

Anatomie et cytologie pathologiques

Introduction

FGSM3

Séance 1

Cours Pr David MEYRONET

Mardi 9 Janvier 2024

□ Enseignants

- 3 PUPH : S Collardeau, M Devouassoux, **D Meyronet** (responsable)
- 4 MCUPH : N Streichenberger, V Hervieu, L Chalabreysse, A Vasiljevic
- 1 PHU : Dr T Fenouil
- 4 AHU : D Laville, A Gazeux, L Gallay, C Léonce

Programme d'enseignement ACP FGSM3

Planning actualisé adressé par M BAUDOIN

Référentiel national CoPATH à lire avant chaque séance

(polycopié bleu à la BU, PDF mis en ligne)

■ <https://sides.uness.fr/elearning/mod/resource/view.php?id=371366>

■ <https://moodle.univ-lyon1.fr/mod/resource/view.php?id=67609>

CM (n=7) au début de chaque thème

ED (n=7) : présence obligatoire

Notée : prs=1 abs = 0

pas de changement non validé par la Scolarité

En fin de série : télécharger la présentation publiée sur [moodle](#)

Contrôle continu : Note : 30% final

■ CC communs en mars

■ QCM en ligne à la fin de chaque série d'ED et pendant 10 jours. (QCM)

<https://moodle.univ-lyon1.fr/course/view.php?id=3632>

« présence » obligatoire : Notée : prs=1 abs = 0

Examen final : (3 à 5 dossiers +/-10 QCM par dossier (note : 70% final))

Référentiel National

<http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/liste-1.html>

- Lire le chapitre du référentiel **avant** l' ED :
 - <https://sides.uness.fr/elearning/mod/resource/view.php?id=371366>
- Les ED sont diffusés sur sides.uness.fr à la fin de la séance
 - <https://sides.uness.fr/elearning/course/view.php?id=37575-section-0>
- **QCM** en ligne à la fin de chaque ED
- **Ronéo** uniquement pour les CM (en ligne). **Ne pas reprendre les RONEO des ED de l'an dernier**

Question pédagogique :

Dr David Laville david.laville@chu-lyon.fr,

Dr Tanguy FENOUIL tanguy.fenouil@chu-lyon.fr et

Pr David Meyronet david.meyronet@chu-lyon.fr Copie : Anthony masson
anthony.masson@univ-lyon1.fr

Question Informatique SIDES / CLAROLINE : anthony.masson@univ-lyon1.fr, copie ~~David Laville, Tanguy Fenouil et David Meyronet~~

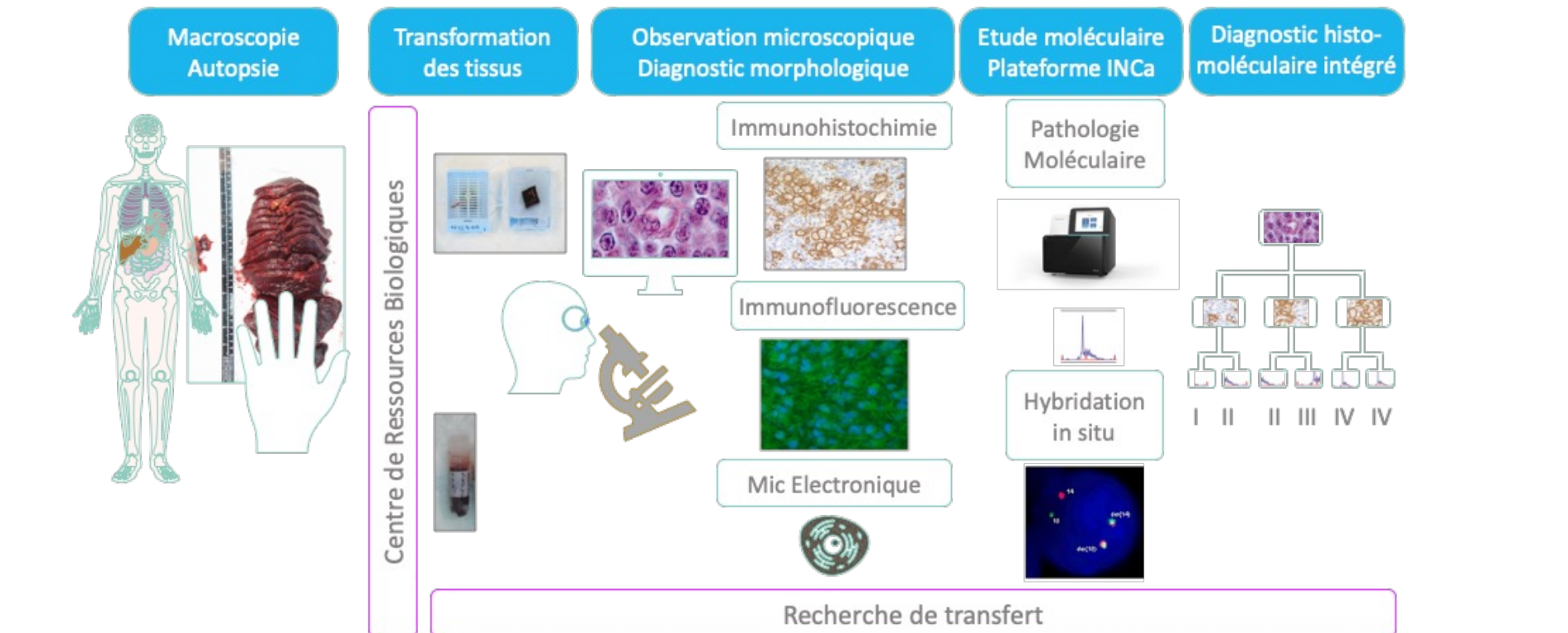
Objectifs généraux en FGSM3

- Savoir préciser la **place de l'anatomie pathologique** dans la démarche médicale.
 - Connaître et savoir donner des **exemples des différents types de prélèvements cytologiques**.
 - Connaître et savoir donner des **exemples des différents types de prélèvements tissulaires**.
 - Connaître les différentes étapes **techniques** qui vont permettre l'analyse microscopique d'un prélèvement **cellulaire**.
 - Connaître les différentes étapes **techniques** qui vont permettre l'analyse microscopique d'un prélèvement **tissulaire**.
 - Connaître les principes de la **fixation cellulaire/tissulaire**.
 - Connaître les **principes (apports et limites)** d'un examen **cytopathologique**.
 - Connaître les **principes (apports et limites)** d'un examen **extemporané**.
-

Introduction à l'ACP

□ Chapitre du référentiel en ligne

<https://www.sfpathol.org/564-manuel-1-moyens-et-objectifs-de-l-anatomie-pathologique-en-medecine.html>



Rôle essentiel des pathologistes

- Faire le diagnostic des maladies
- Étude des lésions :
 - altérations morphologiques provoquées par les maladies, au niveau **des organes, des tissus, des cellules**

Moyens

1. Organes: Examen Macroscopique
2. Tissus : Histopathologie (Examen Microscopie optique)
3. Cellules: Cytopathologie (Examen Microscopie optique)
4. Organites: Étude ultrastructurale (Microscopie électronique)
5. Expression : immunohistochimie (protéines normales ou résultat d'une mutation)
6. Chromosomes, Gènes: Altérations cytogénétiques, transcrits, mutations
 1. Hybridation in situ
 2. Biologie moléculaire somatique (sur cellule tumorale ≠ constitutionnel)

Plan

1. Histopathologie

1. Prélèvements
2. Fixations
3. Etapes techniques
4. Extemporané
5. Cryopréservation

2. Cytopathologie

1. Prélèvements
2. Fixation
3. Coloration

3. Outils complémentaires

- histochimie
- immunohistochimie
- HIS / biologie moléculaire

4. Autopsie

5. Intérêts de l'anatomie pathologique

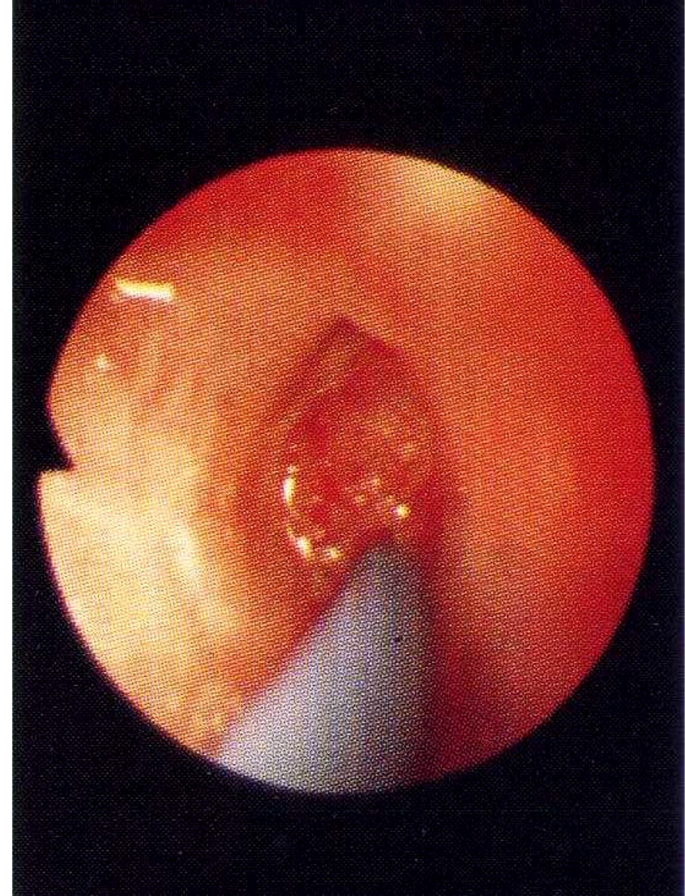
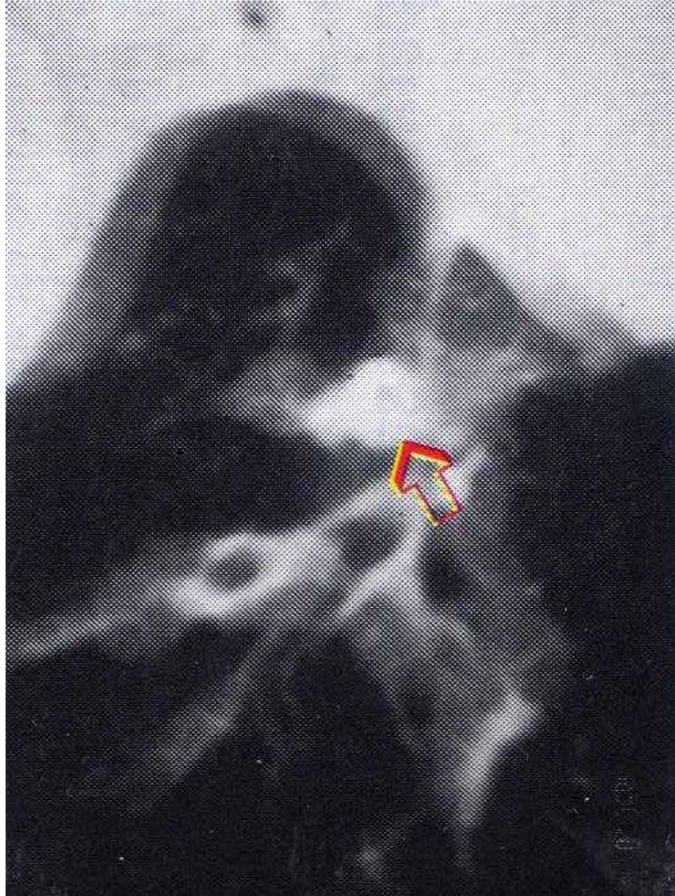
1. Histopathologie

Diagnostic sur prélèvements tissulaires

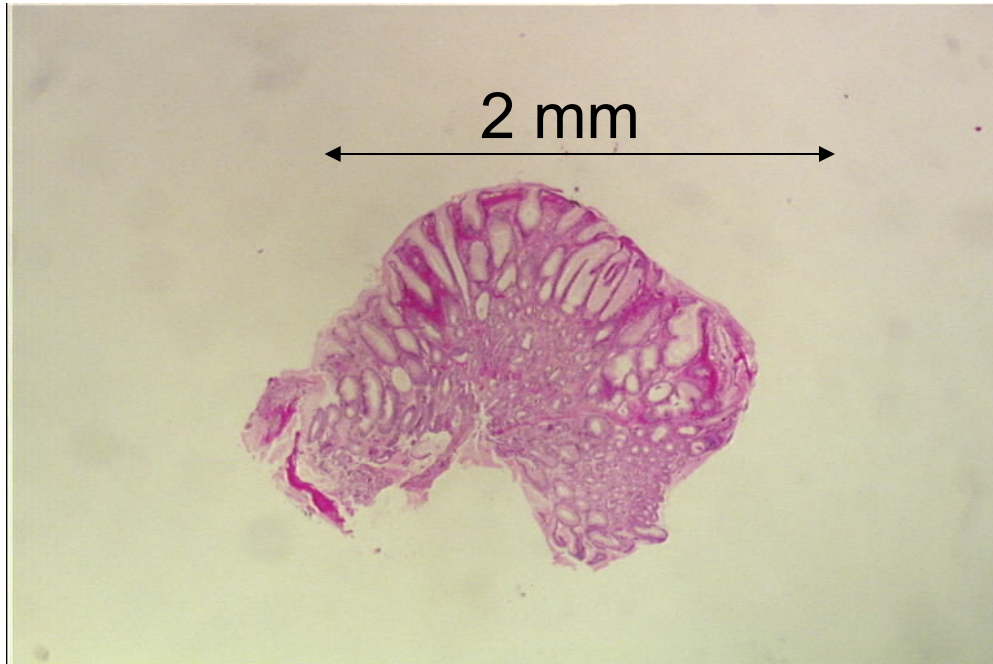
1.1.Prélèvements

- Biopsie :
 - Biopsie par endoscopie
 - Biopsie transcutanée (à l'aiguille)
 - Biopsie exérèse (chirurgicale)
- Pièces opératoires :
 - prélèvement chirurgical totale ou partielle d'un ou plusieurs organes
- Autopsie : post mortem

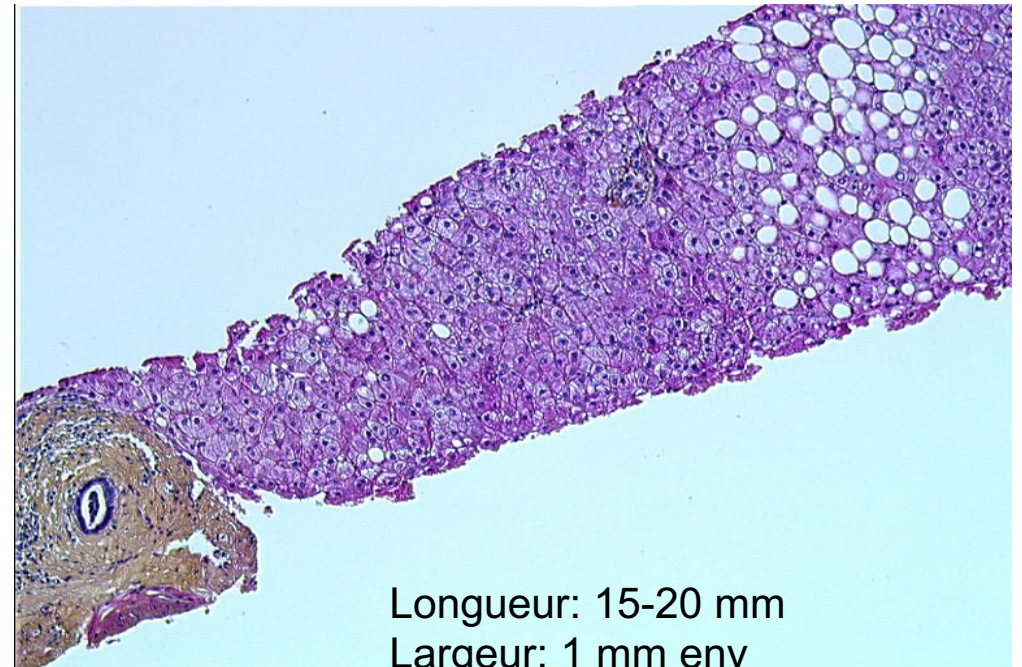
Biopsie dirigée : biopsie bronchique par fibroscopie



Biopsies

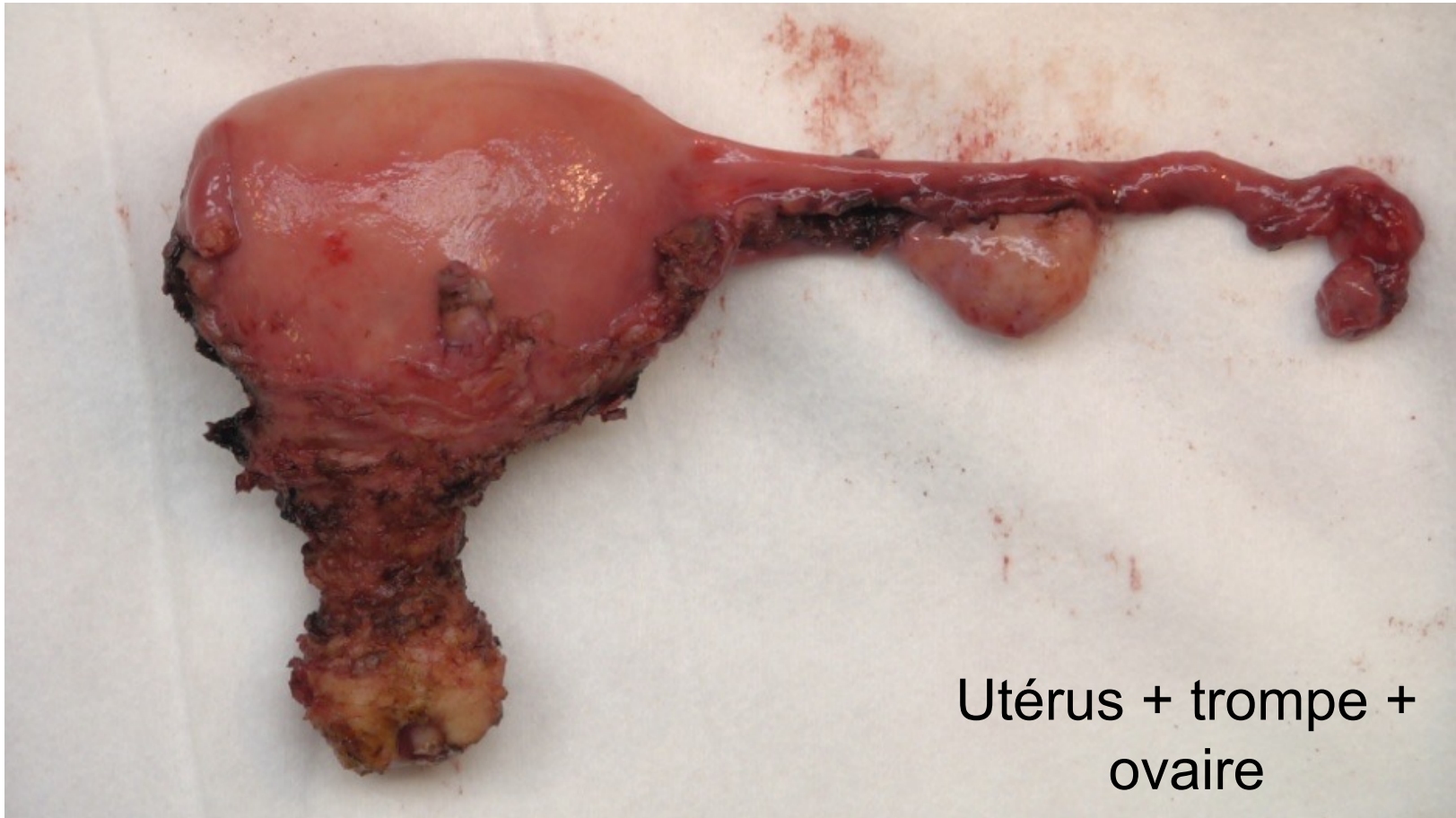


Biopsie digestive :
biopsie dirigée par
endoscopie



Ponction biopsie hépatique :
biopsie transcutanée dirigée
sous échographie

Les pièces opératoires



1.2. Fixation: pourquoi?

- Préservation tissulaire
 - arrête l'autolyse
 - Important : maîtriser le délai entre la dévascularisation et le conditionnement
 - Principalement : Fixation
 - Parfois : congélation (en + de la fixation)

