étiologie** : étude des causes des maladies.

**Exfoliation** : cf. desquamation.

**Exsudat** : liquide organique (fibrineux, muqueux ou séreux) riche en protéines qui s'accumule dans le tissu interstitiel (œdème) ou dans une cavité (épanchement).

## F

**Falciforme** : en forme de faucille.

**Fasciculé** : qui est disposé en faisceaux. Tumeur où dominent les faisceaux de fibres de conjonctives ou nerveuses.

**Fibreux, euse** : cf. scléreux.

**Fibrillaire** : composé de filaments très déliés.

**Fibrineux** : composé de fibrine.

**Fibrinoïde** : adjectif qualifiant un dépôt, une infiltration ou une nécrose. Substance protéique anhiste présentant aux colorations usuelles l'aspect de la fibrine.

**Fibroblastique** : nom donné à une composante fusiforme.

**Fibro-histiocytaire** : composé d'éléments fibreux et histiocytaires.

**Fibro-hyalin** : composé d'éléments fibreux et de collagène.

**Fibrokystique** : tissu composé d'éléments fibreux et de kystes (dystrophie fibrokystique du sein).

**Fibromateux, euse** : qui se rapporte à un fibrome ou qui en a les caractéristiques.

**Fibromyxoïde** : double composant, zone myxoïde avec cellules fusiformes ou étoilées.

**Fistule** : canal anormal faisant communiquer deux cavités normales ou néoformées entre elles ou une cavité avec l'extérieur.

**Focal** : qui concerne un seul foyer.

**Folliculaire** : qui se rapporte à un follicule ou qui est constitué de follicules.

**Follicule** : structure en forme de petit sac.

**Follicule lymphoïde** : agrégat de lymphocytes très entassés.

**Follicule ovarien (ou de De Graaf)** : cavité liquidienne située à l'intérieur de l'ovaire dans laquelle se développe l'ovule.

**Fongiforme** : en forme de champignon.

**Fongoïde** : qui ressemble aux champignons.

**Fusiforme/fusocellulaire** : en forme de navette ou en fuseau.

## G

**Galactorrhée** : écoulement de liquide par le mamelon en dehors de toute période de grossesse ou d'allaitement.

**Gangrène** : terme désignant certaines variétés de nécrose tissulaire.

**Glandulaire** : d'origine épithéliale glandulaire.

**Glomérule** : structure glandulaire, nerveuse ou vasculaire ayant une forme pelotonnée.

**Glycogène** : inclusion se présentant sous forme de fines granulations ou de mottes plus épaisses dans le cytoplasme de certaines cellules (hépatocyte).

**Goître** : au sens clinique, désigne toute augmentation de volume de la thyroïde, quelle qu'en soit la nature.

**Granulation** : inclusion présente dans les cellules visibles au microscope optique.

## H

**Hématome** : accumulation de sang intratissulaire.

**Hémorragie/hémorragique** : issue de sang hors des cavités vasculaires.

**Hémosidérine** : produit de dégradation de l'hémoglobine (pigment riche en fer d'origine

sanguine). Elle se présente sous l'aspect de granulations brunes aux colorations de routine, de formes irrégulières et groupées en amas.

**Hépatique/hépatocytaire** : qui se rapporte aux cellules du foie (hépatocytes).

**Hétérogène** : qui est composé d'éléments de nature différente.

**Histiocytoïde** : qui reflète l'aspect histiocytaire.

**Homogène** : ensemble de structures de même nature ou réparties de façon uniforme.

**Hyalin, e** : désigne des substances disparates d'aspect vitreux, homogène et éosinophile sur les colorations standard.

**Hyperchromatisme/hyperchromatique** : noyau augmenté de volume avec une chromatine dense souvent répartie de façon anormale (en mottes).

**Hyperkératose** : épaissement de la couche de kératine superficielle faite de squames anucléées ou ayant conservées des noyaux pycnotiques.

**Hyperplasie cellulaire** : augmentation anormale de la cellule sans modification de son architecture.

**Hyperplasie tissulaire** : augmentation anormale de la masse d'un tissu, d'un organe ou d'une portion d'organe due à une augmentation du nombre de cellules qui le composent.

**Hypertrophie cellulaire** : augmentation réversible de la taille des cellules liée à une augmentation du volume ou du nombre de ses constituants.

**Hypertrophie tissulaire** : augmentation réversible de la masse d'un tissu ou d'un organe due à une hypertrophie cellulaire ou à une hyperplasie cellulaire ou les deux à la fois.

## I

**Idrosadénoïde** : syn. oncocytaire ou oxyphile.

**Immature** : terme spécifiant le type ou l'aspect d'une lésion (embryonnaire, sans kératinisation, peu différenciée).

**Indifférencié** : caractères cytologiques et architecturaux qui ont régressé par rapport au tissu qui lui a donné naissance. Syn. anaplasique.

**Induration** : durcissement anormal d'un tissu.

**Infiltration tumorale ou invasion tumorale** : envahissement des tissus par une prolifération tumorale maligne.

**Inflammation** : phénomène réactionnel secondaire à tous types d'agression (microbienne, virale).

**In vitro** : phénomènes observés en dehors de l'organisme grâce à des méthodes permettant de cultiver des cellules dans un milieu artificiel contrôlé.

**In vivo** : phénomènes se produisant dans un organisme vivant.

**Ischémie/ischémique** : insuffisance ou arrêt de l'apport sanguin dans un organe ou un tissu (embolie, sténose, thrombose).

## K

**Kératinisation** : transformation des couches superficielles de la peau ou d'une muqueuse qui se couvre de kératine.

**Kyste** : cavité remplie de liquide ou d'une substance plus ou moins fluide.

**Kystique** : relatif à un kyste.

## L

**Lacune** : petite dépression ou cavité qui peut être naturelle ou pathologique.

**Lésion** : toute altération morphologique qui constitue la cause ou la conséquence d'un processus pathologique au sein d'un tissu ou d'un organe.

**Lésion *borderline*** (ou lésion frontière) : désigne un aspect histologique dont les caractères cytologiques et architecturaux ne permettent pas d'affirmer la malignité.

**Leucorrhée** : écoulement muqueux ou mucopurulent.

**Linite** : terme macroscopique désignant une variété particulière d'adénocarcinome infiltrant du tube digestif et particulièrement de l'estomac, représenté par un épaissement et une induration de la paroi.

**Lipoïde/lipoïdique** : qui ressemble au tissu graisseux.

**Lobulaire (ou lobulé)** : constitué de lobules (petits lobes) ou en forme de lobule.

**Lymphangite** : inflammation des vaisseaux lymphatiques.

**Lymphangite carcinomateuse** : présence de cellules malignes dans les vaisseaux lymphatiques.

**Lymphocèle** : poche lymphatique contenant un liquide clair (la lymphe).

**Lymphoprolifératif (syndrome)** : pathologie maligne caractérisée par une prolifération anormale de cellules lymphoïdes.

**Lyse** : destruction cellulaire sous l'action de substances chimiques.

## M

**Malin, maligne** : se dit d'une affection cancéreuse.

**Malpighien** : syn. épidermoïde non kératinisé.

**Mastopathie** : terme générique désignant toute modification de la glande mammaire en générale bénigne.

**Mature (ou différencié)** : exclusivement fait de tissus adultes ou foetaux. Mature = avec kératinisation.

**Médullaire** : qui à rapport à la moelle osseuse, à la moelle épinière ou à la partie centrale de la glande surrénale. Certains néoplasmes épithéliaux d'architecture solide.

**Mélanique** : caractérisé par la présence de mélanine, pigment brun-noir sur les préparations non colorées ou colorées par les colorations de routine.

**Mésenchymateux** : qui se rapporte aux tissus mous.

**Métaplasie/métaplasique** : anomalie tissulaire acquise résultant de la transformation d'un tissu normal en un autre tissu normal de structure et de fonction différente. Métaplasie épithéliale (métaplasie malpighienne d'un revêtement cylindrique (bronche, endocol, utérin) ou métaplasie intestinale d'une muqueuse gastrique), métaplasie conjonctive (osseuse du cartilage).

**Métastase (ou localisation secondaire)/métastatique** : prolifération de cellules malignes dans un organe ou un tissu situées à distance de la tumeur primitive avec ou sans relation de contiguïté avec elle.

**Microcalcifications** : dépôts calciques microscopiques ou millimétriques. Ce sont des signes d'alerte de certains cancers mammaires.

**Mixte** : architecture tissulaire formée d'une double composante (tubulopapillaire).

**Môle hydatiforme** : dégénérescence prenant la forme d'un kyste.

**Mucine (ou matériel myxoïde)** : principal constituant du mucus. C'est une glycoprotéine qui assure une fonction structurale de protection principalement dans les voies aériennes et digestives.