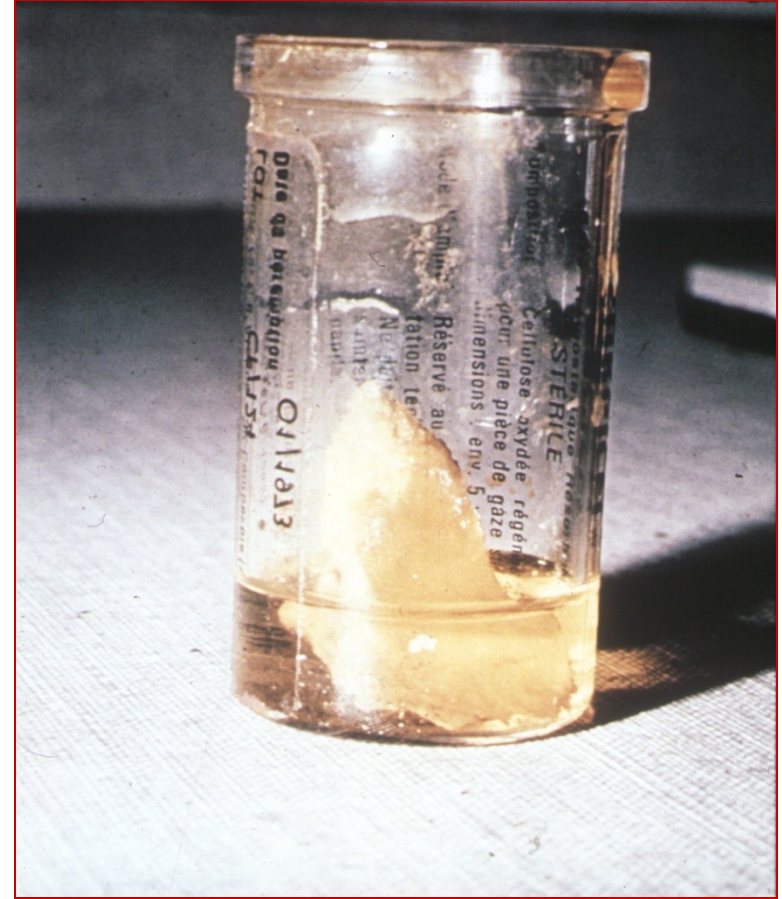
1.2. Fixation : quel fixateur?

- Formol
- Formol tamponné : PH=7
- Autres fixateurs :
 - Fixateurs sans formol (aldéhydique ± acide acétique , non aldéhydique : Ethacarn, RCL2, Finefix, HOPE, Hydrosafe
 - AFA : Alcool + Formol + Acide acétique : mauvaise préservation de l'ADN
 - Liquide de Bouin: n'est plus utilisé en raison de l'acide picrique
- Trump, Glutaraldehyde:
 - Microscopie électronique (fragments de 1 mm²)

Formol = Formaldéhyde

- ❑ Cancérogène pour l'homme
- ❑ Aspiration des vapeurs toxiques
- ❑ Dans certains centres : étude de substituts du formol en cours

Fixation : comment fixer?

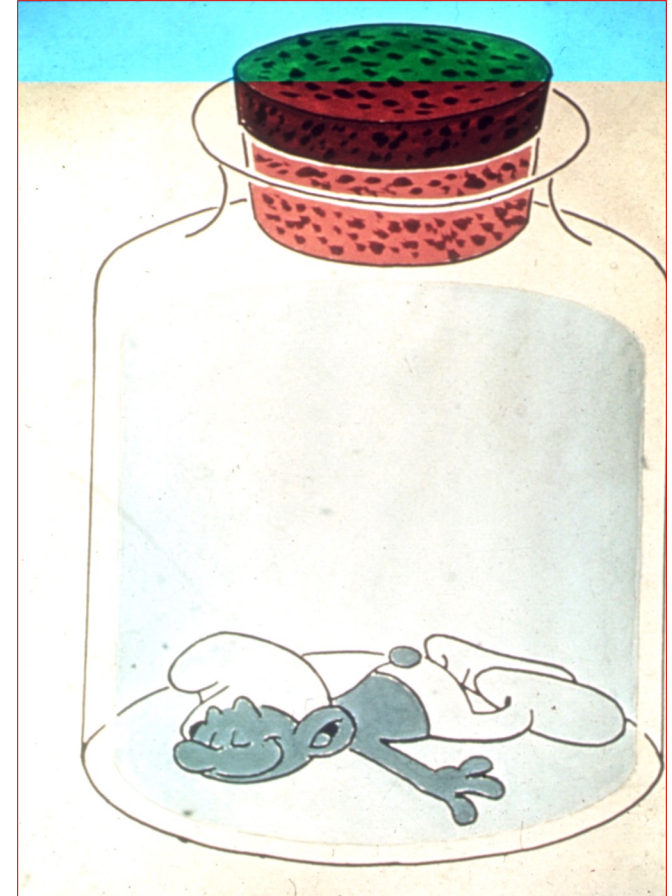


Fixation : comment fixer?



Fixation correcte: examen correct

- ❑ Quantité de fixateur
 - 10x le volume du prélèvement
- ❑ Qualité du fixateur
- ❑ Durée de fixation
 - sous fixation : mauvaise morphologie
 - sur fixation : altération des protéines et acides nucléiques ->
 - ❑ perte antigénique
 - ❑ échec technique moléculaire



1.2. Prélèvements de tissus « frais »

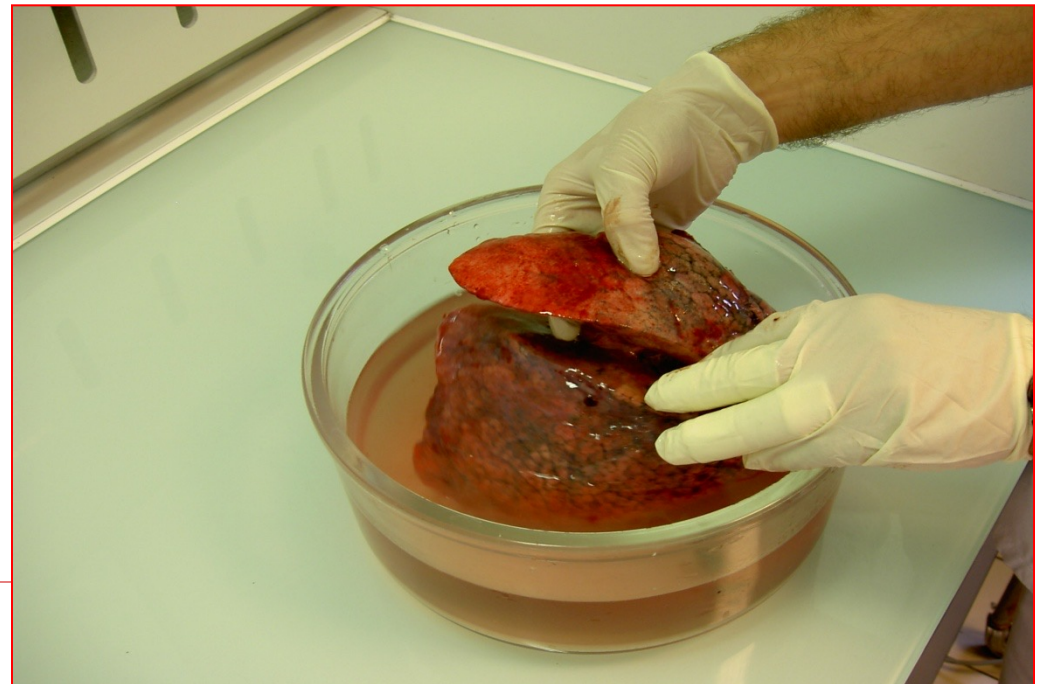
- Examen extemporané
- Congélation (cryoconservation): préservation ADN et ARN (< 1h):
 - Etudes moléculaires exome ou génome entier
 - Immunofluorescence (bruit de fond faible / fixé)
 - Tissuthèque
- Pièces opératoires :
 - +4° C x 12 h ou sous vide (TissuSafe)

1.3. Etapes techniques

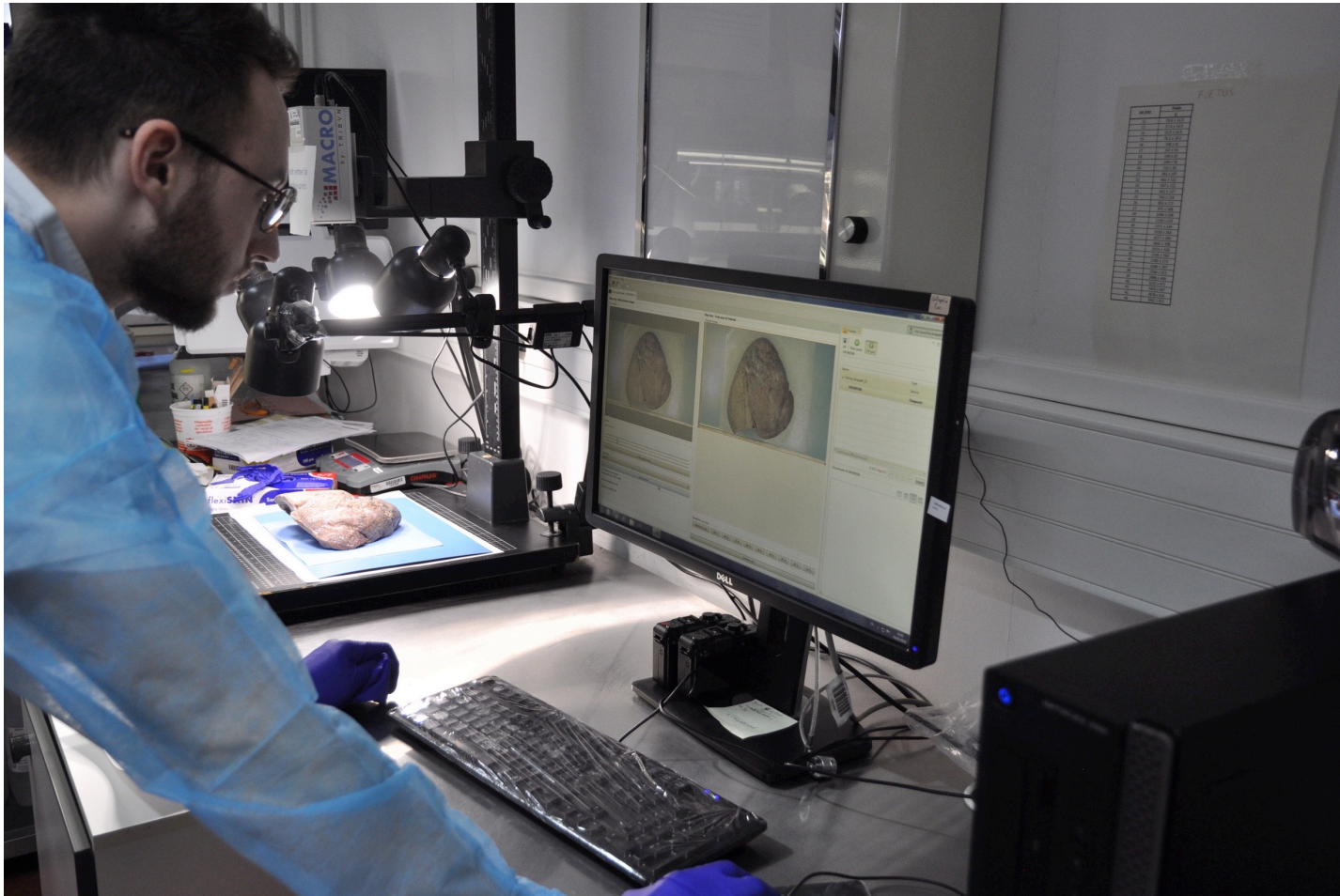
Du tissu à la lame

J1 Réception

- pièce opératoire avant 16h
- mise en fixation pendant au minimum 12 h



Macrophotographie à l'état frais ou après fixation



- Aspect extérieur
- Aspect à la coupe
- Rapports anatomiques de la lésion

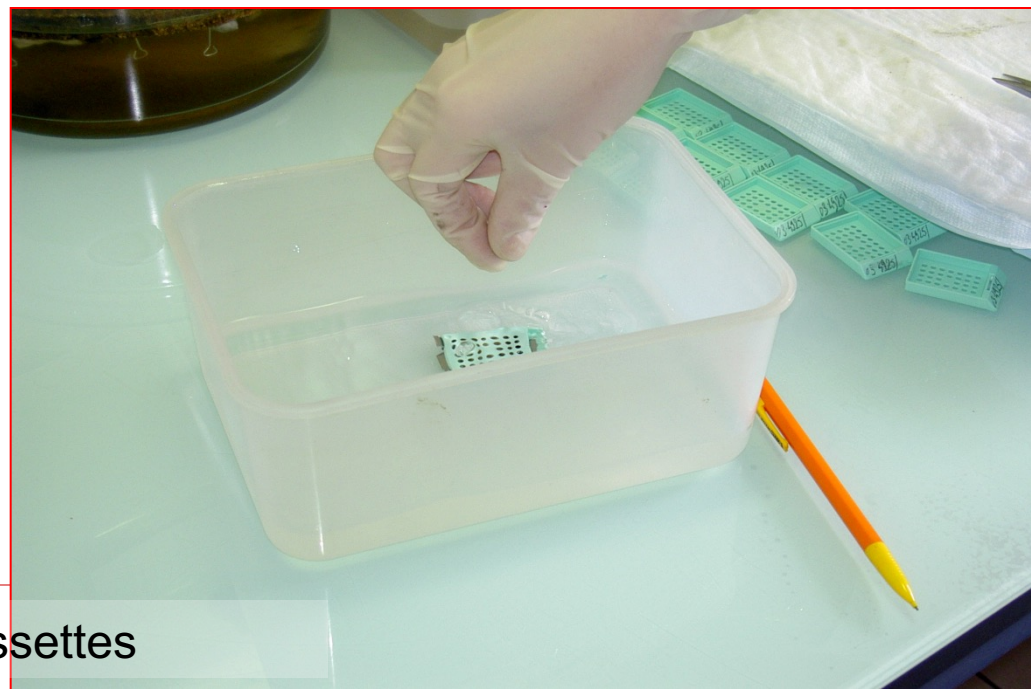
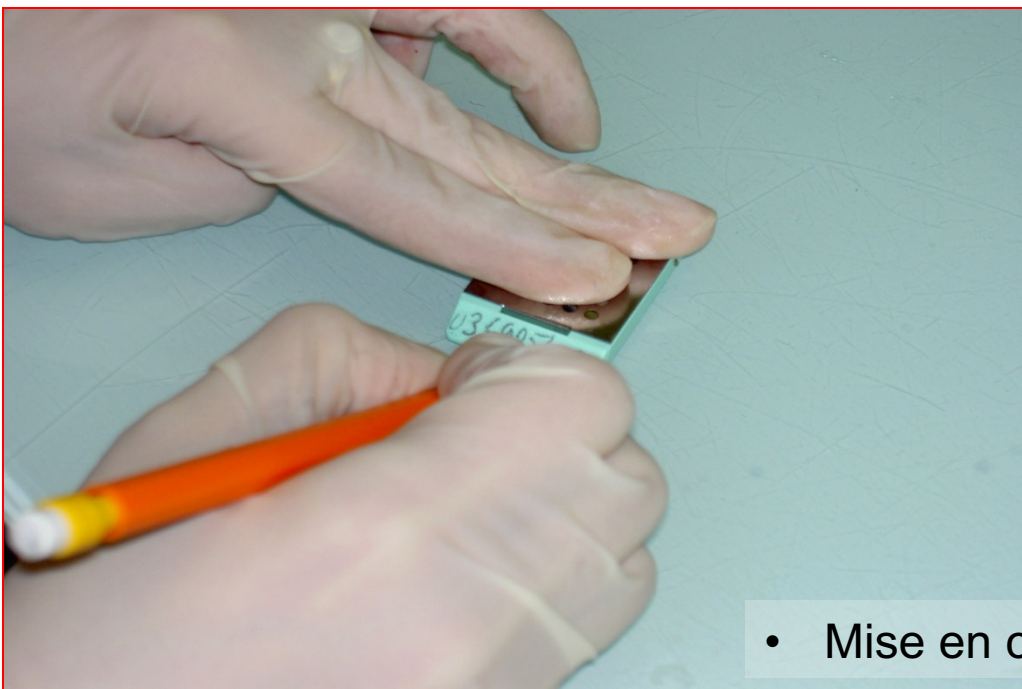
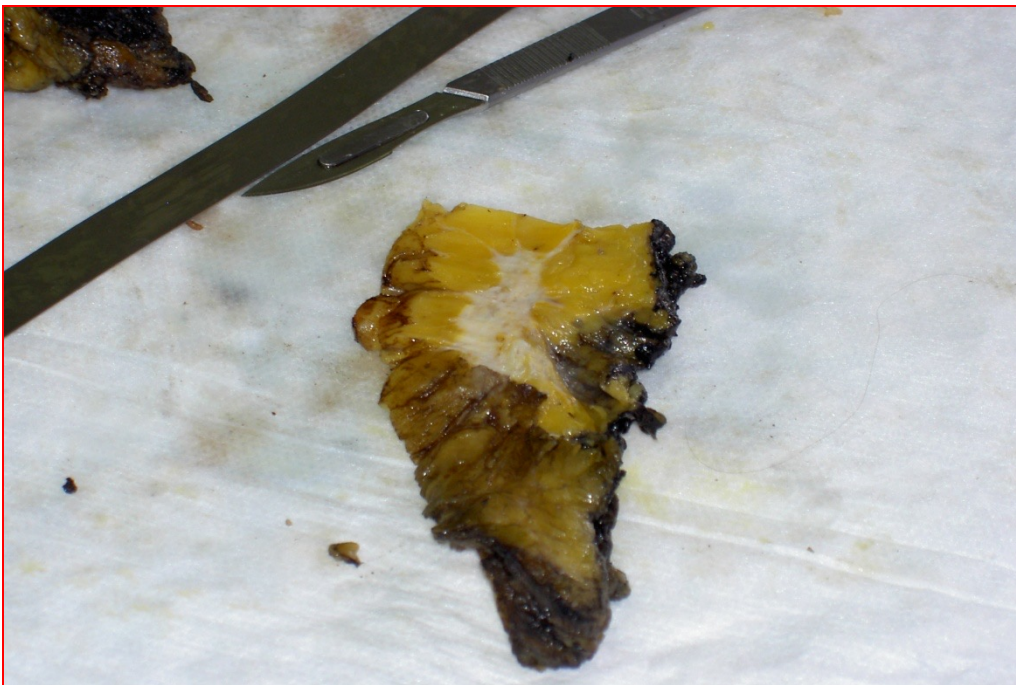
J2 examen macroscopique