**Mucineux, euse (ou mucinoïde)** : qui ressemble à la mucine.

**Mucoïde** : qui a l'aspect du mucus.

**Mucus** : substance translucide visqueuse et filante.

**Muqueux, euse** : qui sécrète du mucus.

**Mûriforme** : plurinucléée.

**Myélinisé** : qui est entouré de myéline ou qui en possède.

**Myéloïde** : qui se rapporte à la moelle osseuse.

**Myéloprolifératif (syndrome)** : ensemble des maladies caractérisées par une prolifération primitive d'une ou plusieurs lignées hématopoïétiques de la moelle.

**Myxoïde** : qualifie les tissus conjonctifs tumoraux ou non riches en mucosubstances et qui ont macroscopiquement un aspect gélatineux.

## N

**Nævus** : malformation cutanée.

**Nécrose/nécrotique** : terme morphologique désignant les différentes modifications macroscopiques ou microscopiques qui résultent de la mort d'une cellule ou d'un tissu. Nécrose caséuse (tuberculose), nécrose fibrinoïde (tissus interstitiel et vasculaire).

**Néoplasie/néoplasme** : tissu de formation récente constituant une tumeur (bénigne ou maligne) due à un processus de multiplication cellulaire anarchique qui échappe à l'homéostasie.

**Néoplasique** : terme employé pour désigner une tumeur cancéreuse (maligne).

**Neurofibrille** : terme désignant des filaments enchevêtrés.

**Neutrophile** : composant n'ayant d'affinité ni pour les colorants acides, ni pour les colorants basiques.

**Nodule/noduleux/nodulaire** : formation naturelle ou pathologique plus ou moins arrondie, circonscrite (à contour bien délimité), de consistance plus ou moins ferme qui constitue une tuméfaction au sein d'un organe ou à sa surface.

**Nodule de perméation** : nodule cutané ou muqueux localisé au voisinage d'un cancer ou de sa cicatrice d'exérèse et représentant de petits foyers métastatiques par dissémination vasculaire locale.

**Noyau nu** : noyau isolé dépourvu de cytoplasme.

**Noyau pycnotique** : noyau contenant une chromatine condensée.

**Nucléé** : qui possède un noyau.

**Nucléolé** : cellule avec un nucléole.

## O

**Œdème** : infiltration séreuse de divers tissus et en particulier du tissu conjonctif.

**Œuf de Naboth** : kyste du col utérin.

**Oncocytaire** : cellule emplies de mitochondries.

**Orthokératose** : kératinisation de morphologie normale avec disparition des noyaux (faite de squames anucléées de kératine).

**Ostéoïde** : qui ressemble à de l'os, au tissu osseux.

**Ovoïde** : de forme plus ou moins ovale.

## P

**Palissadique** : formé de cellules jointives.

**Papillaire** : en forme de papilles. Nom donné aux tumeurs de différente nature qui présentent à leur surface des papilles hypertrophiées.

**Papille** : axe conjonctif bordé d'un épithélium.

**Parabasale** : trouble de la maturation se traduisant par une kératinisation de la surface d'un épithélium avec persistance des noyaux.

**Parakératose** : kératinisation avec persistance de noyaux (faite de squames conservant un noyau pycnotique).

**Paucicellulaire** : pauvre en cellules.

**Peau d'orange** : aspect capitonné de la peau (pores dilatés).

**Pédicule/pédiculé** : sorte de « petit pied » individualisé qui rattache la tumeur à la peau, à un organe ou à une muqueuse.

**Pédoncule** : pièce mince et allongée qui relie deux organes ou deux parties d'organe.

**Périnéal** : relatif à la partie inférieure du bassin entre les parties génitales et l'anus.

**Péritonéal** : relatif au péritoine.

**Pigment** : substance particulière colorée qui donne une coloration au tissu qui la contient (hémosidérine, mélanine).

**Piriforme** : en forme de poire.

**Pléomorphe** : qui a des variations de différenciations cytomorphologiques.

**Pléomorphisme nucléaire** : noyaux de taille et de forme variable.

**Pleurésie** : inflammation de la plèvre qui provoque ou non un épanchement. L'espace se remplit de liquide qui finit par séparer les deux feuillets.

**Pneumothorax** : épanchement d'air ou de gaz dans la cavité pleurale.

**Poly-adénoïde** : image histologique ressemblant à plusieurs « cylindres » accolés, observée au sein de certains adénocarcinomes habituellement bien différenciés. Syn. cribiforme.

**Polymorphe** : qui présente des aspects différents.

**Polype** : terme macroscopique désignant toute formation en saillie, pédiculée ou sessile à la surface d'une muqueuse.

**Polypoïde** : qui à la forme d'un polype (en grappe).

**Prismatique** : qui a la forme d'un cylindre. Syn. cylindrique.

**Prolifération** : qui tend à persister et s'accroître.

**Protubérance** : saillie en forme de bosse.

**Pseudo-tumeur** : processus simulant une tumeur au plan macroscopique ou microscopique.

**Punctiforme** : noyau qui devient très petit.

**Pus** : produit de nécrose caractérisé par la présence d'un grand nombre de polynucléaires altérés (pyocytes).

**Pustule** : soulèvement circonscrit de l'épiderme contenant un liquide purulent.

**Pycnotique** : noyau rétracté (condensé) et hypercolorable.

## R

**Rachis** : qui se rapporte à la colonne vertébrale.

**Récidive (ou rechute)** : réapparition d'une tumeur dans un délai variable après un traitement supposé radical.

**Rémission** : absence de tout signe d'évolution d'un cancer après traitement.

**Réniforme** : en forme de haricot.

**Rénitent** : organe ou tumeur qui est de consistance élastique et ferme sans être dure.

**Réticulaire/réticulé** : en forme de réseau.

**Rosette** : image donnée par la coupe transversale d'un acinus ou d'un tubule glandulaire. Aspect cytologique de cellules qui s'agencent en place donnant des aspects de rosette.

**Rupture capsulaire (RC)** : effraction de la capsule d'un ganglion lymphatique.

## S

**Sarcomateux, euse** : qui ressemble à un sarcome.

**Scléreux, euse** : terme macroscopique qualifiant (sous-entendant la dureté) l'induration d'une lésion correspondant le plus souvent à une fibrose. Terme microscopique utilisé pour marquer la formation excessive de collagène.

**Septum** : cloison ou membrane qui séparent deux cavités d'un organe.

**Séreux, euse** : qui a l'aspect d'un produit fluide (d'une sérosité).

**Sérosité** : liquide contenu dans les cavités des séreuses.

**Sessile** : base d'implantation qui s'insère sur un organe, une muqueuse sans être porté par un pédoncule.

**Sinusoïde** : capillaire de grand diamètre. Espace où circule le sang (optiquement vide) entre les travées cellulaires.

**Spicule** : formation microscopique de calcaire incluse dans les tissus.

**Spinal** : relatif à la colonne vertébrale (moelle épinière ou rachis).

**Spinocellulaire** : relatif aux cellules unies par des ponts d'union ou épines.

**Splénique** : qui se rapporte à la rate.

**Spongieux, euse** : qui a l'apparence multialvéolaire d'une éponge.

**Spumeux, euse** : qui a l'aspect de l'écume. Désigne l'aspect du cytoplasme d'une cellule comportant de nombreuses vacuoles optiquement vides.

**Squameux, euse** : caractérisé par la présence de squames (particules ou lamelles de la peau).

**Squirrhe/squirrheux** : terme macroscopique désignant certaines variétés de cancers particuliers par leur dureté et leur caractère rétractile. Cet aspect est lié à l'existence d'un stroma fibreux abondant.

**Stéatose** : terme généralement réservé au foie (stéatose hépatique) pour dégénérescence graisseuse.

**Stellaire** : en forme d'étoile.

**Sténosé** : qui présente un rétrécissement du calibre d'un orifice, d'un canal ou d'un vaisseau.

**Stéréocil** : microvillosité particulièrement longue visible au microscope optique.

**Stratifié** : disposé en couches superposées.

**Stroma** : contingent conjonctivovasculaire présent dans un cancer mais n'étant pas lui-même de nature tumorale.

**Syncytiale** : masse cytoplasmique résultant de la fusion de plusieurs cellules et comportant plusieurs noyaux.

**Syndrome de Pepper** : syndrome dû (chez le nourrisson) au développement de métastases hépatiques d'un neuroblastome surrénalien (neuroblastome stade IV).

## T

**Télangiectasie** : dilatation de petits vaisseaux cutanés (fines lignes rouges parfois violettes).

**Thèque** : groupement d'une dizaine de cellules.

**Thrombus** : masse sanguine coagulée (caillot) dans une cavité vasculaire.

**Trabéculaire** : structure (en treillis) disposée en petite travée, en nappe.

**Transsudat** : liquide organique pauvre en protéines. *Cf.* exsudat.

**Tubercule** : petite masse arrondie observée à la surface ou dans la profondeur des tissus.

**Tuberculoïde** : qui ressemble à la tuberculose. Terme utilisé pour désigner des lésions qui comportent des cellules épithélioïdes et des cellules géantes.

**Tubulaire** : en forme de tube.

**Tuméfaction** : terme clinique désignant une augmentation pathologique de volume d'un organe ou le gonflement dans une région limitée du corps.

**Tumeur** : masse anormale de tissu ou augmentation de volume d'une partie d'un organe due à une prolifération cellulaire bénigne ou maligne. Elle peut être solide ou kystique. Syn. néoplasie, néoplasme.

**Tumeur maligne secondaire** : *cf.* métastase.

**Tumoral** : relatif à l'aspect d'une tumeur.

## U

**Ulcération** : perte de substance d'un revêtement cutané ou muqueux (qui ne cicatrise pas ou peu).

## V

**Vacuole** : enclave inerte (optiquement vide) se trouvant dans le cytoplasme.

**Verre dépoli (en)** : inclusion nucléaire acidophile. Aspect optiquement vide.

**Vésiculaire** : petite cavité glandulaire qui a la forme d'une vésicule (en petit sac).

**Vésicule** : travée épithéliale séparée les unes des autres par un vide réseau capillaire.

**Villeux** : qui a l'aspect chevelu.

**Villosité** : petite saillie en doigts de gant.

## Terminologie des lésions bénignes, malignes et pseudo-tumorales

### A

**Abcès** : collection purulente qui se développe dans les tissus, abcès chaud (accompagné de phénomènes inflammatoires), abcès froid (sans réaction inflammatoire).

**Abrikosoff (tumeur d')** : tumeur bénigne siégeant sur la peau et les muqueuses respiratoires et digestives. Syn. tumeur à cellules granuleuses.

**Adamantome** : tumeur qui se développe sur le tissu de revêtement de la gencive et reproduit l'émail dentaire. Elle peut aussi se localiser sur la mandibule ou le maxillaire.

**Adénite** : remaniement inflammatoire aigu, subaigu ou chronique d'un ganglion lymphatique. Syn. lymphadénite. Elle peut être spécifique (aiguë, chronique ou subaiguë) ou non spécifique (abcédée, tuberculoïde).

**Adénocarcinome** : tumeur maligne développée aux dépens d'un épithélium glandulaire. Elle peut être bien différenciée, moyennement ou peu différenciée. Syn. carcinome glandulaire.

**Adénofibrome** : tumeur bénigne fréquente dans le sein comportant à la fois une prolifération d'un épithélium glandulaire et une prolifération du tissu conjonctif. Syn. Fibroadénome.

**Adénolymphome** : tumeur bénigne des glandes salivaires. Syn. cystadénolymphome, tumeur de Warthin.

**Adénome** : tumeur bénigne développée dans une muqueuse ou dans une glande.

**Adénome pléomorphe** : tumeur bénigne de type salivaire. Syn. tumeur mixte.

**Adénome vésiculaire** : adénome de la thyroïde.

**Adénose** : prolifération du tissu glandulaire.

**Adénose sclérosante** : hyperplasie des lobules désorganisés par une sclérose interstitielle marquée. Syn. adénose lobulaire.

**Androblastome** : tumeur du testicule qui se développe aux dépens des cellules de Sertoli et tumeur de l'ovaire avec des cellules semblables à celles du testicule (cellules de Sertoli et de Leydig).

**Angioblastome** : lésion bénigne qui touche le nourrisson ou le jeune enfant au niveau du cou ou de la partie supérieure du tronc. Syn. angioréticulome, hémangioblastome.

**Angio-endothéliome** : variété d'angiome d'évolution maligne.

**Angiome** : tumeur bénigne constituée par la prolifération de divers types de vaisseaux. L'angiome

capillaire siège surtout dans la peau et les muqueuses et l'angiome caverneux siège dans la peau, le foie, les muscles (langue surtout).

**Angiosarcome** : tumeur maligne constituée par une prolifération maligne de structures vasculaires (sanguines ou lymphatiques), de localisations préférentielles la peau, les tissus mous, le sein et le foie. Syn. hémangio-endothéliome malin.

**Angiosarcome radio-induit** : variété de sarcome survenant dans le champ d'irradiation après une radiothérapie antérieure.

**Apudome** : tumeur développée aux dépens des cellules APUD.

**Aschoff (nodule d')** : lésion siégeant essentiellement dans le tissu conjonctif.

**Askin (tumeur d')** : forme particulière de neuro-épithéliome de localisation thoracique qui atteint exclusivement les enfants ou les adolescents.

**Astroblastome** : variété de gliome cérébral développée chez l'adulte aux dépens des astroblastes.

**Astrocytome** : variété de gliome bénin développée aux dépens des astrocytes et siégeant dans le cerveau et le cervelet.

## B

**Besnier-Boeck-Schaumann – BBS (maladie de)** : granulome formé de cellules épithélioïdes et de cellules géantes sans nécrose tissulaire entouré d'une couronne de lymphocytes. Syn. lymphogranulomatose bénigne.

**Bolande (tumeur de)** : *cf.* néphrome mésoblastique.

**Borderline** : *cf.* lésion frontière.

**Bowen (maladie de)** : variété intra-épidermique de lésion précancéreuse ou carcinome *in situ* cutané siégeant sur le tronc et les membres.

**Brenner (tumeur de)** : tumeur de l'ovaire.

**Burkitt (lymphome de)** : *cf.* lymphome de Burkitt.

## C

**Carcinoïde (tumeur)** : tumeur bien différenciée siégeant le plus souvent dans le tube digestif, parfois dans les poumons et les bronches.

**Carcinome** : d'origine grecque « crabe ». Tumeur épithéliale maligne affectant soit le tissu de revêtement (épiderme, muqueuses), soit le tissu glandulaire. Ce mot à remplacer le terme épithélioma.

**Carcinome à cellules de Merkel** : carcinome de la peau siègeant de préférence à la tête et au cou.

**Carcinome acineux** : carcinome glandulaire avec prédominance de structures glanduliformes (acini et tubules).

**Carcinome adénoïde kystique** : carcinome infiltrant localisé principalement au niveau du sein ou des glandes salivaires. Syn. cylindrome.

**Carcinome alvéolaire du poumon** : variété de carcinome diffus ou localisé riche en cellules mucosécrétantes.

**Carcinome anaplasique** : carcinome dont il est impossible de préciser la nature du tissu. Syn. carcinome indifférencié.

**Carcinome à petites cellules** : carcinome de haut degré de malignité dont la localisation la plus fréquente est bronchopulmonaire.

**Carcinome apocrine** : carcinome essentiellement formé de cellules à l'abondant cytoplasme éosinophile.

**Carcinome basaloïde** : carcinome dont l'architecture et la cytologie rappellent celles des carcinomes basocellulaires cutanés.

**Carcinome basocellulaire** : variété de carcinome épidermoïde constitué de cellules basales, de siège le plus souvent cutané et de localisation sur le visage.

**Carcinome bien différencié** : carcinome reproduisant un tissu dont l'aspect est proche de celui d'un tissu normal.

**Carcinome bronchiolo-alvéolaire** : adénocarcinome pulmonaire dans lequel les cellules tumorales se développent sur les parois d'alvéoles préexistantes.

**Carcinome bronchique** : carcinome développé dans les zones périphériques du poumon.

**Carcinome canalaire** : adénocarcinome né au niveau des canaux galactophores du sein.

**Carcinome canalaire infiltrant (CCI)** : adénocarcinome du sein où les cellules se disposent

généralement en îlots, en travées ou en formations glanduliformes.

**Carcinome canalaire *in situ* (CCIS)** : adénocarcinome du sein constitué de cellules de type canalaire localisées à l'intérieur de l'arbre galactophorique et qui n'envahissent pas le tissu conjonctif. Syn. carcinome canalaire non infiltrant ou non invasif.

**Carcinome colloïde ou colloïde muqueux** : cf. carcinome mucineux.

**Carcinome cribriforme** : carcinome glandulaire composé de grandes structures acineuses emplies de cellules épithéliales.

**Carcinome différencié** : carcinome reproduisant un tissu dont l'aspect histologique est proche de celui d'un tissu normal.

**Carcinome embryonnaire** : carcinome formé de cellules embryonnaires très peu différenciées.

**Carcinome épidermoïde** : carcinome reproduisant de façon plus ou moins élaborée la structure d'un épithélium malpighien et naissant habituellement mais pas toujours dans un épithélium de ce type. Il siège principalement au niveau de l'œsophage, du col utérin et des bronches. Syn. carcinome malpighien, carcinome squameux. Il existe des formes différenciée mature (comprend une kératinisation), différenciée immature (dépourvu de kératine), peu différenciée (dont l'origine épidermoïde est difficile à reconnaître).

**Carcinome folliculaire** : variété de cancer de la thyroïde.

**Carcinome hépatocellulaire** : carcinome du foie. Syn. hépatocarcinome.

**Carcinome indifférencié** : carcinome dont il est impossible avec les méthodes conventionnelles de préciser la nature glandulaire ou épidermoïde. Syn. carcinome anaplasique.

**Carcinome infiltrant** : carcinome dont les cellules franchissent la membrane basale et envahissent le tissu conjonctif avoisinant. Syn. carcinome invasif.

**Carcinome *in situ* (CIS)** : carcinome ne franchissant pas la membrane basale de l'épithélium. Syn. carcinome non invasif.