- Examen externe
- Palpation
- Coupes



- Dissection
- Prélèvements



- Mise en cassettes

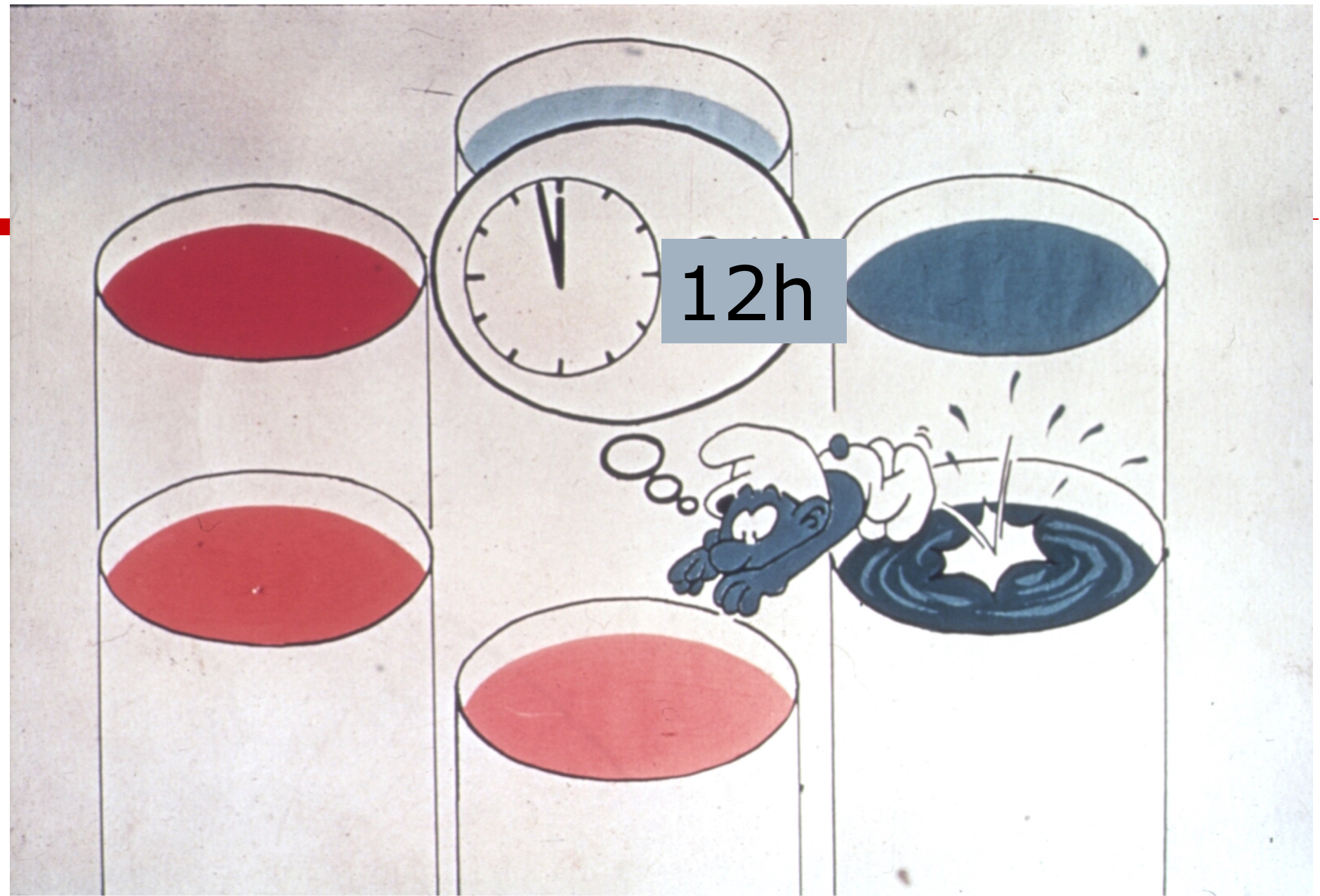
J1 : réception et mise en cassettes des biopsies



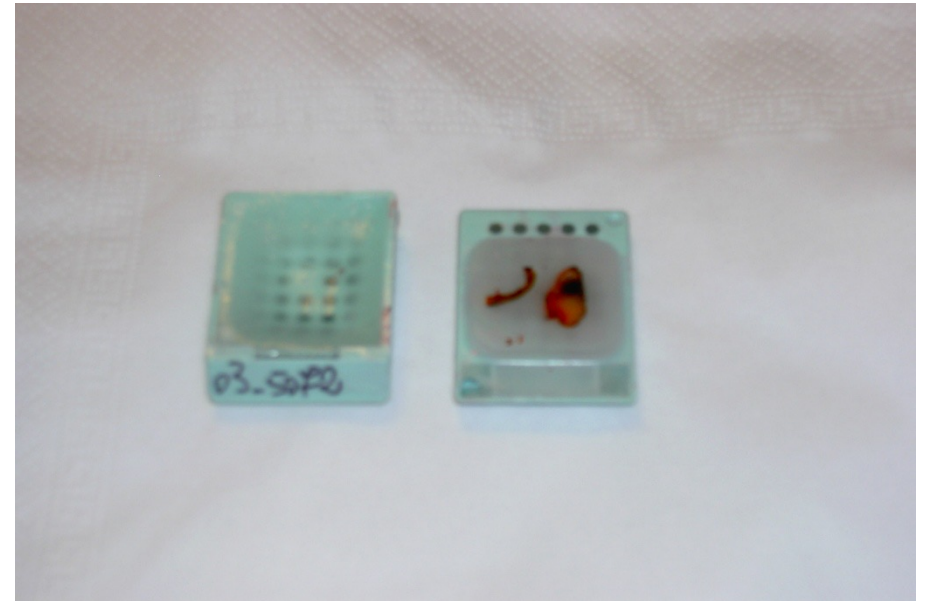
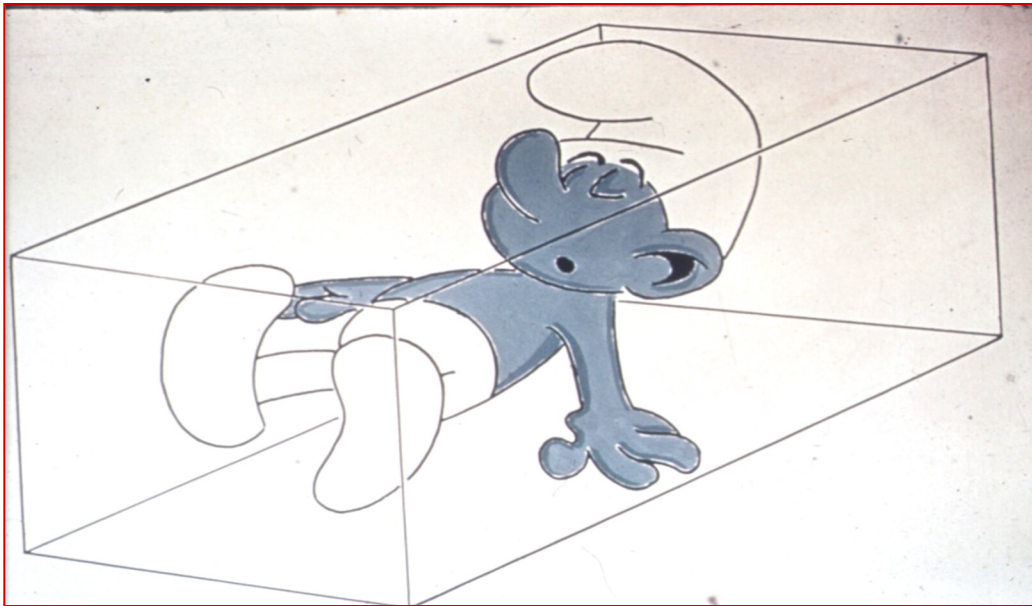
J3 Déshydratation

- ❑ Remplacer l'eau des tissus par de la paraffine
- ❑ Bains successifs d'alcool puis de méthyl
- ❑ Cycle pendant la nuit





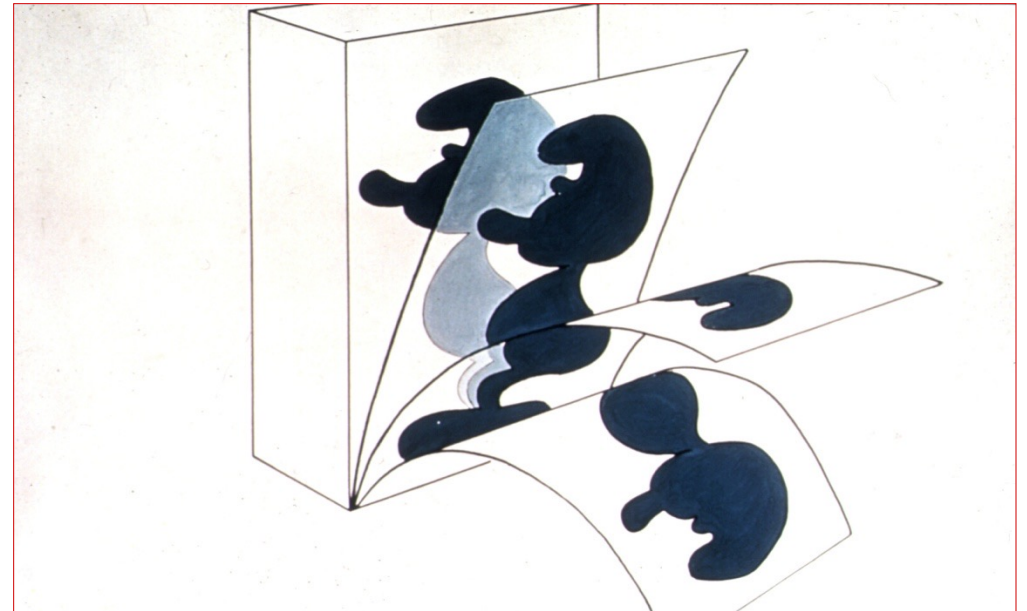
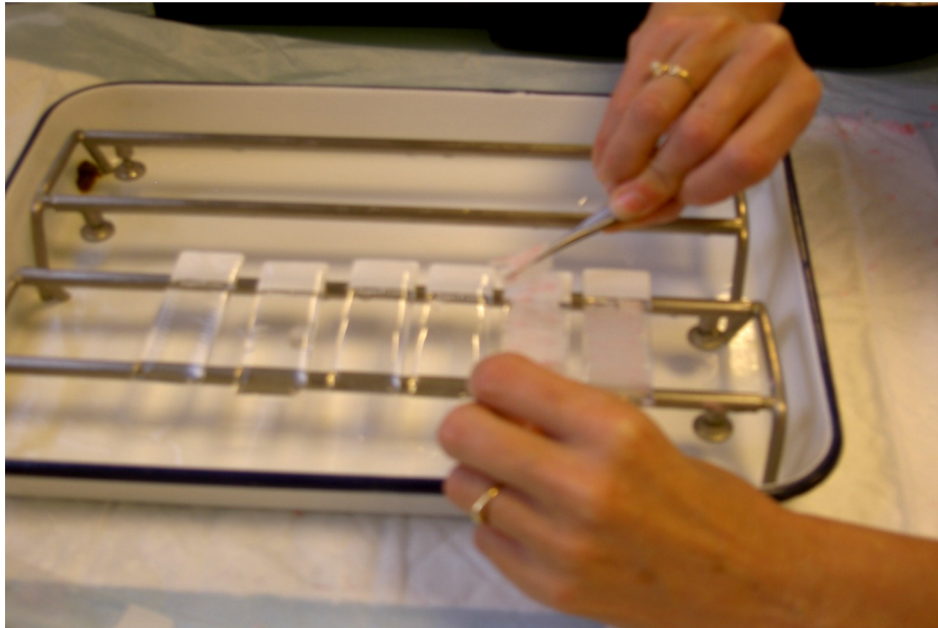
J4 Enrobage bloc de paraffine



J4 matin coupe microtome (3 microns)



Étalement du ruban sur lame



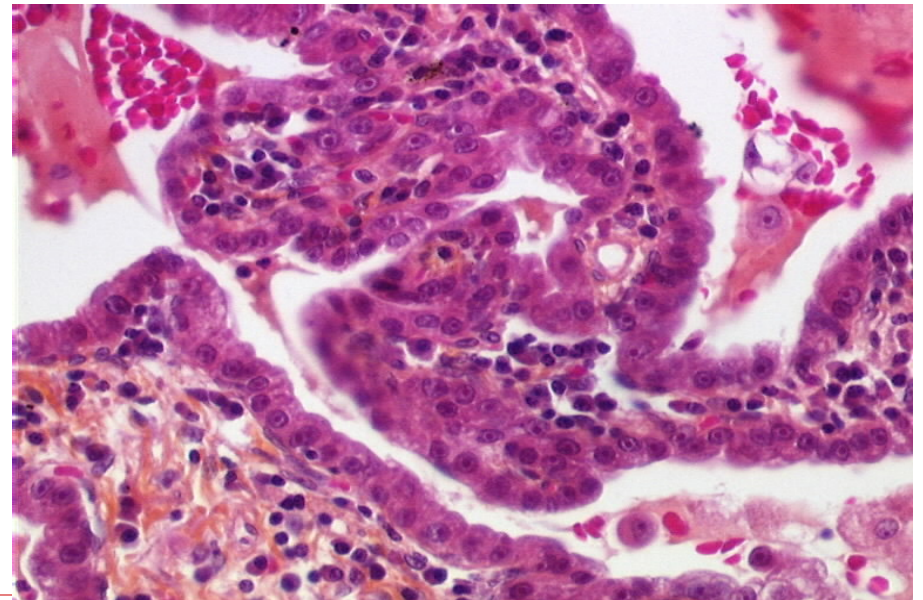
Automate de coloration et montage des lamelles



J4 soir coloration



- HES
- Hématoxyline: noyau en bleu
- Éosine: cytoplasme en rose
- Safran: conjonctif en jaune



Stockage

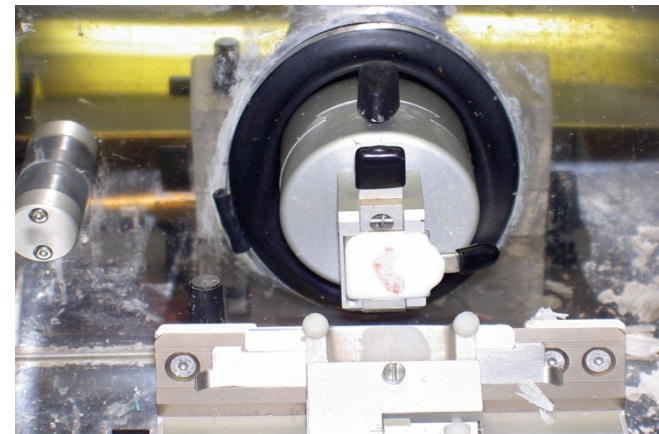
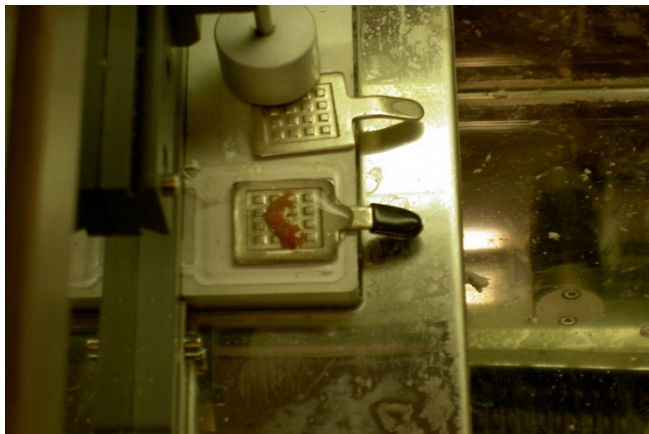
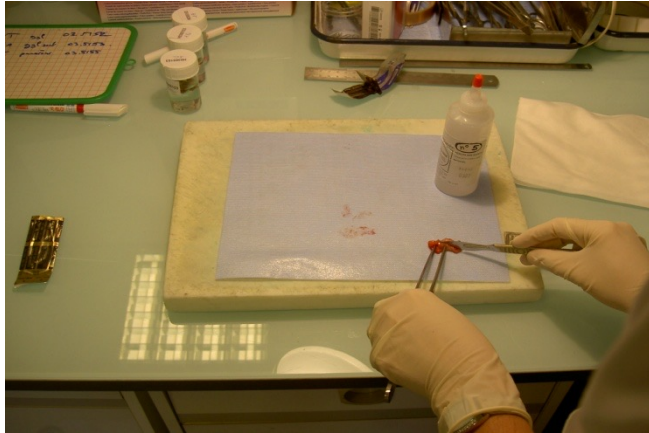
- Prélèvements fixés dans le formol:
 - plusieurs mois avant élimination par incinération
- Blocs de paraffine et lames:
 - au moins 10 ans (40 pour la pédiatrie)



1.4. Examen extemporané

- Définition: **Examen anatomopathologique** réalisé **pendant une intervention** et dont le but est d'**adapter le geste opératoire** au diagnostic
- Trois critères :
 - rapidité: < 30 min
 - fiabilité : modification du geste opératoire
 - sécurité : ne pas compromettre le diagnostic définitif
- Indications : posées conjointement par le chirurgien et le pathologiste
 - établir un diagnostic modulant le geste opératoire
 - déterminer si le prélèvement est suffisant pour faire un diagnostic
 - confirmer la qualité des limites d'exérèse

Examen extemporané : technique



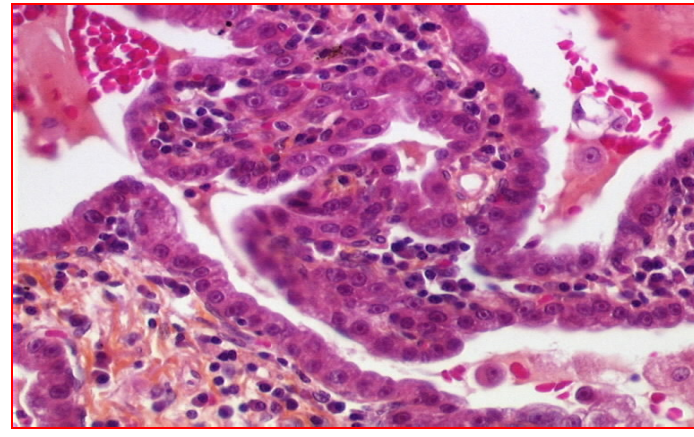
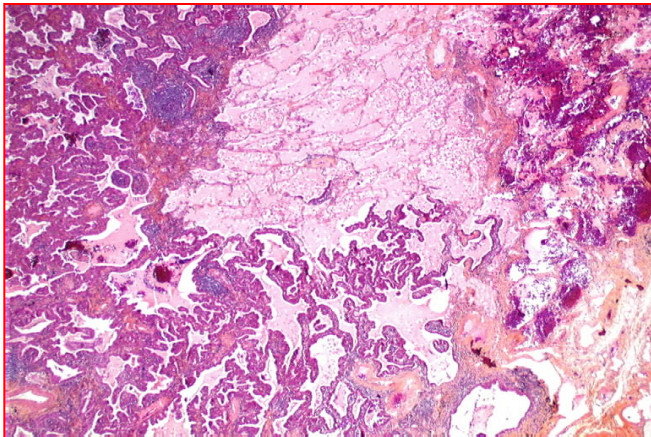
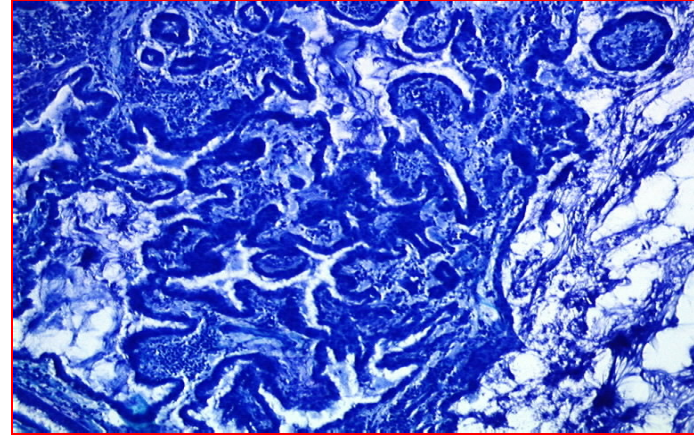
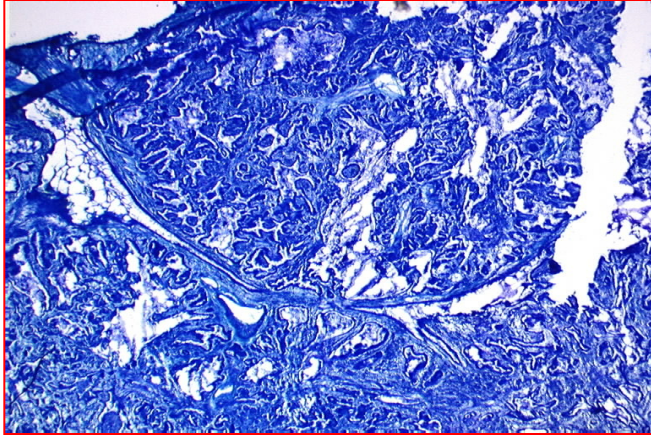
15/01/2024

- Examen externe
- Coupe au cryostat

Examen extemporané : coloration

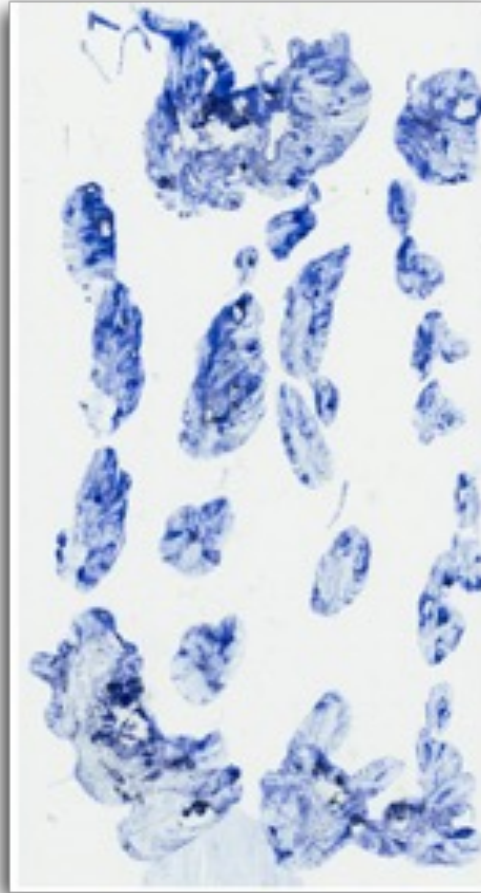
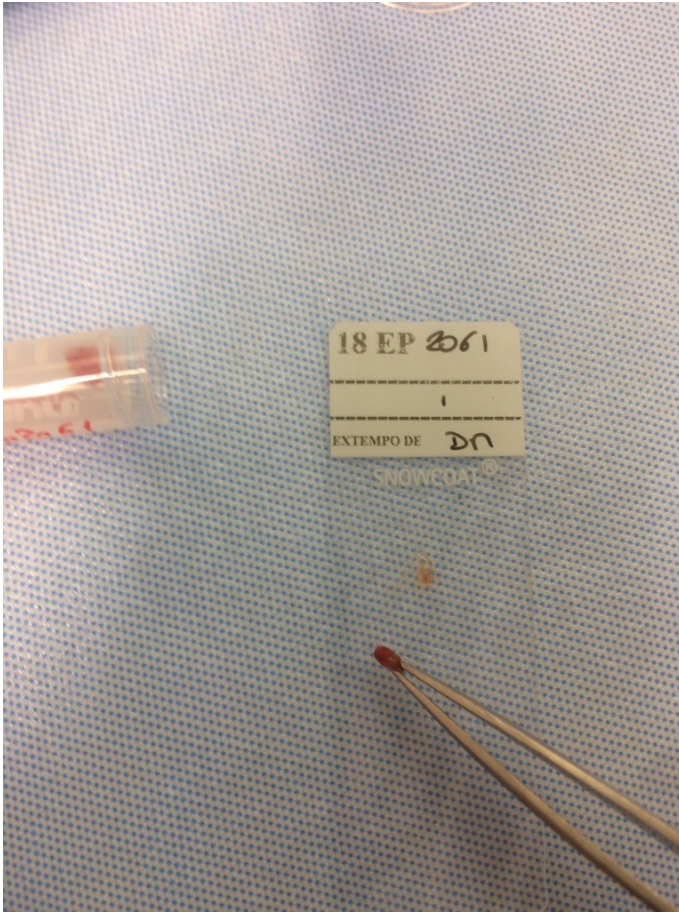


Examen extemporané: coloration



- Bleu de toluidine
- Hématéine Eosine Rapide

Examen extemporané : technique



15/01/2024

- Apposition cellulaire
- Coloration bleu de toluidine

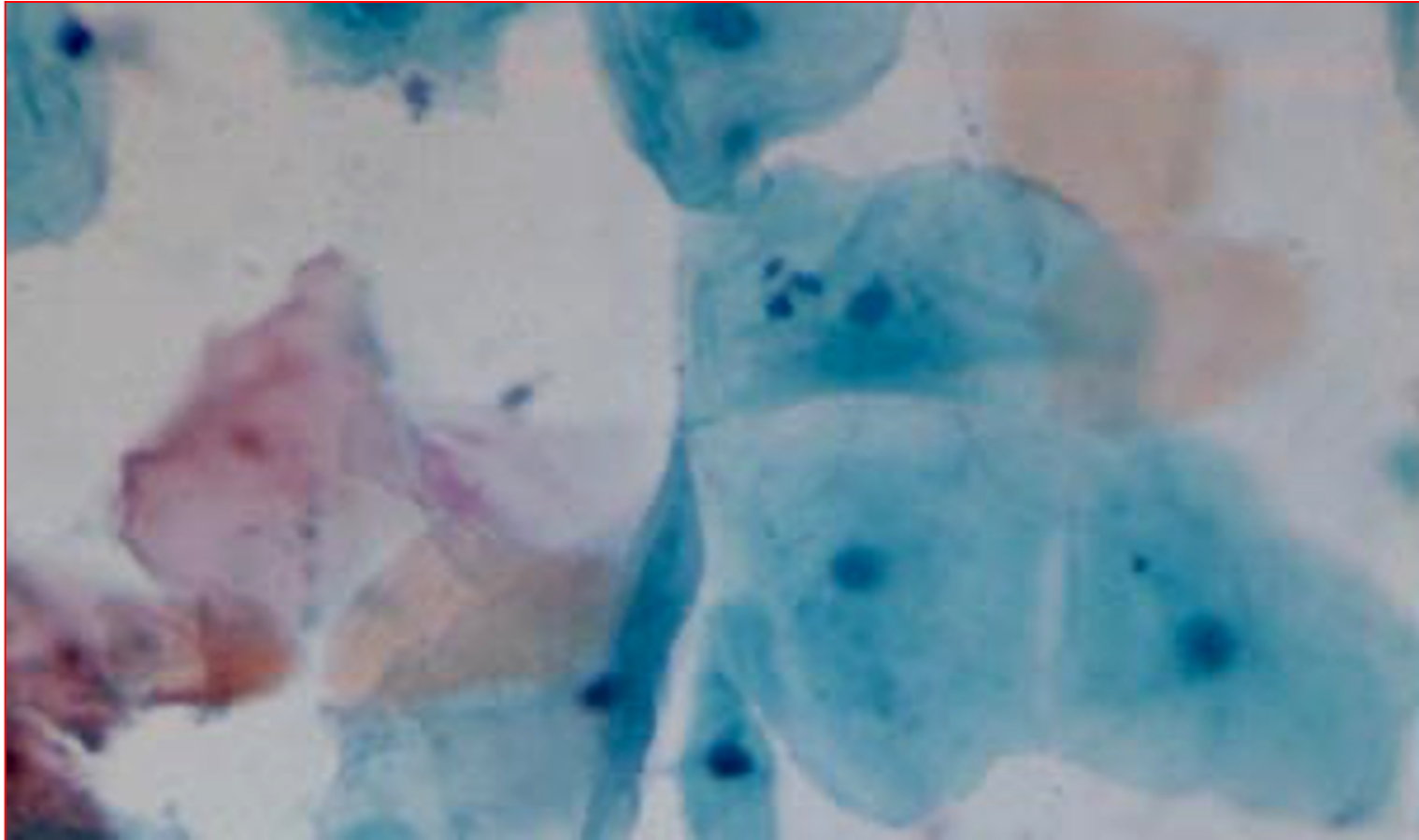
Examen extemporané

- C' est une réponse provisoire
- Attendre la réponse définitive
- Le fragment examiné en extemporané est fixé et fait l'objet d'une technique standard

1.5. Cryoconservation des tissus

- Diagnostic (Pathologie musculaire, Néphropathologie) -> Immunofluorescence
- Recherche
 - Collections de tumeurs
 - Réseau de banques de tissus cryopréservés
 - Centre de ressources biologiques des HCL
 - développée de manière transversale
 - entre les 2 centres de pathologie

2. Cytopathologie: Etude des cellules isolées



2. Cytopathologie

2.1. Prélèvements

2.1.1. Frottis, brossages

2.1.2. Liquides

2.1.3. Ponctions

2.1.4. Appositions

2.2. Techniques

2.3. Fixation et coloration

2.1.1 Prélèvements

Femme en période d'activité génitale
Consultation gynécologique

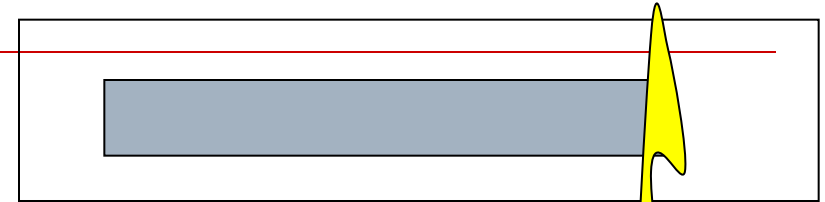
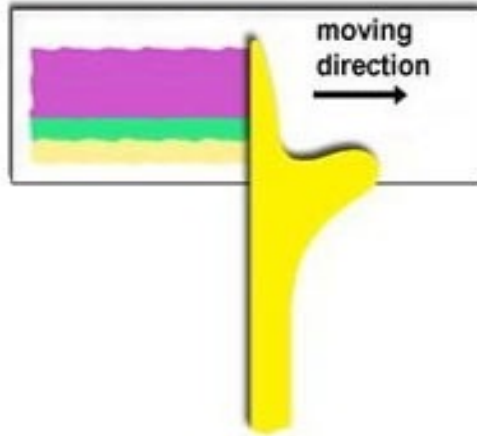
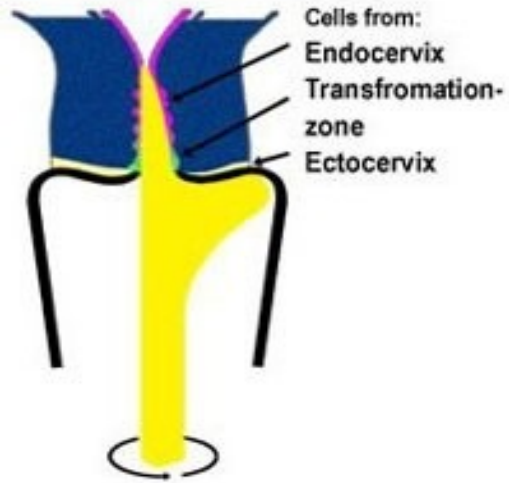
Frottis cervico-utérin

- ❑ Prélèvement sous contrôle de la vue
- ❑ Pose d'un spéculum
- ❑ Col de l'utérus
 - Exocol
 - Endocol