**Carcinome insulaire** : variante peu différenciée du carcinome papillaire ou plus rarement vésiculaire de la thyroïde.

**Carcinome intracanaulaire (CIC)** : carcinome des canaux galactophores du sein n'infiltrant pas le tissu conjonctif adjacent.

**Carcinome intrakystique** : carcinome restant confiné dans un canal kystisé.

**Carcinome intramuqueux** : adénocarcinome qui envahit le chorion des muqueuses glandulaires sans atteindre la musculaire muqueuse et la sous-muqueuse.

**Carcinome juvénile** : *cf.* carcinome sécrétant.

**Carcinome lobulaire** : adénocarcinome né au niveau des lobules galactophores du sein.

**Carcinome lobulaire infiltrant (CLI)** : adénocarcinome du sein composé de cellules de petite taille peu cohésives avec peu de mitoses, dispersées ou arrangées en file indienne au sein d'un stroma fibreux. Il existe des types : alvéolaire, pléomorphe, à cellules en bague à chaton.

**Carcinome lobulaire *in situ* (CLIS)** : adénocarcinome du sein intéressant les canicules intralobulaires qui sont comblées et distendues par une prolifération de cellules peu jointives sans envahissement du tissu conjonctif voisin.

**Carcinome Lieberkühnien** : adénocarcinome de type colique.

**Carcinome lympho-épithélial** : carcinome formé d'éléments épithéliaux et lymphoïdes.

**Carcinome malpighien** : *cf.* carcinome épidermoïde.

**Carcinome médullaire de la thyroïde** : carcinome du corps thyroïde développé aux dépens des cellules C sécrétant la calcitonine.

**Carcinome médullaire du sein** : carcinome d'architecture syncytiale composé de cellules peu différenciées dans un stroma peu abondant avec intense infiltration lymphocytaire.

**Carcinome métaplasique** : carcinome dans lequel le tissu tumoral reproduit un tissu d'aspect différent de celui dans lequel la tumeur a pris naissance. Cette variété présente des remaniements métaplasiques divers (à cellules fusiformes, épidermoïde, chondroïde et osseuse).

**Carcinome micro-infiltrant** : carcinome qui envahit le chorion sur une faible distance inférieure à un seuil défini (1 mm pour le sein). Syn. microcarcinome.

**Carcinome mucineux** : carcinome caractérisé par des plages extra- et intracellulaires de mucus dans lesquelles sont isolés des amas de cellules tumorales mucosécrétantes. Il est surtout observé dans le côlon, l'estomac ou le sein. Syn. carcinome colloïde muqueux, carcinome mucoïde ou muqueux.

**Carcinome muco-épidermoïde** : carcinome caractérisé par la présence de cellules épidermoïdes (malpighiennes), d'éléments mucosécrétants et de cellules type intermédiaire.

**Carcinome mucoïde ou muqueux** : *cf.* carcinome mucineux.

**Carcinome neuro-endocrine** : carcinome identifié par la présence de cellules argyrophiles et/ou de cellules exprimant un marquage neuro-endocrine comme la chromogranine et la synaptophysine.

**Carcinome oncocytaire** : carcinome formé par une prolifération d'oncocytes.

**Carcinome oxyphile** : carcinome formé par une prolifération de cellules oxyphiles.

**Carcinome papillaire** : carcinome dont l'architecture infiltrante est surtout faite de structures papillaires.

**Carcinome peu différencié** : carcinome dont l'aspect s'écarte de celui d'un tissu normal mais conserve certaines particularités morphologiques permettant d'en situer le type histologique.

**Carcinome pléomorphe** : carcinome d'architecture classique mais composé de cellules plus atypiques et pléomorphes.

**Carcinome polymorphe** : carcinome ayant plusieurs composantes architecturales.

**Carcinome sarcomatoïde** : carcinome peu différencié formé de cellules fusiformes ou pléomorphes.

**Carcinome sécrétant (ou juvénile)** : carcinome du sein caractérisé par une architecture microkystique et tubulaire avec présence d'un abondant produit de sécrétion. Le cytoplasme et les cavités acinoïdes sont PAS (+).

**Carcinome séreux** : variante de carcinome de l'ovaire.

**Carcinome spinocellulaire** : carcinome épidermoïde différencié mature localisé à la peau ou aux muqueuses.

**Carcinome squameux** : carcinome caractérisé par la présence de squames. *Cf.* carcinome épidermoïde.

**Carcinome squirrhéux** : carcinome suscitant une très intense stroma-réaction scléreuse entraînant une rétraction de la tumeur et des tissus de voisinage.

**Carcinome thymique** : carcinome développé à partir du tissu thymique; de siège ectopique, le plus souvent au niveau du cou, du tissu adipeux, de la trachée, du hile ou parenchyme pulmonaire et de la plèvre.

**Carcinome trabéculaire** : adénocarcinome où les cellules sont disposées en nappes ou en travées.

**Carcinome trophoblastique** : *cf.* choriocarcinome.

**Carcinome tubuleux** : carcinome infiltrant très bien différencié du sein constitué de cellules régulières disposées en tubules structurées, entourées d'un abondant stroma fibreux.

**Carcinome urothélial** : carcinome de type souvent papillaire qui se développe dans les voies urinaires et la vessie. Syn. carcinome à cellules transitionnelles.

**Carcinome vésiculaire** : variété de cancer de la thyroïde.

**Carcinosarcome** : tumeur maligne comportant des éléments épithéliaux et mésenchymateux.

**Cholangiocarcinome** : tumeur maligne développée aux dépens de l'épithélium des voies biliaires intra-hépatiques.

**Chondrome** : tumeur bénigne formée de tissu cartilagineux.

**Chondrosarcome** : tumeur maligne de l'adulte à point de départ habituellement squelettique reproduisant un tissu cartilagineux plus ou moins différencié, tous les os peuvent être atteints y compris les cartilages ORL.

**Chordome** : tumeur de l'adulte le plus souvent maligne développée aux dépens des vestiges embryonnaires de la notochorde ou chorde dorsale (cordon cellulaire mésodermique déterminant

l'axe primitif de l'embryon), siégeant à la base du crâne et du rachis cervical, régions saccrocoecy-gienne et dorsolombaire.

**Choriocarcinome** : tumeur germinale maligne reproduisant le tissu trophoblastique. Elle peut être d'origine placentaire ou résulter de la prolifération anarchique d'une cellule germinale gonadique ou extragonadique. Syn. carcinome trophoblastique.

**Cicatrice radiaire** : lésion bénigne de la glande mammaire contenant des structures glandulaires irrégulièrement distribuées (lésion mastosique complexe).

**CIN (néoplasie cervicale intra-épithéliale)** : la notion de CIN exprime l'existence d'un spectre continu de lésions depuis la dysplasie légère au carcinome *in situ*.

**CIN I (dysplasie légère)** : les atypies cellulaires sont visibles dans les couches profondes du revêtement malpighien.

**CIN II (dysplasie modérée ou moyenne)** : les atypies sont visibles au niveau des cellules basales et intermédiaires mais sont limitées au deux tiers de l'épithélium malpighien.

**CIN III (dysplasie sévère) et carcinome *in situ*** : les anomalies cellulaires intéressent toute la hauteur de l'épithélium y compris les couches superficielles.

**Comédocarcinome** : variété d'adénocarcinome avec nécrose tumorale abondante.

**Condylome** : tumeur bénigne d'origine souvent virale qui siège sur des muqueuses malpighiennes anorectales et génitales, certains peuvent constituer un état précancéreux.

**Corticosurrénalome** : tumeur bénigne ou maligne développée aux dépens de la corticosurrénale.

**Crohn (maladie de)** : maladie inflammatoire du tube digestif.

**Cylindrome** : tumeur à tissus multiples de malignité variable siégeant généralement au niveau de la face.

**Cystadénocarcinome** : adénocarcinome à développement kystique.

**Cystadénofibrome** : tumeur ovarienne bénigne.

**Cystadénolymphome** : tumeur polykystique encapsulée formée d'éléments épithéliaux et lymphoïdes associés. Syn. cystadénome papillaire, tumeur de Warthin.

**Cystadénome** : tumeur bénigne développée aux dépens d'un parenchyme glandulaire et creusée de cavités kystiques.

**Cytostéatonécrose** : nécrose du tissu adipeux d'aspect macroscopique crayeux.

## D

**De Quervain (thyroïdite de)** : tumeur bénigne de la thyroïde due à une inflammation subaiguë.

**Dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand** : tumeur fibro-histiocytaire à malignité intermédiaire localisée au niveau du tronc ou de la racine des membres.

**Dubreuilh (mélanose de)** : mélanome intradermique survenant électivement chez les sujets âgés au niveau du visage.

**Dysembryome** : tumeur germinale d'évolution bénigne (mature) ou maligne (immature), kystique ou solide, simple (formée d'un seul tissu) ou complexe (tumeur mixte), développée aux dépens de débris embryonnaires restés inclus dans l'organisme. Elle siège principalement dans les gonades, la glande pinéale et le médiastin. Syn. tératome.