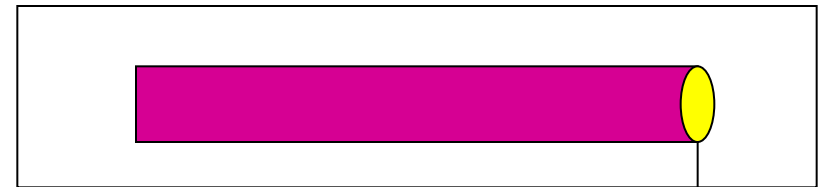


Frottis cervical

Méthode classique



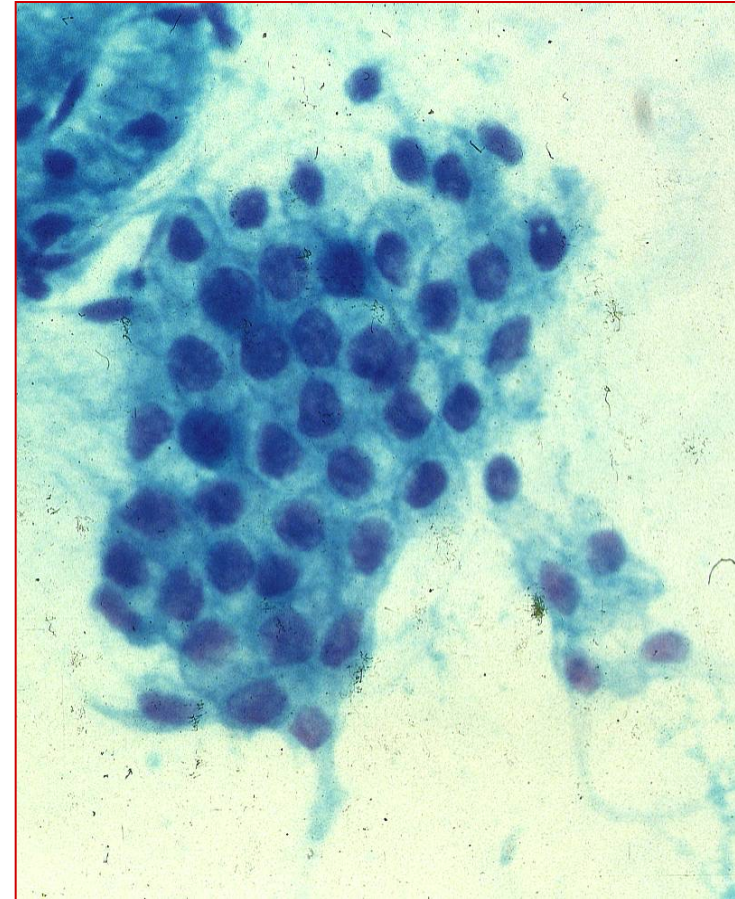
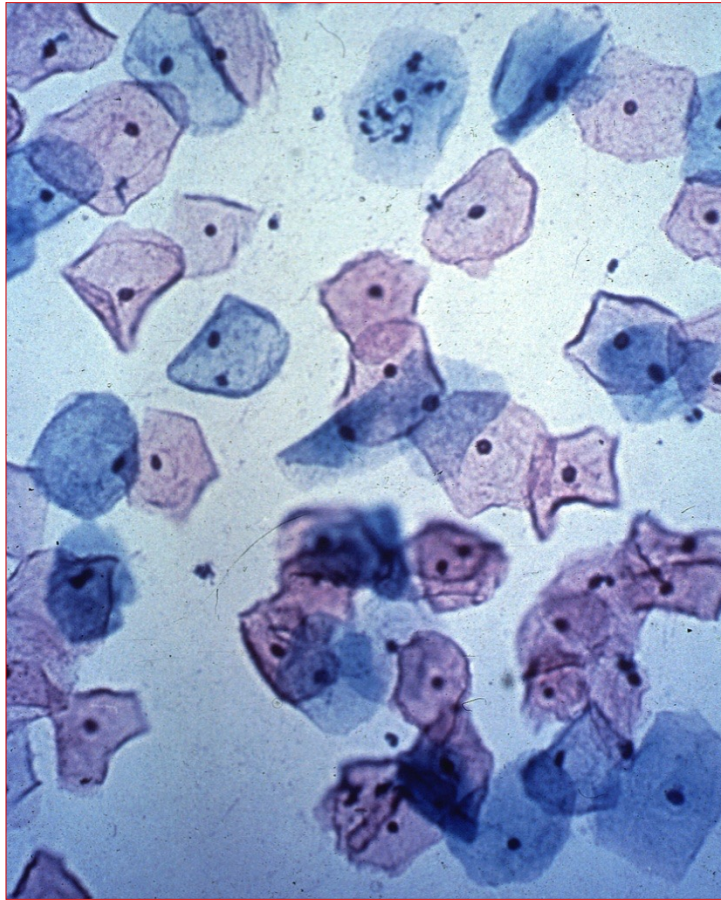
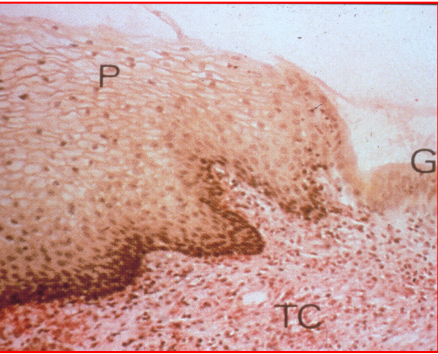
Exocol



Endocol

Fixation immédiate

Frottis cervico-utérin normal

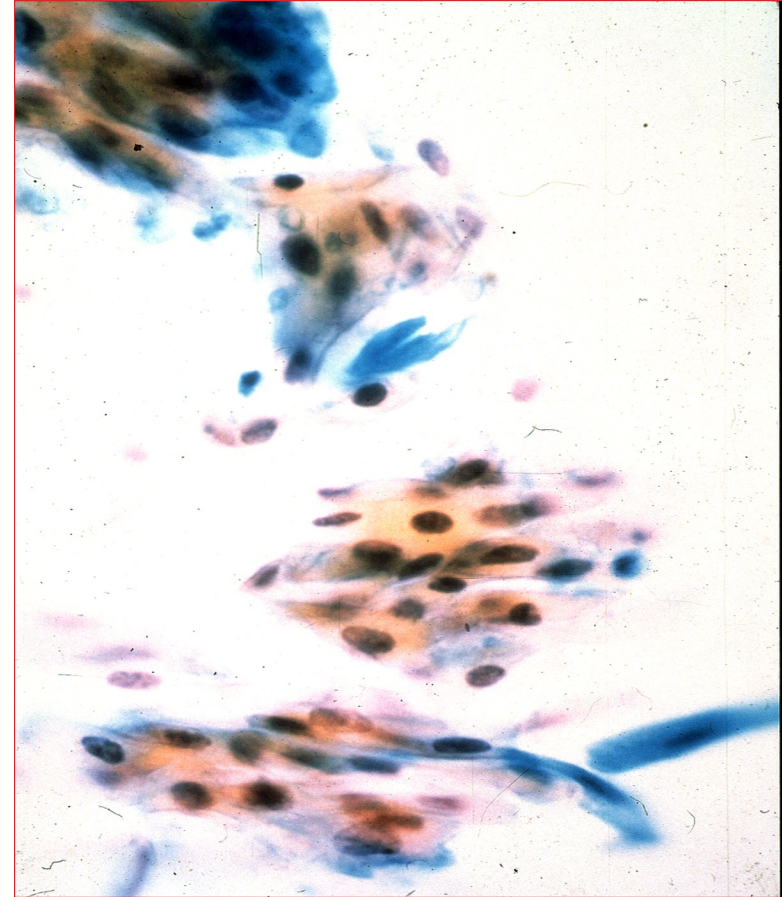
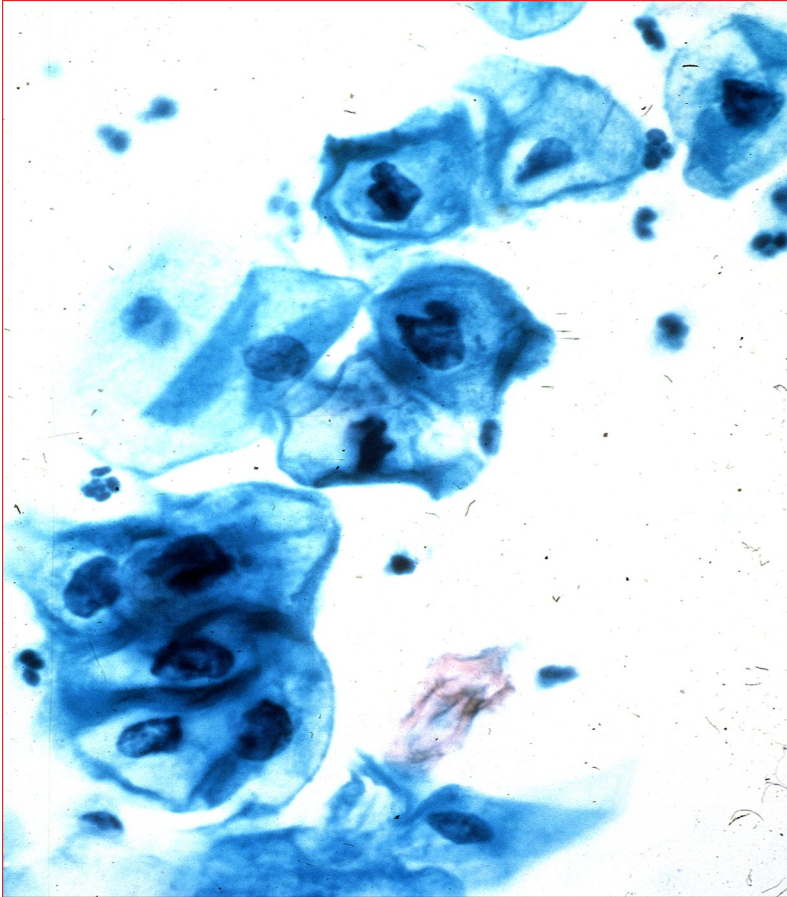


15/01/2024

Exocol : cellules malpighiennes
superficielles et intermédiaires

Endocol : amas de cellules
glandulaires

Diagnostic cytopathologique: Infection à PVH (Papilloma Virus Hominis)

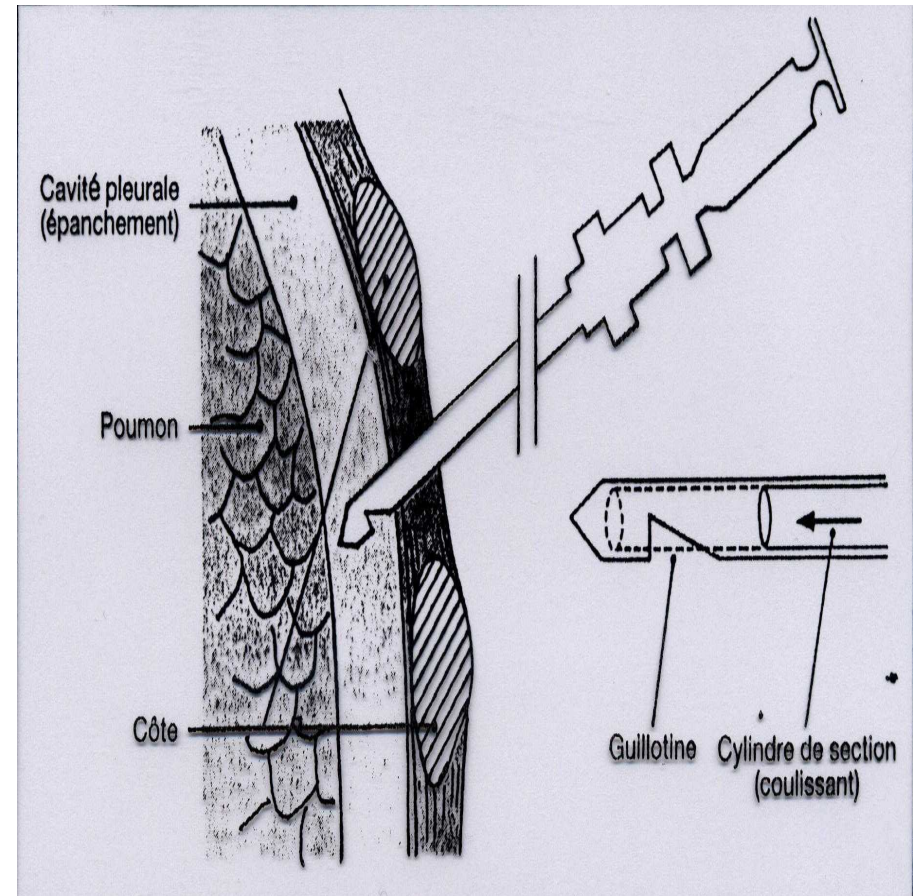


15/01/2024 Cellules à « trou »: koilocytes

Dyskératose : kératinisation anormale

2.1.2. Liquides de ponction

- Liquide d'épanchement:
 - Plèvre,
 - Péritoine,
 - Péricarde
 - Articulation,
 - Liquide céphalo-rachidien
- Cytoponction à l'aiguille ou au trocart, sur tube sec et stérile



Acheminement immédiat, conservation à 4° C, avec ou non anticoagulant



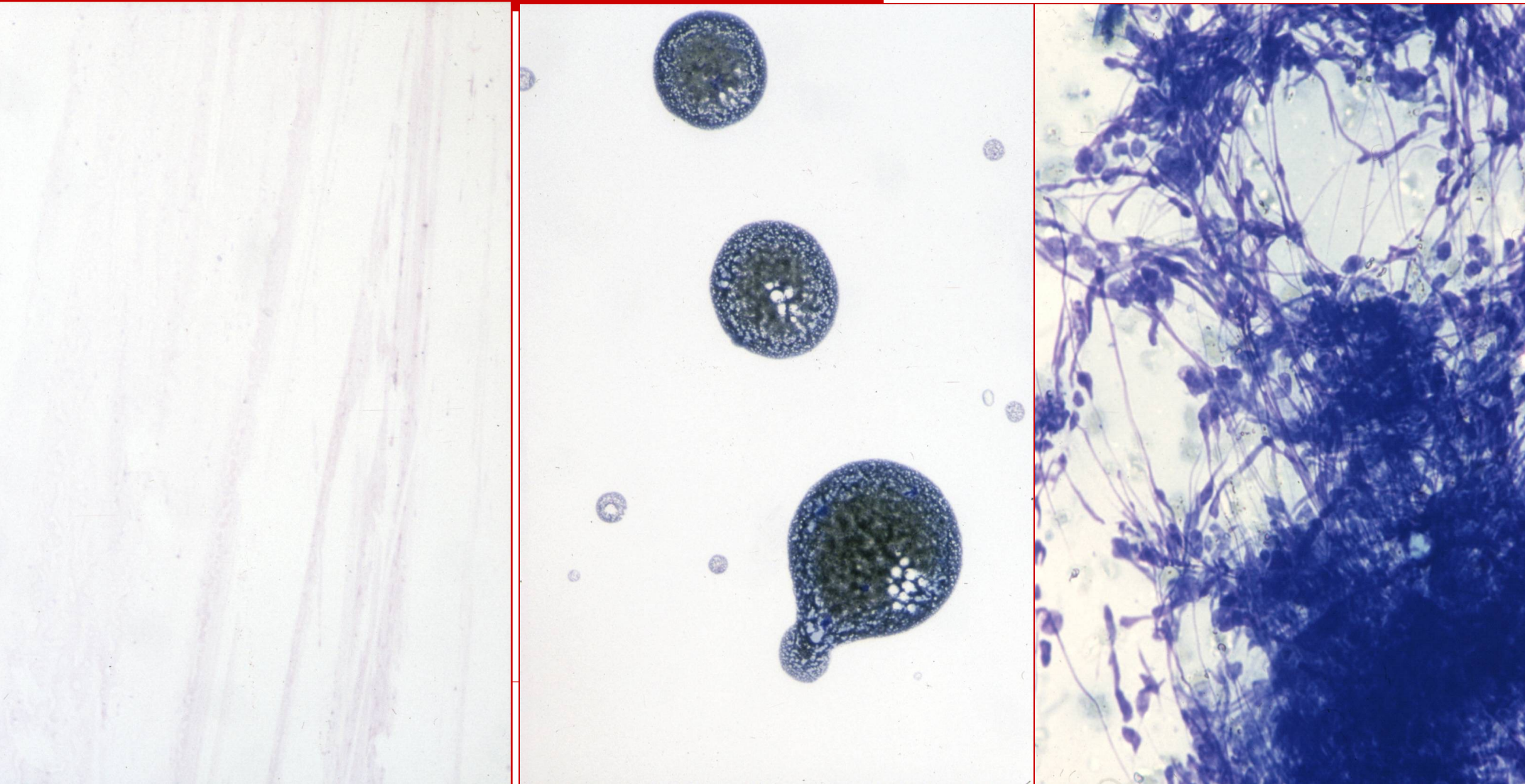
2.1.3. Cytoponctions d'organes pleins

- Sous contrôle de la vue directement:
 - organes superficiels : sein, ganglion, thyroïde..
- Sous contrôle radiographique – échographie, TDM.. :
 - organes profonds poumon, foie, pancréas...

Cytoponction ganglionnaire

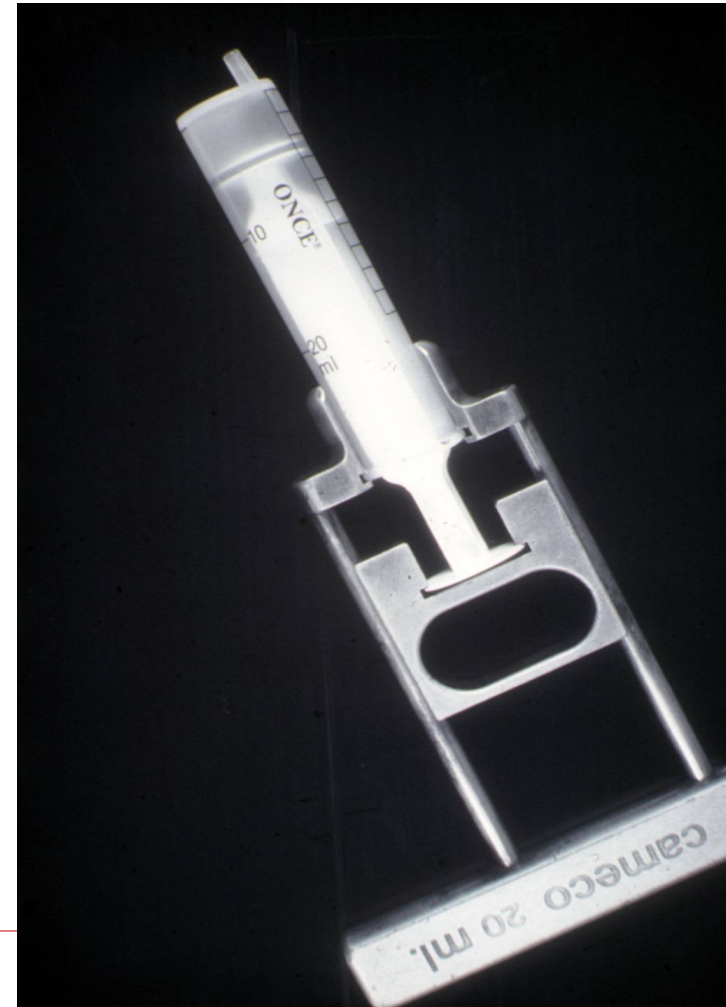
- aiguille IV sur seringue;
- faire le vide dans la seringue,
- piquer et remuer l'aiguille pour dilacérer,
- aspirer,
- projeter délicatement le matériel sur la lame,
- étaler délicatement avec l'aiguille

Cytoponction ganglionnaire



Cytoponction organes profonds

- Repérage radiographique
 - Échographie
 - Tomodensitométrie
- Lésion: cible
- Aiguilles fines