**Dysgerminome** : tumeur germinale de l'ovaire ayant le même aspect histologique que le séminome.

**Dysplasie** : anomalie de sévérité variable d'un tissu (mais qui reste non cancéreux) pouvant être exposé à un risque majoré de cancer ultérieur. Cf. CIN.

**Dystrophie** : terme utilisé pour toute lésion qui n'est manifestement ni malformative, ni tumorale, ni inflammatoire.

## E

**Ectasie canalaire** : lésion inflammatoire du sein caractérisée par la dilatation des galactophores avec fibrose de leur paroi et inflammation péricanalaire.

**Épendymome** : tumeur du système nerveux central observée surtout chez l'enfant, siégeant dans

les ventricules cérébraux où à l'intérieur de la moelle et développée aux dépens des cellules de l'épendyme.

**Épithélioma** : terme désuet utilisé pour désigner un cancer développé à partir d'un épithélium. Désormais remplacé par le mot carcinome.

**Esthésioneuroblastome** : tumeur maligne neuroectodermique siégeant dans les fosses nasales et dont la morphologie se rapproche du neuroblastome sans différenciation ganglionnaire. Syn. neuroblastome olfactif.

**Esthésioneuroépithéliome** : tumeur maligne observée chez l'enfant ou le jeune adulte développée aux dépens des éléments nerveux olfactifs de la muqueuse nasale restée ou redevenue à l'état embryonnaire. Syn. esthésioneuroblastome, esthésioneurocytome.

**Esthésioneurome** : tumeur maligne de la placode olfactive développée à partir d'un nerf (neurome).

**Ewing (tumeur d')** : tumeur maligne neuroectodermique intégrée dans le cadre des PNET caractérisée par une prolifération tumorale souvent peu différenciée à petites cellules rondes basophiles qui prennent naissance dans la région centrale de l'os. Elle survient entre 5 et 30 ans avec un pic de fréquence entre 10 et 15 ans. Elle siège surtout au niveau du tronc, de la région thoracique ou paravertébrale mais peut toucher tous les os et envahir les parties molles voisines. Les cellules contiennent du glycogène PAS (+).

## F

**Fasciite nodulaire** : lésion bénigne développée dans un fascia superficiel le plus souvent au niveau de l'avant-bras.

**Fibroadénome** : cf. adénofibrome.

**Fibrokystique (maladie)** : lésion bénigne associant les éléments suivants, kyste, fibrose, hyperplasie épithéliale (canaire ou lobulaire). Syn. maladie de Reclus, dysplasie mammaire.

**Fibrome** : tumeur bénigne formée uniquement de tissu conjonctif. Le fibrome envahissant est classé parmi les fibromatoses agressives et les tumeurs à malignité locale. Syn. tumeur desmoïde.

**Fibrosarcome** : tumeur maligne composée de cellules fibroblastiques qui touche surtout l'adulte jeune et siège électivement au niveau de la cuisse et du genou, du tronc, des extrémités distales (avant-bras et jambe). Il s'agit le plus souvent d'une tumeur profonde intra- ou intermusculaire tendino-aponévrotique. Syn. sarcome fibroblastique.

**Fibrosarcome infantile** : tumeur à malignité intermédiaire localisée au niveau des membres surtout en distal et survient essentiellement durant la première année (rare après 2 ans).

**Fibrose** : hyperplasie du tissu conjonctif survenant souvent post-traitement (chirurgical ou radiothérapique), elle peut être atrophique ou hypertrophique (chéloïde).

## G

**Galactocèle** : kyste d'origine inflammatoire contenant un mélange de lait et de pus, situé sur le trajet d'un galactophore du sein.

**Galactophorite ectasiant** : inflammation des conduits galactophores de la glande mammaire.

**Gangliogliome/gangliogliomeurome/gangliome** : cf. gangliomeurome.

**Ganglioneuroblastome** : tumeur du système nerveux sympathique de malignité variable d'un ganglion sympathique associant un gangliomeurome (bénin) et un neuroblastome (malin).

**Gangliomeurome** : tumeur bénigne neuro-ectodermique de l'enfant développée le plus souvent au niveau de la chaîne sympathique ou de la médullosurrénale. Elle correspond parfois (post-traitement) à un neuroblastome.

**GIST** : cf. tumeur stromale gastro-intestinale.

**Glioblastome** : tumeur maligne du système nerveux central entrant dans le cadre des gliomes.

**Gliome** : nom générique désignant les différentes tumeurs primitives du système nerveux central. Certaines sont bénignes (astrocytome, épendymome, oligodendrocytome) mais peuvent dégénérer en tumeur maligne, d'autres sont malignes d'emblée (glioblastome).

**Granulome** : nom donné à des tumeurs de nature inflammatoire formées de tissu conjonctif

vasculaire et infiltré de cellules polymorphes (histiocytes, leucocytes, plasmocytes, etc.).

**Granulome à corps étrangers** : inflammation caractérisée par de nombreux macrophages mêlés à des cellules géantes plurinucléées de type « réaction à corps étrangers » (silicone, débris de fil de suture, etc.).

**Granulome éosinophile** : affection caractérisée par un infiltrat histiocytaire avec nombreux éosinophiles.

**Granulome épithélioïde et gigantoméliculaire** : lésion inflammatoire caractérisée par ses constituants cellulaires, histiocytes à noyaux allongés (en banane), cellules de Langhans et lymphocytes en couronne périphérique.

**Granulome histiocytaire** : cf. histiocytose X.

**Granulosa (tumeur de la)** : tumeur germinale bénigne ou maligne des gonades (testicule ou ovaire) et des cordons sexuels, de type adulte (tumeur généralement bénigne), de type juvénile (observée chez les enfants de la naissance à 3 mois).

**Griffes du chat (maladie des)** : maladie due le plus souvent à une bactérie du genre *Bartonella*.

**Gynécomastie** : hypertrophie bénigne du sein chez l'homme.

## H

**Hamartome** : formation tissulaire pseudo-tumorale définie comme un mélange anormal des cellules normalement présentes dans l'organe où elles se développent mais en proportions anormales et sans aucune harmonie.

**Hashimoto (thyroïdite de)** : affection du corps thyroïde (thyroïdite chronique).

**Hémangio-endothéliome** : variété d'angiome à malignité intermédiaire développée aux dépens de l'endothélium des capillaires pouvant siéger dans différents organes.

**Hémangio-endothéliome malin** : tumeur maligne qui se manifeste essentiellement par une différenciation endothéliale. Elle peut apparaître aussi bien dans les tissus mous que dans les os, voire dans les viscères (foie).

**Hémangiome** : tumeur bénigne développée aux dépens des vaisseaux sanguins.

**Hémangiopéricytome** : variété d'angiome avec de très nombreux péricytes siégeant surtout aux jambes, au tronc, à la nuque; plus rarement, il s'agit de tumeurs viscérales.

**Hémangiosarcome** : tumeur maligne d'origine conjonctive. Cf. hémangio-endothéliome malin.

**Hépatoblastome** : tumeur maligne du foie formée de cellules hépatiques embryonnaires qui survient chez le nourrisson et le petit enfant.

**Hépatocarcinome** : tumeur maligne du foie développée aux dépens des cellules du parenchyme hépatique.

**Hépatocholangiome** : tumeur du foie développée aux dépens des cellules du parenchyme hépatique et des cellules des canalicules biliaires intra-hépatiques. C'est une variété d'hamartome.

**Hépatome** : tumeur du foie développée aux dépens des cellules du parenchyme hépatique (hépatocytes). Elle peut être bénigne (adénome solitaire) ou maligne (adénocarcinome hépatique, carcinome hépatocellulaire, hépatocarcinome).

**Hidrosadénite** : abcès siégeant au niveau de la peau presque toujours dans le creux de l'aisselle ayant pour point de départ une glande sudoripare. Syn. adénite sudoripare, hidradénite.

**Histiocytome fibreux** : tumeur conjonctive bénigne constituée par une prolifération fibroblastique et histiocytaire qui apparaît surtout dans le derme. Syn. fibroxanthome, histiocytofibrome bénin.

**Histiocytome fibreux malin (MFH)** : tumeur conjonctive maligne des tissus mous qui siège surtout au niveau des cuisses et qui touche le plus souvent l'adulte. Syn. histiocytofibrome malin.

**Histiocytose** : prolifération histiocytaire pouvant être observée au cours de nombreuses affections. Syn. granulome éosinophile, xanthogranulome juvénile.

**Histiocytose langerhansienne** : prolifération excessive de cellules de Langerhans.

**Histiocytose maligne** : variété de lymphome malin caractérisée par une prolifération d'histiocytes anormaux ayant une intense activité phagocytaire. Syn. lymphome histiocytaire.

**Histiocytose X** : prolifération de grands histiocytes (cellules de Langerhans) et parfois infiltration de cellules inflammatoires. Elle s'observe surtout chez l'enfant. Syn. granulome histiocytaire.