Ponction thoracique TDM

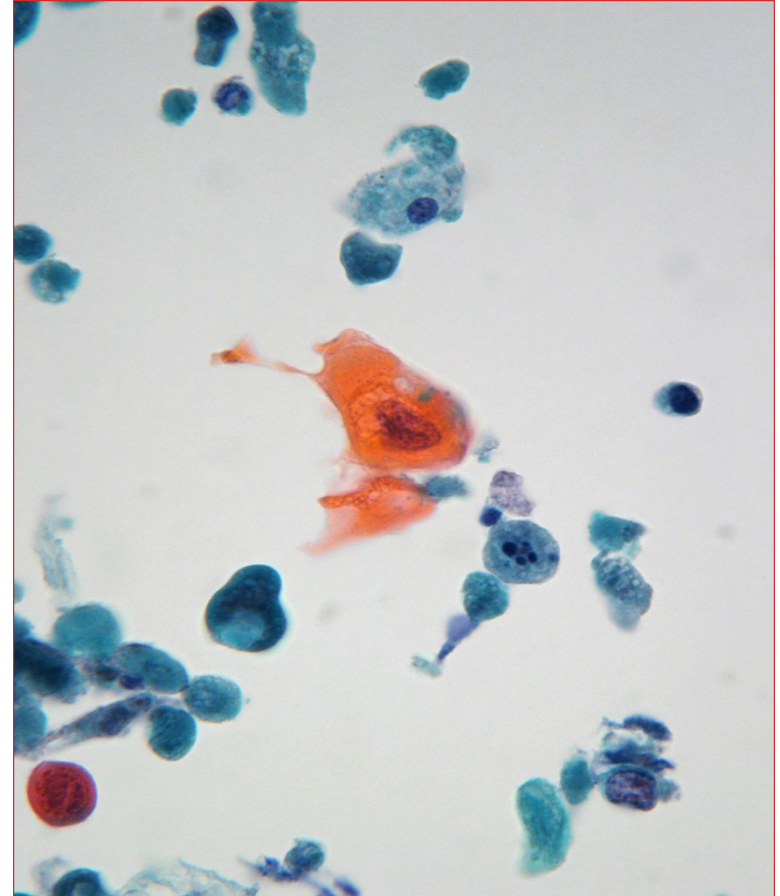


2.2. Technique

- Étalement direct sur une lame de verre
 - Éviter les superpositions cellulaires,
 - Ne pas écraser les cellules,
 - Respecter le sens de la lame
- Cytologie en phase liquide

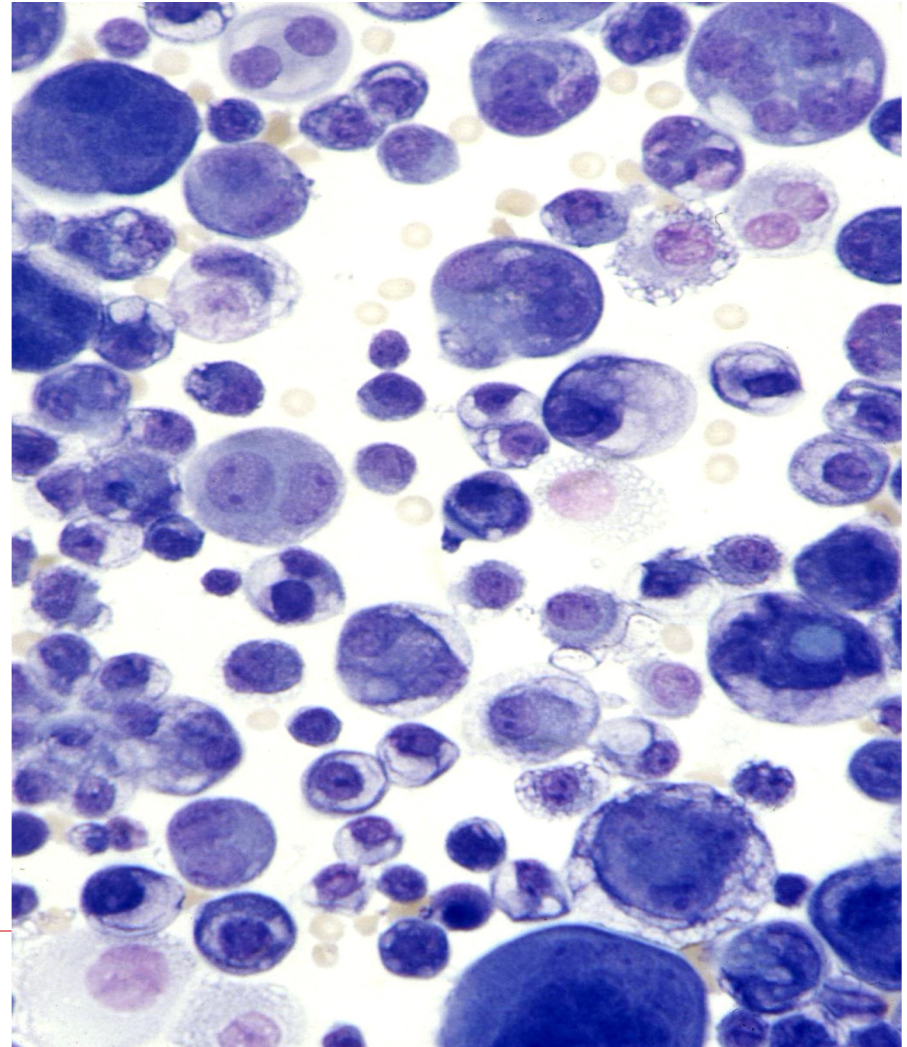
2.3. Fixation et coloration

- Fixation immédiate:
 - alcool à 95°
 - laque fixative
- Coloration de Papanicolaou
 - Cellules épithéliales



2.3. Fixation et coloration

- Coloration de May-Grünwald-Giemsa
 - Cellules hématopoiétiques
- Pas de Fixation
 - Séchage actif à l'air



3. Les outils du pathologiste

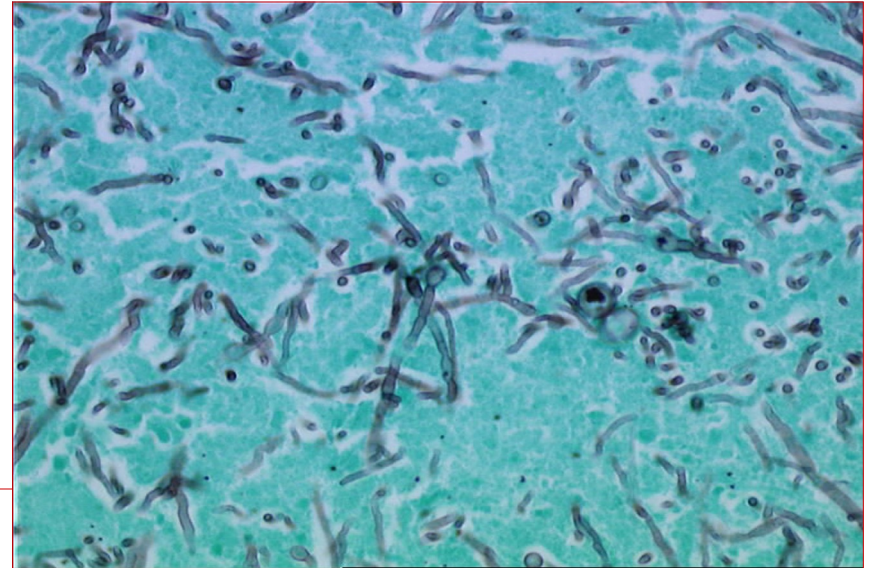
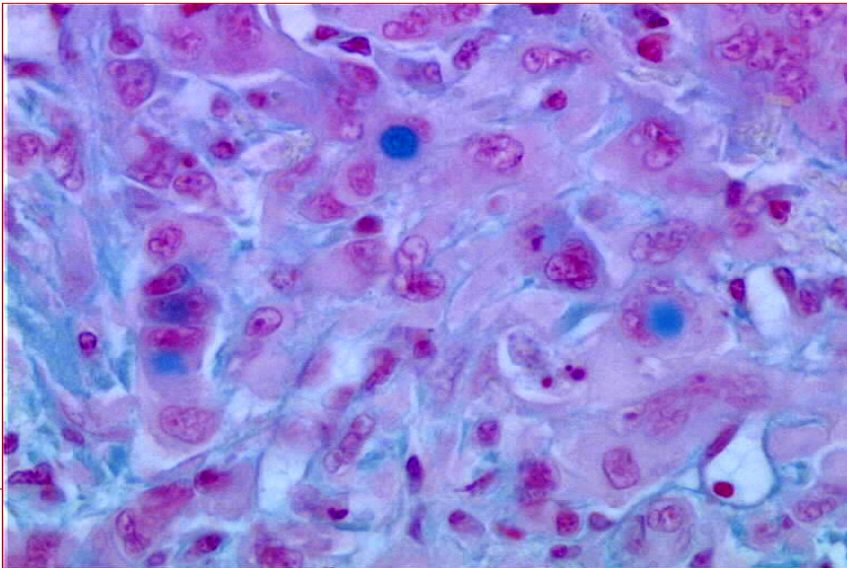
- La morphologie conventionnelle
- Histochimie
- Examen en lumière polarisée
- Immunohistochimie
- Biologie moléculaire somatique
- Cytogénétique moléculaire in situ
- Morphométrie
- Enzymologie
- Microscopie électronique

Histochimie : colorations spéciales

□ Mucus : bleu alcian

□ Glycogène : PAS

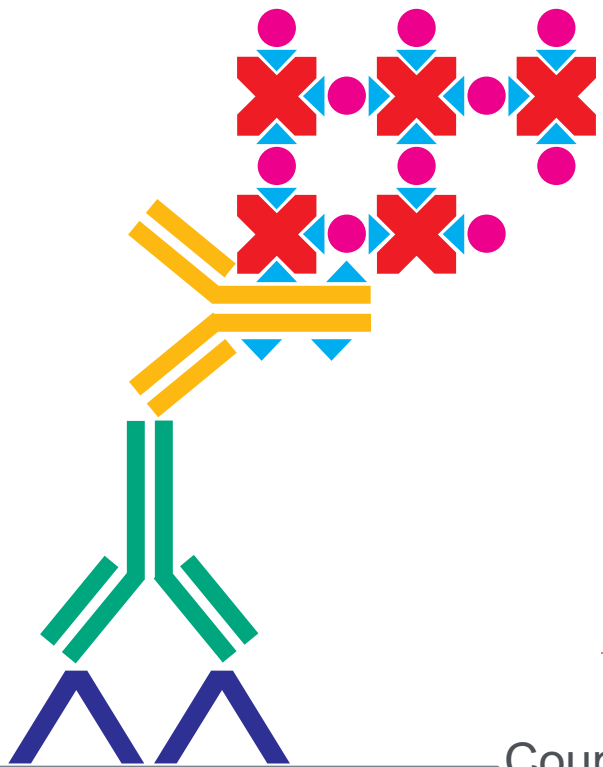
□ Mycose : Grocott



Immunohistochimie

H₂O₂+DAB (= 3,3'-diaminobenzidine)

Formation d'un précipité marron



Anticorps secondaire biotinylé



Streptavidine



Enzyme



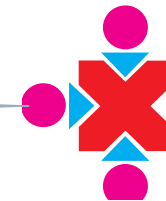
Biotine



Epitope tissulaire



Anticorps primaire



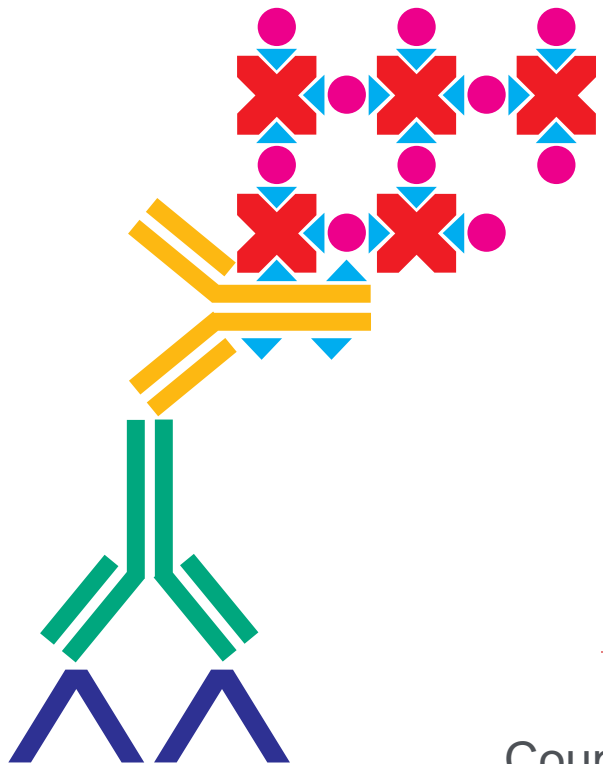
Complexe
Streptavidine
Biotine

Coupe

Immunohistochimie : automatisatisation

H₂O₂+DAB (= 3,3'-diaminobenzidine)

Formation d'un précipité marron



Coupe

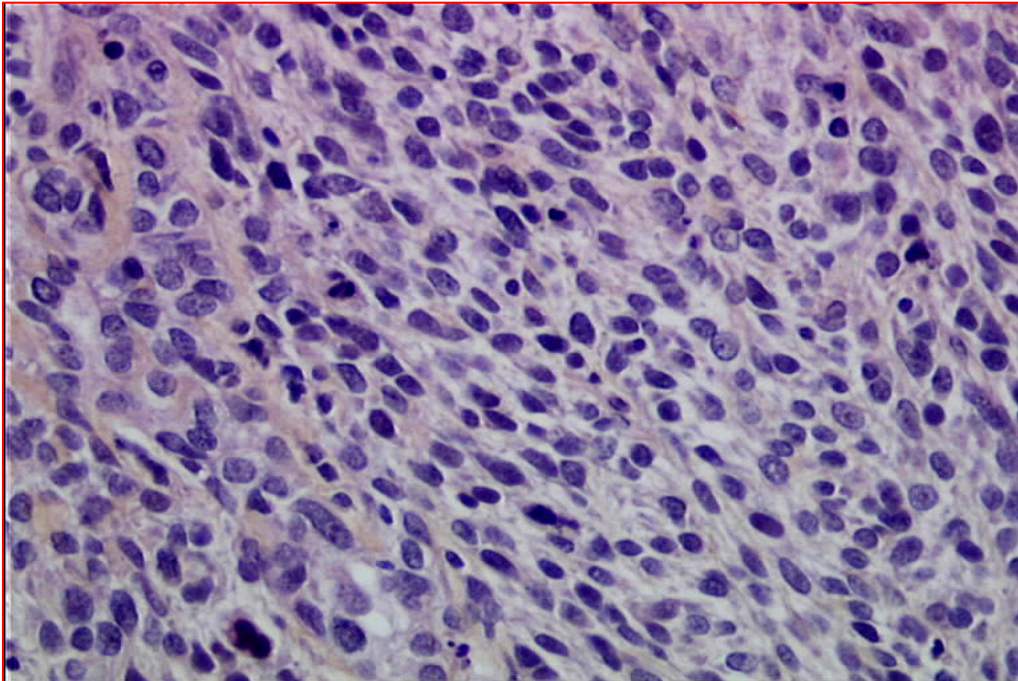
Immunohistochimie : différenciation

- Cytokératine :
 - cellules épithéliales
- Protéine S-100 :
 - cellules nerveuses
 - adipocytes
 - mélanocytes
- CD 45:
 - cellules lymphoïdes
- Chromogranine:
 - cellules neuro-endocrines

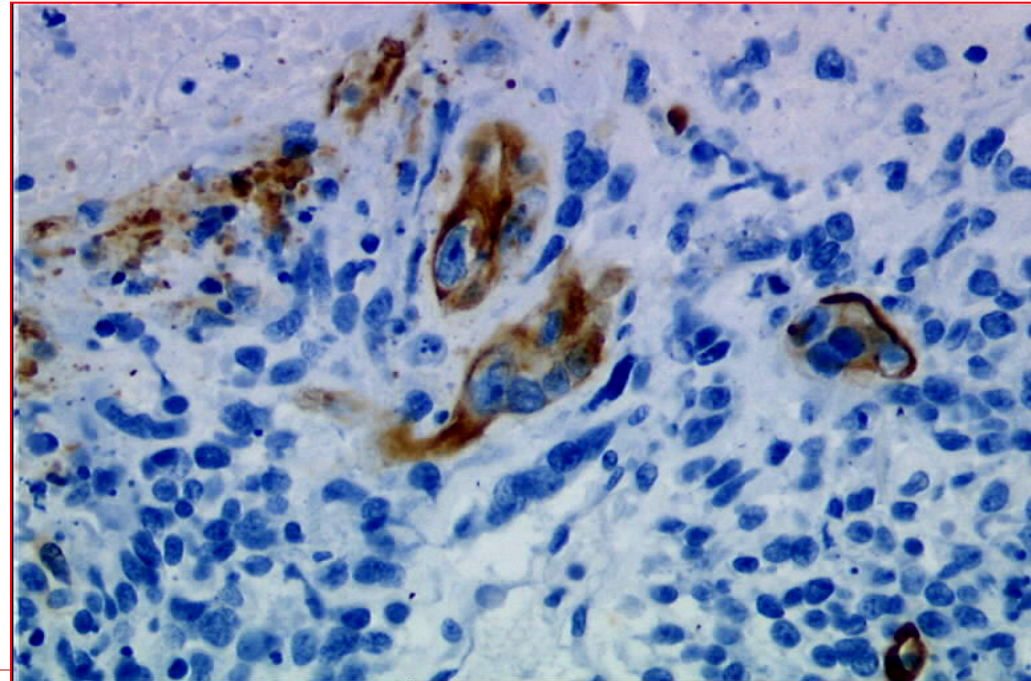
IHC intérêt :

aide au diagnostic du type de la tumeur

Tumeur pulmonaire à
cellules fusiformes :
sarcome?



Cytokératine + : carcinome
pseudo-sarcomateux
(pléomorphe)

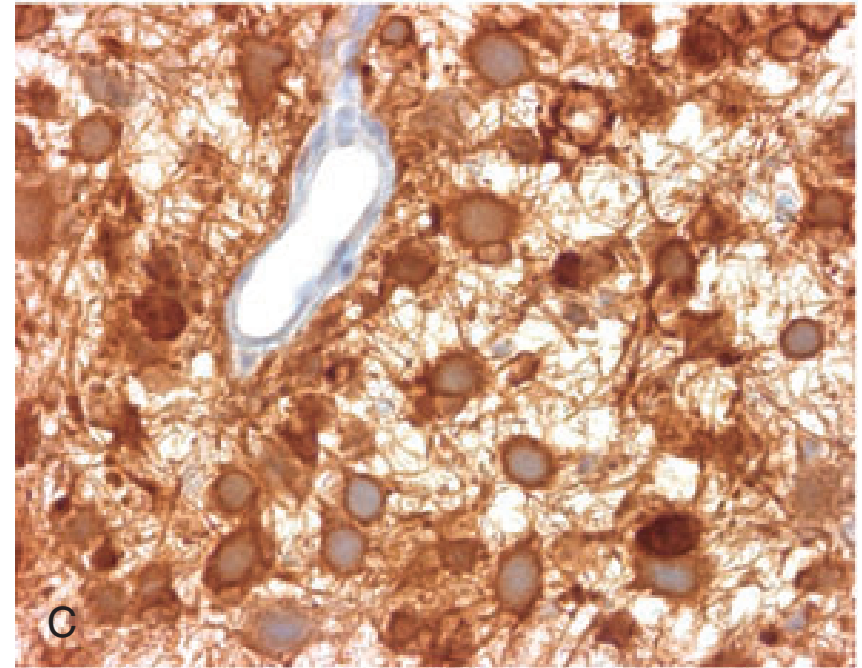


IHC intérêt : origine d'un adénocarcinome

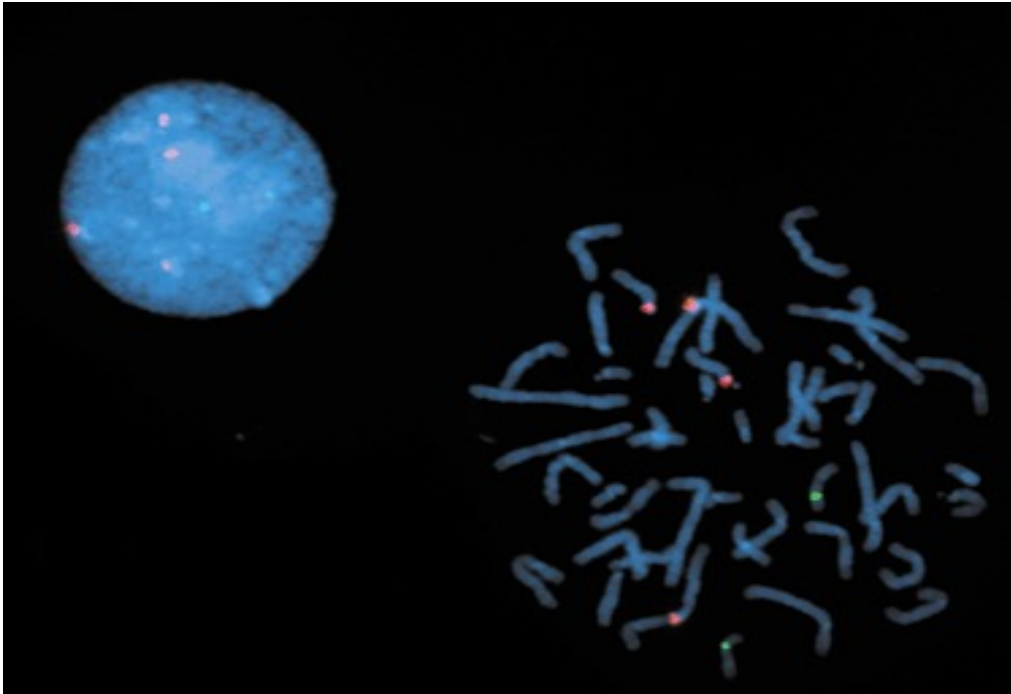
- Cytokératine 7 et cytokératine 20
 - Colon: CK7 - / CK20 +
 - Sein, poumon, gynéco, pancréas : CK7 + / CK20 -
 - Prostate, rein, vessie : CK7 - / CK20 -
- Récepteurs hormonaux :
 - Sein, gynécologie
- TTF-1 :
 - Poumon, thyroïde
- Thyroglobuline : thyroïde
- PSA : prostate

Immunohistochimie « moléculaire »

- ❑ Perte d'expression révélant une délétion
- ❑ Anticorps spécifiques de la protéine mutée
 - Il ne reconnaissent pas la protéine native (non mutée)
 - La coloration apparaît uniquement en cas de présence de la protéine modifiée par la mutation
- ❑ Exemple : Anticorps anti BRAF V600E dans les mélanomes



Cytogénétique moléculaire in situ

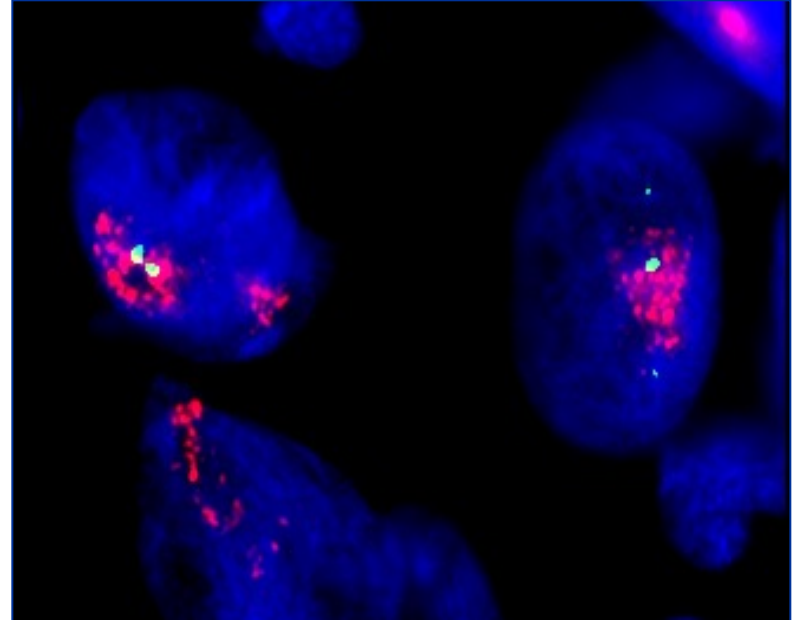
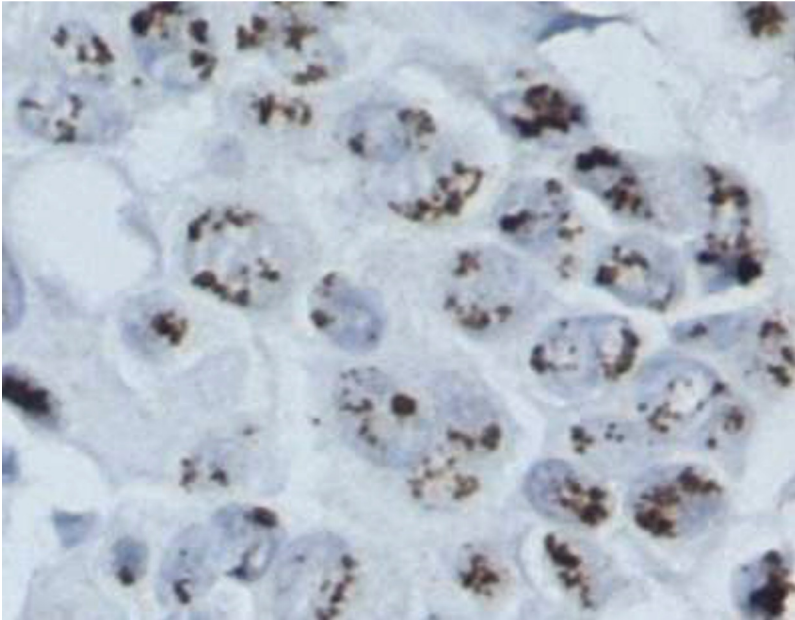


- ❑ Marquage des séquences chromosomiques spécifiques par des sondes moléculaires:
- ❑ Identification d'un segment chromosomique ou d'un domaine spécifique

CISH

FISH

- Amplification du gène HER2 neu dans les cancers du sein



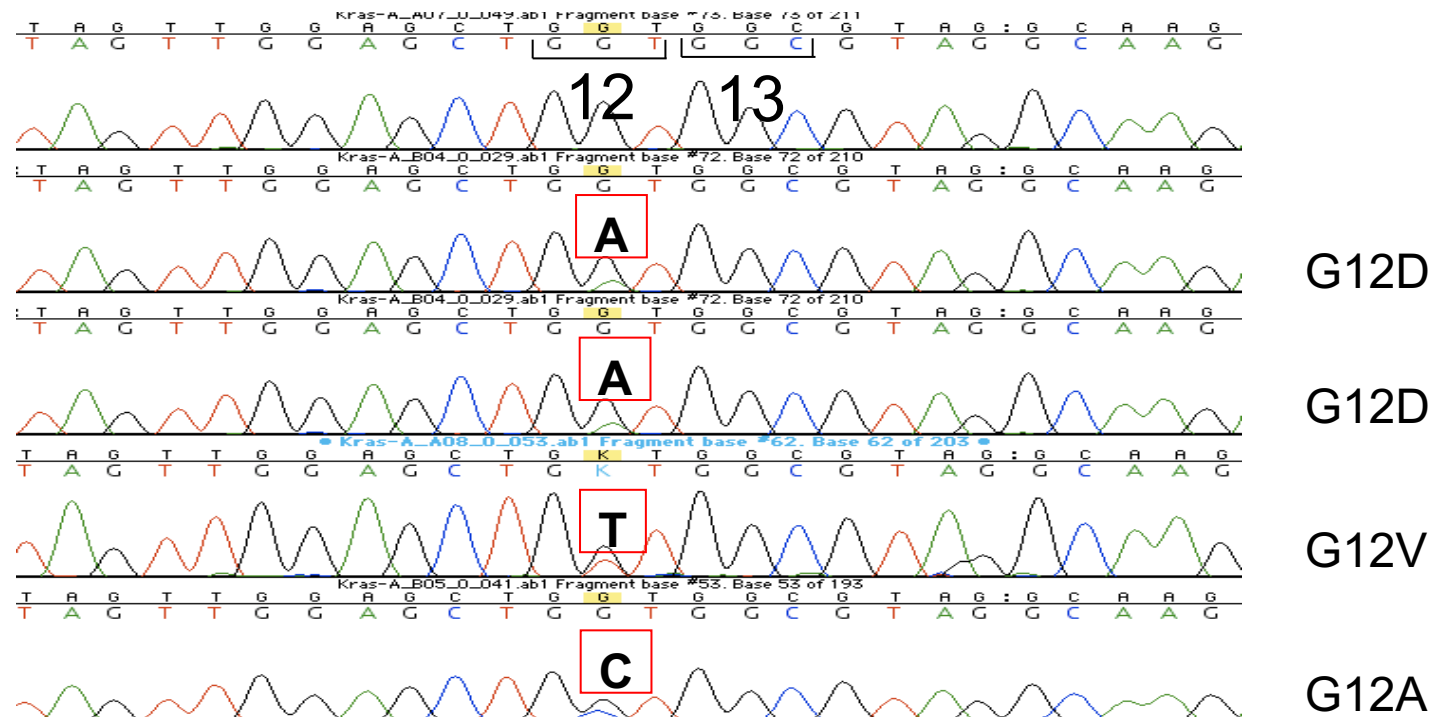
Sonde + Fluorochrome

Rouge = Gène amplifié

Vert = centromère

Les outils du pathologiste

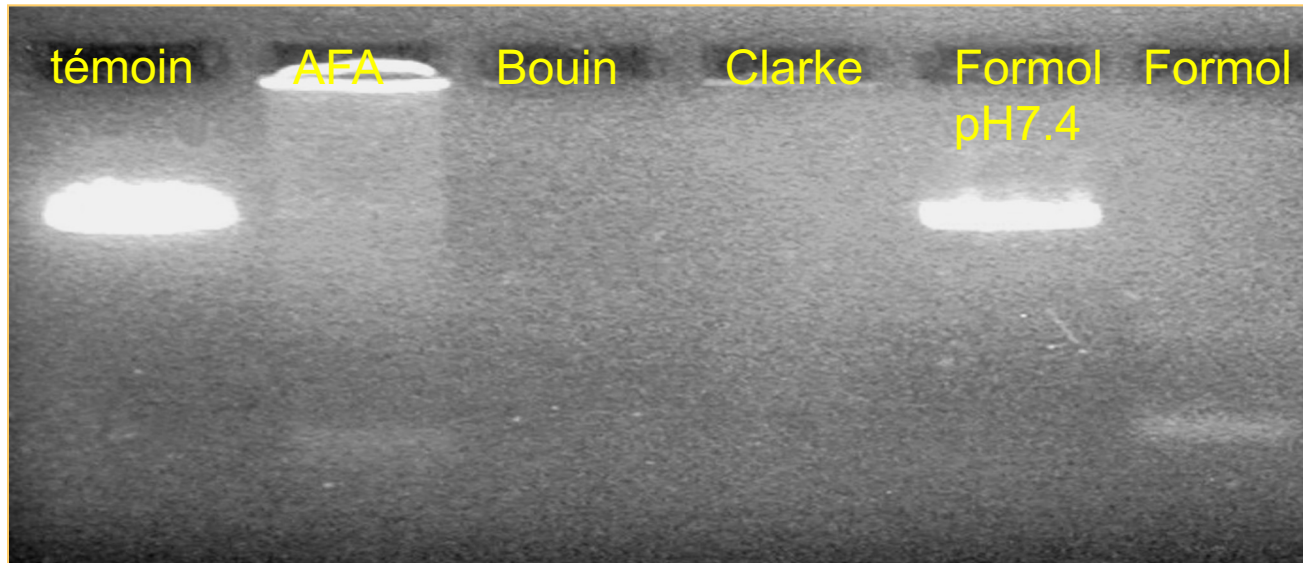
- Biologie moléculaire appliquée aux tissus après extraction ADN/ARN des coupes tissulaires



Les nouvelles responsabilités du pathologiste

- Maitrise des étapes pré analytiques : conditionnement des prélèvements et traçabilité
-

- Choix du fixateur / cryopréservation



- Préparation des tissus en vue d'analyses moléculaires: microdissection

4 .Autopsie : étude des lésions sur les patients décédés

- Intérêt : cause réelle du décès
- Cause connue : 25 % - 30 %
 - Certaines lésions ne sont pas chirurgicales
- Physiopathologie
 - Cause de la maladie, d'une malformation...
- Épidémiologie (Centres de références)
 - Ex Maladie de Creutzfeldt Jakob

4.1 Autopsie hospitalière ou autopsie scientifique

- ❑ « Vérification » anatomique du diagnostic clinique
- ❑ Services centraux ACP
- ❑ Lois de bioéthique 22 juillet 1994 – 2007
2017
 - ❑ présomption de consentement
 - ❑ Information de la famille
 - ❑ En pratique courante : Formulaire de consentement du responsable légal ou du patient (programme de donneur)

En pratique

- Formulaire de demande d'autopsie
 - fourni par l'administration et signé du chef de service
 - Contre signature par l'administration (bureau des entrées) qui vérifie
- Interrogation du registre national des refus
 - Etabli l'absence d'opposition par le patient de son vivant
- Consentement écrit
 - si la famille ne s'oppose pas à la vérification anatomique

Autopsie Foetale

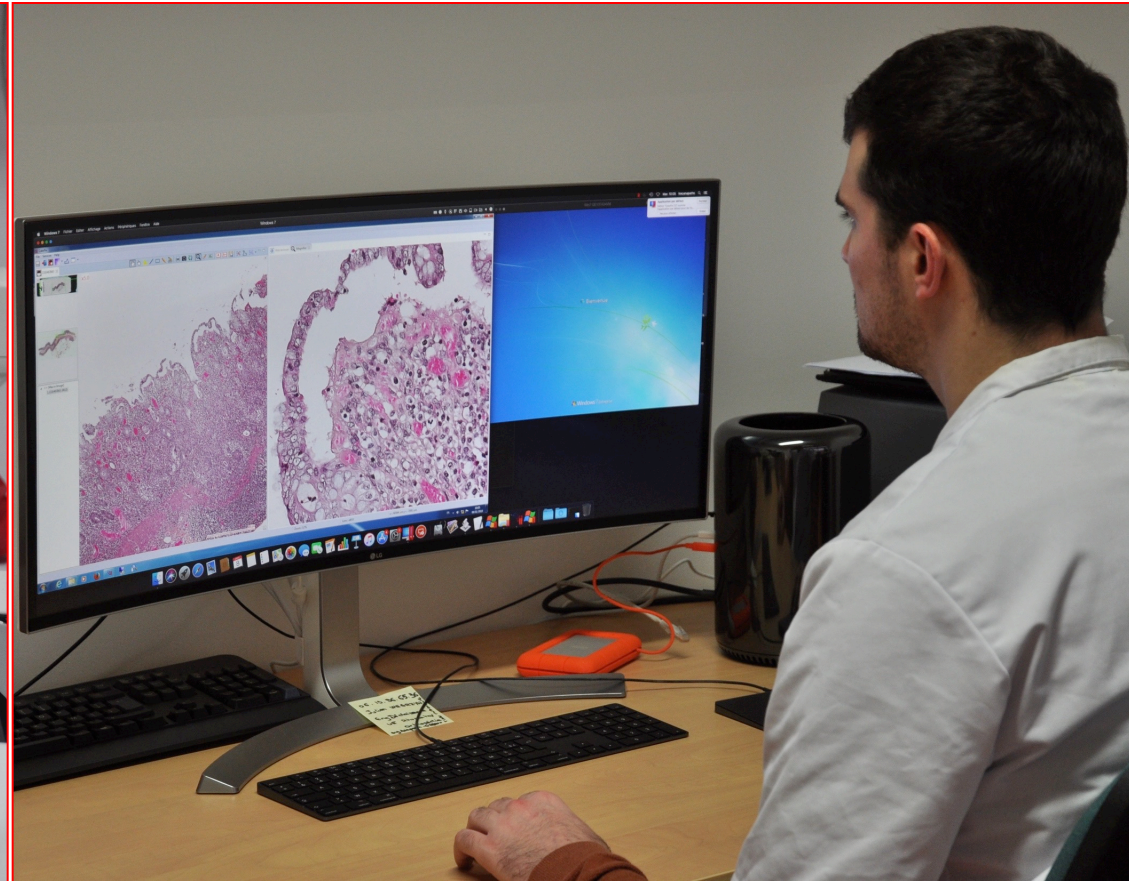


15/01/2024

4.2 Autopsie médico-légale

- Institut de médecine légale
- Médecin légiste
- Juge d'instruction

Lecture des lames et réalisation des CR



15/01/2024

Résultats : attendre?

- ❑ Quelques minutes: examen extemporané
- ❑ J1: examen cytopathologique
- ❑ J2-J3: biopsie
- ❑ J5-J10: pièce opératoire
- ❑ Plusieurs semaines: microscopie électronique

5. Intérêt de l' ACP

□ Utilité pratique

1. Porter un **diagnostic** (qu' est ce que c' est?)
2. Formuler un **pronostic** (est ce que c' est grave?)
3. Aider à la mise en place d' un **traitement spécifique** (comment je traite?)
4. **Evaluer** les thérapeutiques (est ce que mon traitement est efficace?)