**HIV (*human immunodeficiency virus*)** : cf. VIH.

**Hodgkin (maladie de)** : affection tumorale maligne du tissu lymphoïde caractérisée par la présence de cellules de Reed-Sternberg associées à des cellules de Hodgkin et des cellules inflammatoires. Elle touche préférentiellement les sujets jeunes, de siège électif : ganglion isolé au niveau du cou volontiers unilatéral et cervical et ganglions au niveau du médiastin (syn. lymphogranulomatose maligne).

**HPV (*human papillomavirus*)** : virus oncogène sexuellement transmis (à l'origine de la présence de koïlocytes).

**Hypernéphrome** : tumeur maligne du rein.

**Hyperplasie** : formation d'un tissu pathologique aux dépens d'un tissu sain.

**Hyperplasie épithéliale canalaire** : lésion bénigne du sein constituée de cellules rappelant celles de l'épithélium galactophorique.

**Hyperplasie lobulaire atypique** : lésion du sein constituée de cellules rappelant celles du carcinome lobulaire *in situ* mais où les critères qualitatifs et quantitatifs sont insuffisants pour en affirmer le diagnostic.

## I

**Insulinome** : tumeur bénigne (adénome langerhansien) ou tumeur maligne (épithélioma langerhansien) des îlots de Langerhans du pancréas. Syn. nésioblastome.

## K

**Kaposi** : sarcome vasculaire se présentant sous forme de lésions dermiques (très souvent associé au sida).

**Krükenberg (tumeur de)** : tumeur ovarienne métastatique (plus fréquente au cours des lésions malignes gastriques).

**Küttner (tumeur de)** : tumeur inflammatoire des glandes salivaires.

**Kystadénome** : maladie polykystique du poumon. Syn. kyste aérien du poumon.

**Kyste** : lésion contenant un liquide ou une substance plus ou moins fluide ou visqueuse.

**Kyste branchial** : kyste localisé dans la zone latérale du cou correspondant à un reliquat d'une structure embryonnaire ou fœtale qui aurait dû disparaître avant la naissance. Syn. kyste du tractus thyroïdienne.

**Kyste dermoïde** : lésion bénigne partiellement kystique et solide de l'ovaire qui peut contenir de l'épiderme, des poils, des cheveux, des dents, etc.

**Kyste hydatique** : parasitose déterminée par les larves de *Tenia* échinocoque.

**Kyste sébacé** : lésion formée aux dépens d'une glande sébacée remplie de cellules épidermiques et de matière grasse.

## L

**Léiomyome** : tumeur bénigne formée de tissu musculaire lisse qui se développe surtout au niveau de l'utérus.

**Léiomyosarcome** : tumeur maligne constituée de cellules musculaires lisses observée chez l'adulte, de siège principal la peau et les viscères creux (utérus, intestin grêle).

**Leucémie** : nom générique qui désigne diverses affections malignes caractérisées par la prolifération de leucocytes ou de leurs précurseurs.

**Leucémie aiguë** : envahissement de la moelle osseuse par des cellules immatures (les blastes) qui provoquent un déficit des autres lignées sanguines.

**Leucémie aiguë lymphoïde ou lymphoblastique (LAL)** : prolifération à point de départ médullaire de lymphoblastes s'accompagnant d'une insuffisance médullaire. Elle touche le plus souvent l'enfant et l'adolescent.

**Leucémie aiguë myéloïde (LAM)** : prolifération au niveau de la moelle osseuse de grandes cellules qui ressemblent un peu à des immunoblastes mais qui présentent des granulations azurophiles. Elle survient le plus souvent chez l'adulte âgé.

**Leucémie lymphoïde chronique (LLC)** : prolifération de lymphocytes qui affecte les ganglions et tous les tissus lymphoïdes envahissant progressivement la moelle osseuse et passant dans le sang. Elle survient le plus souvent entre 50 et 70 ans.

**Leucémie myéloïde chronique (LMC)** : prolifération prédominante de la lignée granuleuse à tous les stades de maturation avec passage des cellules dans le sang.

**Leucémie subaiguë** : prolifération de cellules à différents stades de maturation.

**Lipome** : tumeur conjonctive bénigne essentiellement formée par une prolifération anormale d'adipocytes matures. Le plus souvent superficielle, elle est observée au niveau du tronc ou de la partie proximale des membres. Syn. adipome.

**Lipomyosarcome** : tumeur maligne associant un liposarcome et un myosarcome.

**Liposarcome** : tumeur maligne développée aux dépens du tissu adipeux qui siège électivement au niveau des membres (surtout la cuisse), du creux poplité et du rétropéritoine. Il est plus fréquent chez l'adulte entre 30 et 60 ans.

**Lutéome** : tumeur bénigne de l'ovaire.

**Lymphadénite** : cf. adénite.

**Lymphangio-endothéliome bénin** : tumeur développée aux dépens de l'endothélium observée chez l'adolescent et l'adulte jeune au niveau des membres ou du tronc.

**Lymphangiome** : angiome développé au niveau des vaisseaux lymphatiques observé chez l'enfant et siègeant principalement au niveau de la tête, du cou, des régions axillaire et intra-abdominale.

**Lymphangite** : inflammation aiguë ou chronique des vaisseaux lymphatiques.

**Lymphangite carcinomateuse** : atteinte métastatique diffuse des lymphatiques d'un organe par un carcinome.

**Lymphome** : hémopathie maligne qui se développe à partir des cellules lymphoïdes à différents degrés de maturation. On distingue les lymphomes non hodgkiniens (LNH) et la maladie de Hodgkin.

**Lymphome à cellules B** :

- **lymphome/leucémie lymphoblastique dérivée des précurseurs B** : dans la plupart des cas il existe un envahissement sanguin et médullaire ;
- **lymphome ganglionnaire de la zone marginale** : recouvre d'une part des lymphomes

- extraganglionnaires (MALT), d'autre part des lymphomes plus rares développés au niveau de la rate ou des ganglions. Il est constitué de cellules de type centrocyte-like, lymphocytaire, monocytoïde;
- **lymphome de Burkitt** : population tumorale avec de très nombreuses mitoses et nombreux macrophages à corps tingibles responsables de l'aspect caractéristique en ciel étoilé. Ce lymphome (agressif) de l'enfant se présente volontiers comme une masse abdominale. Les variantes morphologiques : type Burkitt-like (pléomorphisme nucléaire, nucléole proéminent), avec différenciation plasmocytaire;
  - **lymphome de type MALT (*mucosa associated lymphoid tissue*)** : développé aux dépens du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (arbre bronchique, tube digestif) caractérisé par des cellules malignes lymphoïdes de type centrocytaire;
  - **lymphome à cellules du manteau** : développé aux dépens de la couronne (ou manteau) entourant les follicules lymphoïdes normaux, caractérisé par la prédominance de petites cellules à moyennes au rapport nucléocytoplasmique élevé. Il peut être d'architecture diffuse ou nodulaire;
  - **lymphome diffus à grandes cellules** : population cellulaire polymorphe associant le plus souvent centroblastes et immunoblastes (en pourcentage variable) disposés en plages diffuses et parfois riche en lymphocytes;
  - **lymphome folliculaire** : mélange de centrocytes, centroblastes en nombre variable et cellules dendritiques folliculaires. Il peut être d'architecture folliculaire, folliculaire et diffuse, à prédominance diffuse;
  - **lymphome lymphocytaire** : nappe diffuse et monomorphe de petits lymphocytes souvent regroupés en vagues nodules. Syn. immunocytome;
  - **lymphome lymphoplasmocytaire/immunoblastome** : prolifération diffuse de petits lymphocytes, cellules plasmocytoïdes et plasmocytes avec quelques immunoblastes;
  - **lymphome plasmocytaire** : plasmocytes plus ou moins matures et atypiques sans mélange avec des cellules lymphocytaires;
  - **myélome/plasmocytome** : cf. ces termes.

### **Lymphome à cellules T périphériques ou NK :**

- **lymphome/leucémie lymphoblastique dérivés des précurseurs T** : prolifération diffuse de petites cellules blastiques avec nombreuses mitoses parfois groupées;
- **lymphome à grandes cellules anaplasiques (de phénotype T ou nul)** : cellules de grande taille au noyau excentré et réniforme en « fer à cheval »;
- **lymphome T angio-immunoblastique (LAI)** : cellules tumorales petites à moyennes, cellules réactionnelles (polynucléaires éosinophiles, histiocytes, plasmocytes) et grands immunoblastes B dispersés;
- **mycosis fungoïde/syndrome de Sézary** : cf. ces termes.

**Lymphome cutané** : tumeur maligne constituée par la prolifération de cellules tumorales malignes résidant dans la peau.

**Lymphome intravasculaire** : affection caractérisée par la prolifération de cellules néoplasiques d'origine lymphomateuse à l'intérieur des capillaires, des artères ou des veines de petits calibres. Syn. angio-endothéliose maligne.

**Lymphome malin non hodgkinien (LNH)** : terme générique qui regroupe l'ensemble des proliférations tumorales malignes dérivées des lymphocytes B, T et NK à leurs différents stades de différenciation et d'activation.

**Lymphome primitif de l'os** : lymphome à grandes cellules touchant surtout l'adulte jeune. Syn. sarcome de Parker et Jackson.

## **M**

**Malherbe (tumeur de)** : tumeur sous-cutanée d'évolution bénigne observée au niveau de la face.

**Mastopathie** : terme générique désignant toute affection mammaire en général bénigne.

**Mastose** : nom générique donné à diverses affections bénignes non inflammatoires du sein.

**Mastose sclérokystique** : terme générique regroupant des lésions bénignes du sein constituées de quatre éléments (kyste, adénose, hyperplasie épithéliale de type canalaire, cicatrice radiaire).

**Médulloblastome** : tumeur cérébrale maligne qui dérive du neuro-ectoderme. Elle se développe

dans le cervelet et est observée le plus souvent chez le jeune enfant. Cf. neuro-épithéliome.

**Mélanome** : tumeur maligne pigmentée ou non, constituée d'une prolifération de cellules mélanocytaires siégeant principalement dans la peau, moins souvent sur des muqueuses ou dans l'œil (mélanome de la choroïde).

**Méningiome** : tumeur intracrânienne ou intrarachidienne habituellement bénigne développée dans les méninges aux dépens du tissu arachnoïdien.

**Méningite** : nom générique donné aux inflammations généralement infectieuses (aiguës ou chroniques) des méninges cérébrales ou médullaires.

**Méningite carcinomateuse** : envahissement du liquide céphalorachidien (LCR) par des cellules malignes.

**Merkel (tumeur de)** : lésion de l'épiderme.

**Mésenchymome** : tumeur développée aux dépens des tissus dérivés du mésenchyme et contenant des éléments de ces divers tissus.

**Mésothéliome** : tumeur presque toujours maligne constituée d'une prolifération de cellules mésothéliales. Le plus souvent à point de départ pleural (80 % des cas) et péritonéal (20 % des cas).

**Mésothéliome pleural** : cancer primitif de la plèvre développé aux dépens des cellules de l'endothélium pleural (ou mésothélium).

**Métastase** : localisation cancéreuse secondaire située à distance d'un premier foyer connu, méconnu ou déjà traité et résultant de la migration de cellules tumorales à partir du foyer primitif.

**MFH (*malignant fibrous histiocytoma*)** : cf. histiocytome fibreux malin.

**MNET (*melanotic neuroectodermal tumor of infancy and childhood*)** : cf. progénome mélanotique.

**Molluscum (pendulum)** : tumeur bénigne cutanée de consistance molle et allongée, parfois pédiculée, souvent située sur le cou, le thorax et les aisselles. Syn. fibrome mou.

**MPNST (*malignant peripheral nerve sheath tumor*)** : syn. schwannome malin.

**Mucocèle** : kyste rétentionnel.

**Mycose** : nom générique donné à toutes les affections parasitaires provoquées par des champignons.

**Mycosis fongoiïde** : lymphome chronique de phénotype T touchant principalement la peau.

**Myélome** : prolifération tumorale maligne de la moelle osseuse caractérisée par la présence de plasmocytes plus ou moins mûrs.

**Myosite** : inflammation du tissu musculaire.

**Myosite ossifiante** : tumeur bénigne du tissu musculaire strié observée chez l'adulte jeune en particulier dans les cuisses et les bras.

**Myosite proliférative** : lésion pseudo-sarcomateuse observée chez l'adulte et siégeant le plus souvent au niveau des muscles du tronc ou de l'épaule.

## N

**Nævus** : lésion bénigne non ou peu pigmentée de siège électif : derme et/ou épiderme.

**Néoplasie intra-épithéliale** : terme sous lequel sont regroupées des lésions précancéreuses tels que le carcinome *in situ* et les dysplasies. Cf. CIN.

**Néphroblastomose** : tumeur maligne multiloculaire et bilatérale située dans la corticale du rein. Elle est constituée de cellules rénales embryonnaires parfois associées au néphroblastome (la forme unique est appelée blastème nodulaire).

**Néphroblastome** : tumeur maligne qui se développe à partir de l'ébauche fœtale du rein et qui survient en général avant l'âge de 5 ans. Syn. tumeur de Wilms.

**Néphrocarcinome** : tumeur maligne du rein. Syn. carcinome rénal à cellules claires, hypernéphrome.

**Néphrome** : tumeur rénale généralement bénigne.

**Néphrome mésoblastique** : tumeur rénale bénigne congénitale du nouveau-né et du nourrisson constituée par du tissu mésenchymateux.

**Neurinome** : tumeur des nerfs périphériques presque toujours bénigne développée aux dépens des cellules de la gaine de Schwann. Elle siège surtout sur les gros troncs nerveux. Syn. schwannome.

**Neuroblastome** : tumeur maligne observée chez le nourrisson et le jeune enfant (2-3 ans) qui dérive de cellules de la crête neurale et survient électivement sur le trajet du système nerveux sympathique (rétropéritonéal, paravertébral, surrénal). Elle est

constituée par une prolifération de petites cellules rondes plus ou moins bien différenciées (neuroblastes) parfois regroupées en rosettes.

**Neuroblastome olfactif ou neuro-épithéliome olfactif** : cf. esthésioneuroblastome.

**Neuro-épithéliome** : variété de gliome d'aspect épithélial d'évolution maligne qui siège surtout au niveau de la rétine.

**Neurofibrome** : tumeur bénigne des nerfs périphériques.

**Neurome** : nom générique désignant une tumeur constituée aux dépens de cellules nerveuses.

**Névrome** : tumeur bénigne formée de fibres nerveuses plus ou moins normales myélinisées ou non.

## O

**Oncocytome** : tumeur généralement bénigne de structure glandulaire (variété d'adénome) qui siège sur le corps thyroïde (tumeur à cellules de Hürthle), les bronches, les glandes salivaires ou les reins.

**Ostéoblastome** : tumeur bénigne des os constituée par une prolifération d'ostéoblastes qui se développe chez le jeune sujet au niveau du rachis, du squelette des mains et des pieds.

**Ostéochondrome** : tumeur bénigne du squelette dans laquelle se mêle du tissu osseux et cartilagineux.

**Ostéochondrosarcome** : tumeur conjonctive maligne développée aux dépens de l'os, du cartilage, du périoste.

**Ostéome** : tumeur bénigne formée de tissu osseux adulte bien différencié (cortical ou spongieux). Ossification intramusculaire post-traumatique provenant de la transformation osseuse d'un hématome.

**Ostéosarcome** : tumeur maligne qui se développe dans les os aux dépens du tissu ostéogénique et envahit les tissus mous voisins. Il touche surtout l'adolescent et siège électivement au niveau des membres inférieurs près du genou (extrémité inférieure du fémur et supérieure du tibia. Syn. sarcome ostéogène ou ostéogénique).

**Ostéosarcome radio-induit** : variété d'ostéosarcome qui survient dans le champ d'irradiation après une radiothérapie antérieure.

## P

**Paget (maladie de)** : forme particulière de cancer du sein né derrière le mamelon et qui envahit l'aréole. Tumeur qui peut se développer sur certaines muqueuses (vulve).

**Pancréatoblastome** : tumeur maligne du pancréas.

**Papillomavirus** : virus responsable de lésions hyperplasiques épidermiques ou des muqueuses malpighiennes. Il en existe plus de 60 types différents dont certains sont partiellement oncogènes (ou cancérogènes).

**Papillome** : tumeur épithéliale bénigne développée au niveau de la peau ou d'une muqueuse caractérisée par l'hypertrophie des papilles conjonctives.

**Papillome intracanaire solitaire** : lésion arborescente du sein croissant à l'intérieur d'un ou plusieurs gros galactophores voisins. Syn. papilloadénome, adénome dendritique intracanaire, cystadénome papillaire.

**Papillome juvénile** : lésion hyperplasique du sein survenant le plus souvent avant l'âge de 25 ans. Syn. papillomatose juvénile.

**Paragangliome** : tumeur d'origine neuro-ectodermique le plus souvent bénigne de localisations principales tête et cou, médiastinale et rétro-péritonéale qui s'observe surtout entre 40 et 60 ans.

**Phéochromocytome** : tumeur d'origine neuro-ectodermique le plus souvent bénigne développée aux dépens des cellules chromaffines de la médullosurrénale (hypernéphrome médullaire, surrénalome) ou des paraganglions établis le long de la chaîne sympathique (paragangliome chromaffine).

**Phlegmon** : variété d'inflammation suppurée caractérisée par la diffusion du pus sans tendance à la collection.

**Pinéalome** : nom générique regroupant les différentes tumeurs de la glande pinéale comprenant les pinéaloblastomes (tumeurs malignes) et les pinéalocytomes (tumeurs bénignes).

**Plasmocytome** : tumeur osseuse développée aux dépens des éléments cellulaires de la moelle osseuse (myélome).

**PNET (*peripheral neuro-ectodermic tumor*)** : ensemble de lésions malignes du système nerveux

central survenant dans les dix premiers jours de la vie dans les tissus mous ayant en commun un aspect morphologique de tumeurs à petites cellules rondes basophiles avec ou sans rosettes et un phénotypage commun CD 99+. C'est une entité d'individualisation entre le sarcome d'Ewing typique et le neuro-épithéliome.