□ Utilité théorique

1. Classification nosologique : anatomo-clinique
2. Classification étiologique

La pathologie est une discipline médico-technique

- **Dimension Médicale** = Place centrale de la sémiologie macroscopique et microscopique
 - Il y a donc des zones d'ombres
 - Erreurs diagnostiques (prémalin, cytologie, tissus mous, hématologie...)
 - Cas où l'on ne peut pas répondre avec certitude (biopsies...)
 - Les classifications évoluent
- **Dimension technique**
 - -> Diagnostic intégré = combinaison :
 - Du diagnostic morphologique
 - Avec les résultats de techniques biologiques appliquées à la lésion
 - Démarche qualité - certification sous l'égide de l'AFAQAP + ISO

5.1. Diagnostic

Le dernier maillon de la chaîne!

- Analyse des lésions élémentaires macroscopiques et microscopiques
- Examens complémentaires
 - histochimie
 - immunohistochimie
 - études génétiques et moléculaires
- Synthèse : diagnostic
 - Diagnostic intégré,
 - par exemple Diagnostic Histo-moléculaire

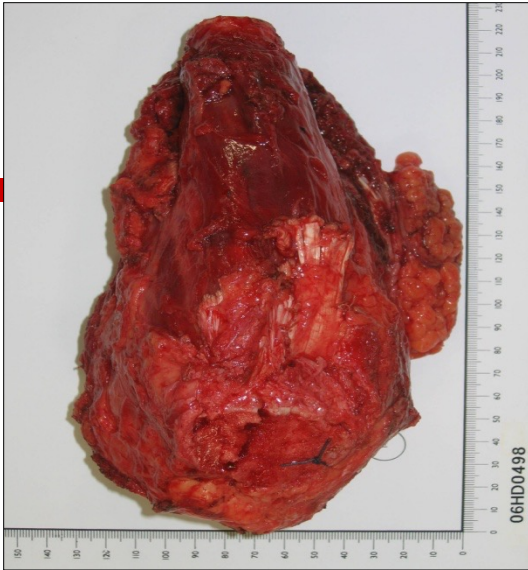
5.2. Pronostic

- Stadification : pTpNpM
 - prélèvements péritonéaux cancer ovaire
- Qualité des limites d'exérèse
- Grade histologique : SBR cancer du sein
- Différenciation
- Autres facteurs histo-pronostiques
 - type cellulaire
 - nombre de mitoses
 - Données histo-moléculaires intégrées

5.3. Evaluation thérapeutique

- Protocole de Huvos et Rosen sur les ostéosarcomes traités
- Quantité de nécrose / zone tumorale « vivace »

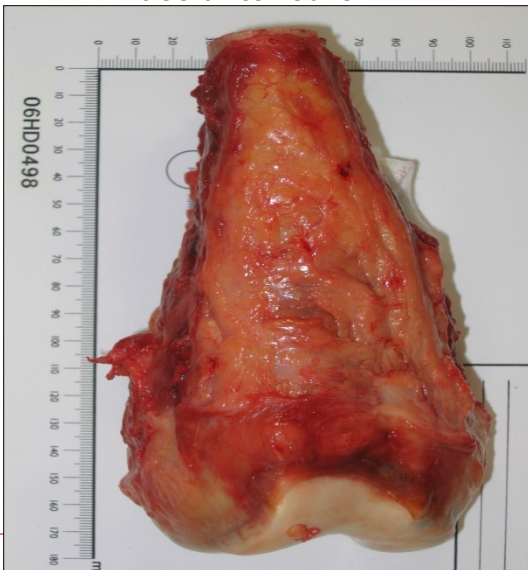
06H0498



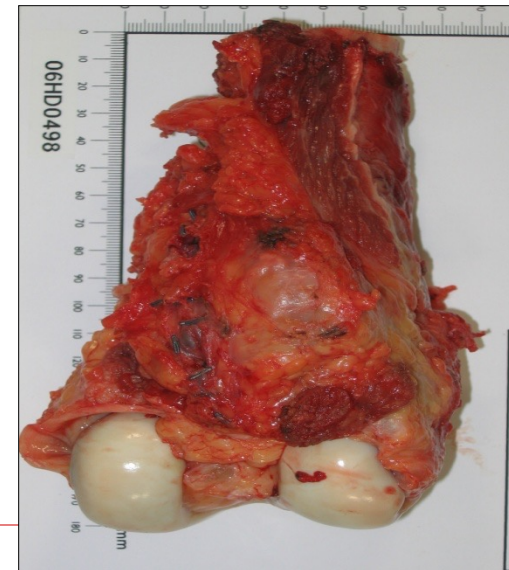
Face antérieure



Face postérieure



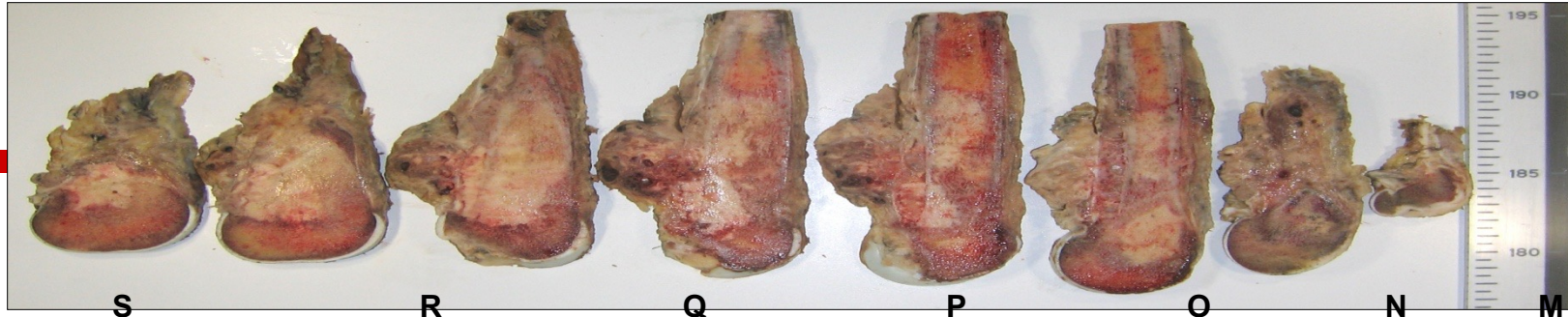
Fémur face antérieure



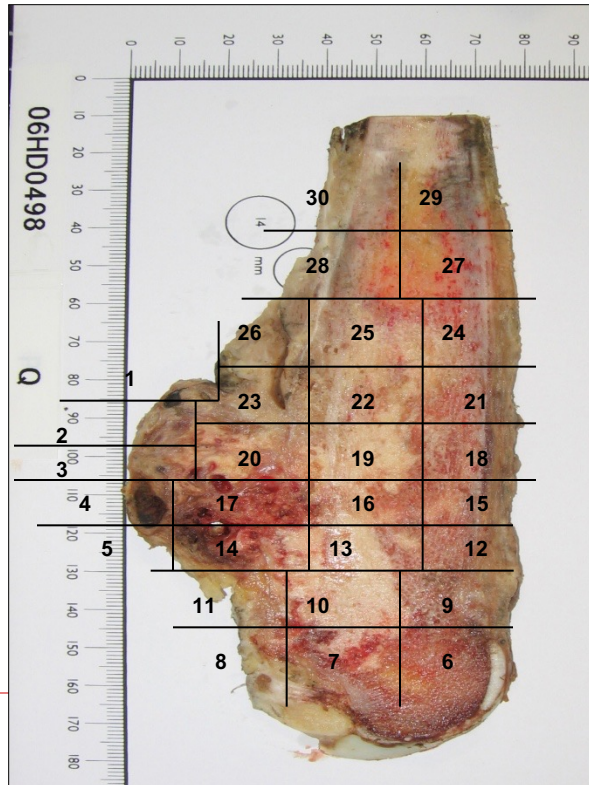
Fémur face postérieure

15/01/2024

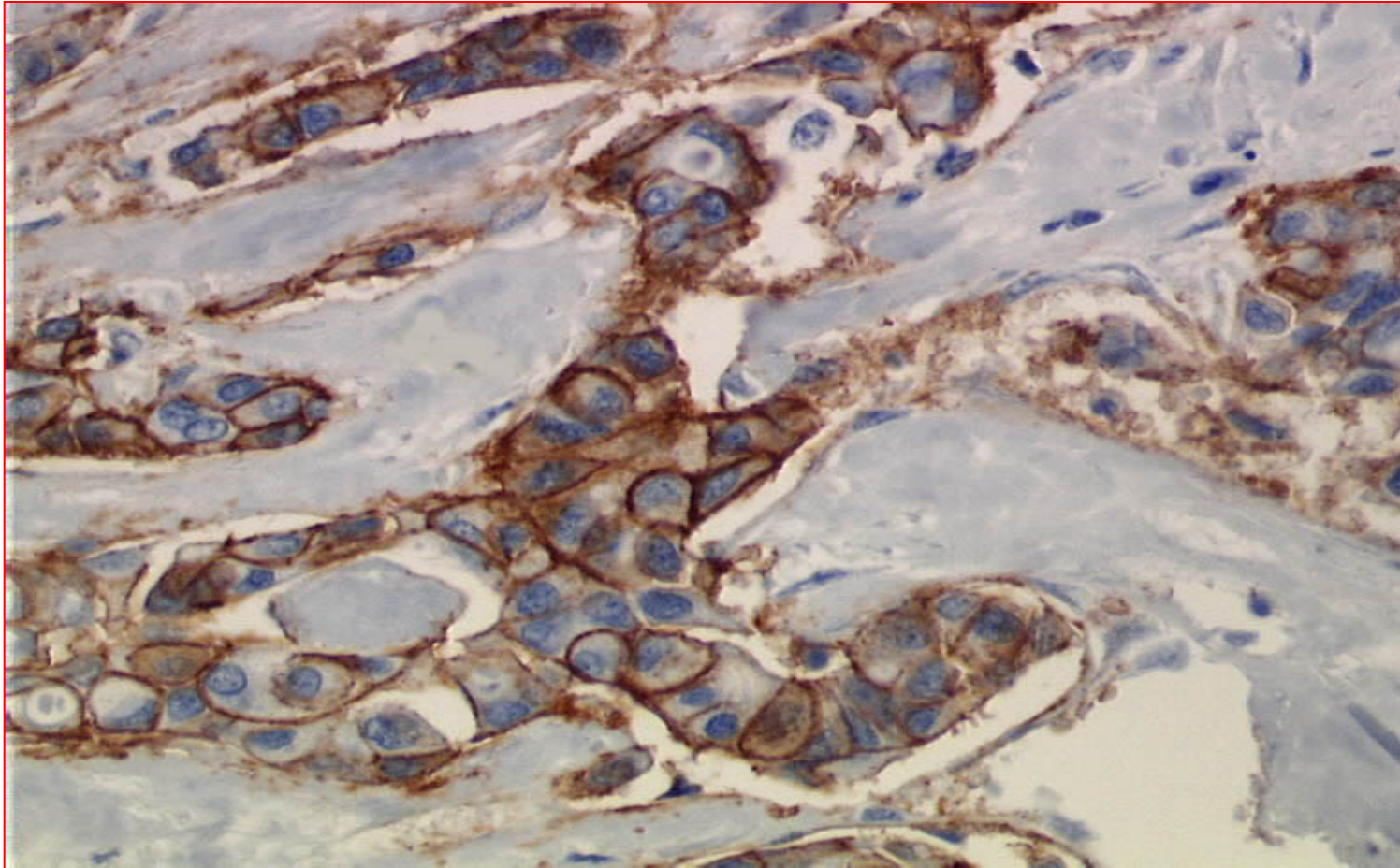
06H0498



Tranches sagittales



5.4. Mise en place d'un traitement spécifique : intérêt théranautique

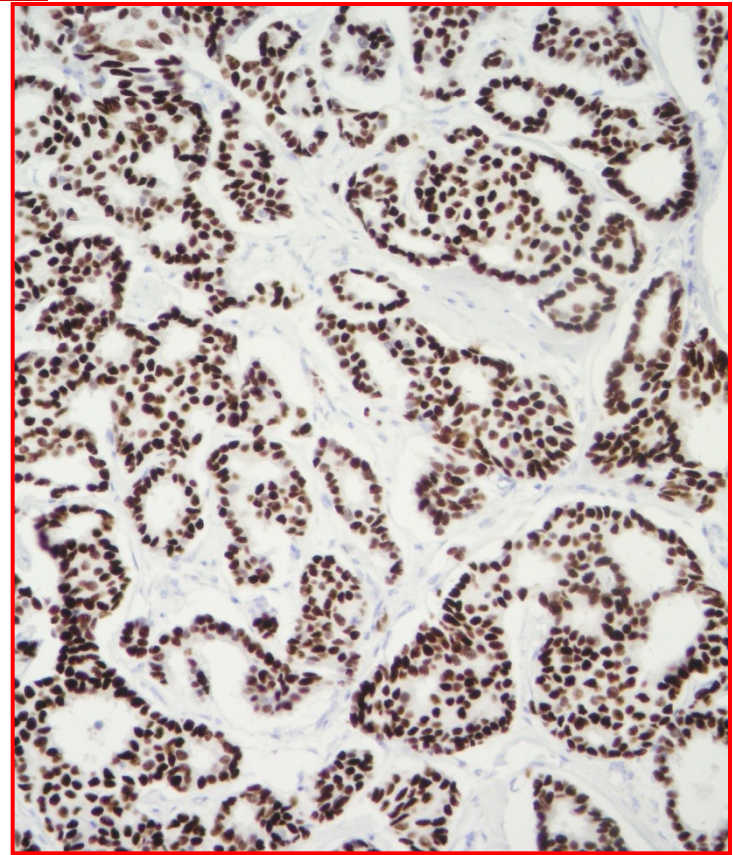
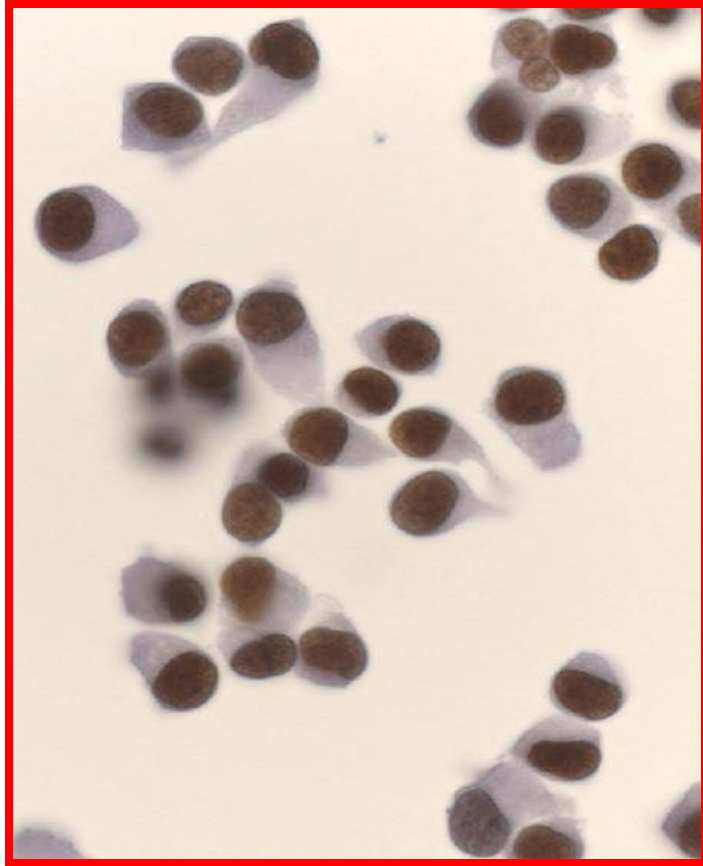


15/01/2024

Sur-expression de la protéine HER2neu : Score 3

Amplification du gène c-erbB2

5.4. Mise en place d'un traitement spécifique



Expression des récepteurs hormonaux (oestrogènes et progestérone)
15/01/2024 dans un cancer du sein: traitement anti-oestrogène

Intérêt scientifique

- ❑ Codage des lésions
- ❑ Épidémiologie
 - Comparer les pathologies
- ❑ Intérêt de l' ACP en santé publique
 - INVS
- ❑ Conservation tissulaire : « patrimoine génétique »
- ❑ Implication dans les programmes de recherche :
 - centre de ressources biologiques
 - Histopathologie expérimentale

Codification ADICAP (France)

- 15 caractères numériques et alphabétiques
 - 1 type de prélèvement
 - 2 type de technique
 - 3 appareil
 - 4 organe proprement dit
 - 5 pathologie tumorale
 - 6 comportement tumoral
 - 7et 8 précision du type tumoral

Exemple concret de codage d'une lésion

Diagnostic sur une biopsie chirurgicale vue par histologie d'une extension hépatique au lobe latéral droit d'un adénocarcinome peu différencié de la vésicule biliaire

CODE =

B.H.FF.AMA3.LL.D.FV

- B: biopsie
- H: histologie
- FF: foie
- AMA3 : extension par adénocarcinome peu différencié
- LL : lobe latéral
- D : droit
- FV : vésicule biliaire

Plan anti-cancer en France

- Nombre de cas par an : 250 000
- Mortalité par cancer
 - homme : 2/3
 - femme : 1/3
- Augmentation : doublement en 20 ans

Coût d'un examen histopathologique

- ❑ Depuis ZZQX
- ❑ Nomenclature des actes CCAM (Spécialités médicales)
- ❑ ≠ NABM spécialités biologiques
- ❑ 30 à plusieurs 100aines d'Euros en fonction de la complexité médico technique

Coût d'un examen cytopathologique

- Cytopathologie de dépistage
 - Absence de signe fonctionnel
 - Simple, non douloureux, non onéreux, facilement renouvelable
 - Cytopathologie
 - Cervico-utérine,
 - Urinaire,
 - Bronchique
 - Frottis cervico-utérin : 15 euros
- Cytopathologie invasive
 - 30 euros

Conclusion

- ❑ Spécialité médicale, dimension médico-technique
- ❑ Internat : filière ACP
- ❑ Durée de la formation : 5 ans
- ❑ 2020 :
diminution de plus de 50% du nombre des ACP actuellement en activité

Vous avez dit ?

Anatomie pathologique

Anatomie et Cytologie Pathologiques

Anatomopathologiste(s)

Anapath?

Pathologistes