**pPNET** : tumeur neuro-ectodermique périphérique primitive. Cf. PNET.

**Pneumoblastome** : tumeur maligne d'origine embryonnaire pulmonaire.

**Pneumocystose** : maladie due à un protozoaire (*Pneumocystis carinii*) qui provoque une pneumopathie interstitielle très grave.

**Polype** : tumeur fibreuse développée aux dépens d'une muqueuse de siège électif colorectal.

**Progonome mélanotique** : tumeur à malignité intermédiaire survenant généralement dans la première année de vie et souvent localisée au niveau de la tête (crâne, mâchoire, joue) mais aussi au niveau de l'épidyme, du médiastin et du cerveau. Syn. tumeur neuro-ectodermique pigmentée.

## Q

**Quervain (thyroïdite de)** : tumeur subaiguë du corps thyroïde d'aspect inflammatoire et pseudo-folliculaire.

## R

**Reclus (maladie de)** : maladie fibrokystique du sein.

**Rétinoblastome** : tumeur maligne survenant dans le jeune âge (les formes bilatérales sont héréditaires).

**Rhabdomyome** : tumeur conjonctive bénigne développée aux dépens du tissu musculaire strié.

**Rhabdomyosarcome (RMS)** : tumeur maligne des tissus mous développée aux dépens des fibres musculaires striées qui survient de manière préférentielle dans trois régions, la tête et le cou, le tractus génito-urinaire et la région rétropéritonéale, les membres supérieurs et inférieurs. On distingue le type alvéolaire (mauvais pronostic) prédominant chez le grand enfant et l'adolescent, le type embryonnaire (pronostic intermédiaire)

observé chez le jeune sujet et le type pléomorphe, tumeur de l'adulte.

## S

**Sarcoïdose** : granulome inflammatoire observé dans l'appareil respiratoire, parfois dans les viscères.

**Sarcome** : nom générique regroupant l'ensemble des tumeurs malignes développées aux dépens du tissu conjonctif.

**Sarcome radio-induit** : lésion maligne qui survient après un délai minimum de 3 ans dans le champ d'irradiation.

**Schwannome** : tumeur des gaines nerveuses de localisations préférentielles (tête, cou et membres) ainsi que de localisations profondes dans le médiastin postérieur et le rétropéritoine. Elle peut être bénigne (neurinome) ou maligne (MPNST).

**Séminome** : tumeur germinale maligne touchant le plus souvent l'adulte jeune au niveau du testicule.

**Sézary (syndrome de)** : lymphome cutané d'évolution agressive.

**Sida** : syndrome d'immunodéficience acquise dû au VIH.

**Stéatonécrose** : nécrose du tissu adipeux. Syn. cytostéatonécrose.

**Surrénaalomé** : nom générique des tumeurs bénignes ou malignes de la glande surrénale. On distingue le corticosurrénaalomé et le médullo-surrénaalomé.

**Sympathoblastome** : cf. neuroblastome.

**Synoviosarcome** : tumeur maligne extra-articulaire de l'adulte jeune développée aux dépens des bourses séreuses ou des aponévroses. Les sièges d'élection sont les extrémités autour du genou et parapharyngés. Syn. sarcome synovial, synovialome malin.

## T

**Tératome** : nom générique donné à des tumeurs germinales bénignes ou malignes siégeant soit dans les gonades, soit sur la ligne médiane (régions sacrococcygienne, rétropéritonéale, médiastinale, épiphysaire). Syn. dysembryome. Le tératome mature ou adulte (bénin) est constitué

de plusieurs tissus adultes normalement absents dans cette localisation et disposés de façon anarchique. Le tératome immature ou embryonnaire (malin) est constitué par des tissus des différents feuilletts embryonnaires à différents stades de différenciation.

**Thécôme** : tumeur ovarienne généralement bénigne développée aux dépens du tissu interstitiel qui entoure les follicules (thèque).

**Thymome** : nom générique donné aux tumeurs bénignes ou malignes du thymus.

**Thyroïdite** : terme recouvrant les affections inflammatoires ou d'allure inflammatoire du corps thyroïde d'étiologies diverses, aiguë (d'origine infectieuse due à un germe pathogène), subaiguë (d'origine virale) [De Quervain], chronique (d'origine immunitaire) [Hashimoto].

**Trichomonas** : infestation par des protozoaires du genre de flagellés.

**Tuberculome** : volumineux tubercule enkysté dont le contenu est formé de stases (couches) caséuses et fibreuses.

**Tumeur à cellules de Hürthle** : *cf.* oncocytome.

**Tumeur à cellules de Leydig** : tumeur germinale en général bénigne du testicule.

**Tumeur à cellules de Sertoli** : tumeur germinale maligne des gonades et cordons sexuels.

**Tumeur à cellules de Sertoli-Leydig** : tumeur pratiquement toujours bénigne des gonades et cordons sexuels.

**Tumeur à cellules géantes** : tumeur qui survient chez l'adulte dans les tissus mous superficiels ou profonds du tronc ou des membres.

**Tumeur desmoïde** : tumeur considérée comme une variété de sarcome à malignité atténuée et uniquement locale siégeant au niveau de la peau, des muscles de la paroi abdominale, des membres, de la paroi thoracique et des os. Syn. fibrome desmoïde, fibrome récidivant, fibrome envahissant.

**Tumeur desmoplastique** : tumeur maligne de très mauvais pronostic constituée de petites cellules

rondes. Elle siège essentiellement au niveau du péritoine et survient chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune.

**Tumeur dysembryoplasique** : tumeur liée à une anomalie du développement embryonnaire. Elle est constituée de cellules matures (de type adulte).

**Tumeur embryonnaire** : terme générique réunissant des tumeurs disparates ayant en commun d'être formées par la prolifération d'un ou plusieurs tissus dont l'aspect rappelle celui des tissus embryonnaires tels que les tératomes, les dysembryomes et les tumeurs du blastème.

**Tumeur fibreuse solitaire** : tumeur conjonctive bénigne richement vascularisée observée au niveau des tissus mous.

**Tumeur gliale** : terme générique réunissant les tumeurs bénignes ou malignes cérébrales primitives.

**Tumeur maligne des gaines périphériques (MPNST)** : tumeur maligne qui se développe surtout au niveau des racines des membres et du tronc. *Cf.* schwannome malin.

**Tumeur mésenchymateuse** : groupe hétérogène de tumeurs définies selon le type de tissus qu'elles reproduisent et non de celui dont elles sont issues.

**Tumeur mixte** : tumeur comportant des éléments entremêlés provenant de plusieurs tissus (épithélial et conjonctif).

**Tumeur müllérienne** : tumeur maligne du corps utérin à double composante épithéliale et mésenchymateuse.

**Tumeur neuro-ectodermique** : *cf.* neuro-épithéliome.

**Tumeur neuro-ectodermique périphérique primitive** : *cf.* PNET.

**Tumeur neuro-ectodermique pigmentée** : *cf.* progonome mélanotique.

**Tumeur neuro-endocrine** : terme générique réunissant les tumeurs bénignes ou malignes du système neuro-endocrinien.

**Tumeur phyllode** : tumeur bénigne du sein qui correspond à un adénofibrome de grande dimension. Elle peut devenir maligne sous forme de sarcome.

**Tumeur rhabdoïde** : tumeur maligne de mauvais pronostic décrite chez le petit enfant au niveau du rein et en situation extrarénale chez l'adulte.

**Tumeur stromale gastro-intestinale (GIST)** : tumeur mésenchymateuse située principalement au niveau de l'estomac, du duodénum et de l'intestin grêle.

**Tumeur villeuse** : tumeur à malignité potentielle des muqueuses digestives caractérisée par un aspect macroscopique chevelu.

## U

**UCNT** (*undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type*) : carcinome indifférencié du nasopharynx.

## V

**Verrue** : tumeur épithéliale bénigne correspondant à un papillome cutané viral.

**VIH (virus de l'immunodéficience humaine)** : virus responsable du sida.

**Vitelline ou Yolk-sac (tumeur)** : tumeur germinale maligne ayant la morphologie du sinus endodermique.

## W

**Warthin (tumeur de)** : tumeur bénigne des glandes salivaires. Syn. adénolymphome, cystadéno-lymphome.

**Wilms (tumeur de)** : *cf.* néphroblastome.

## X

**Xanthome** : tumeur bénigne du tissu conjonctif siégeant sur la peau, les tendons.

**Xanthome juvénile** : lésion considérée comme bénigne survenant lors de la première année de la vie. Syn. nœvo-xantho-endothéliome, xanthogranulome juvénile.

## Y

**Yolk-sac** : *cf.* vitelline (tumeur).

470844-(I)-(1,5)-CSB-90-SPI  
ELSEVIER MASSON S.A.S.  
62, rue Camille-Desmoulins  
92442 Issy-les-Moulineaux Cedex  
Dépôt légal : février 2010

Achevé d'imprimer sur les presses  
de Trento en janvier 2010

*Imprimé en Italie*