

Moyens et objectifs de l'anatomie pathologique en médecine

Jérôme Cros*

PLAN DU CHAPITRE

| | |
|---|----|
| Historique | 2 |
| Place de l'anatomie pathologique en médecine | 2 |
| Place de l'anatomie pathologique dans la recherche | 13 |

* Texte révisé d'après la précédente édition rédigée par :
M.C. Rousselet, D. Hénin



Objectifs

- Connaître 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.

Historique

Malgré des progrès isolés et significatifs depuis la Renaissance, la médecine restait au XVIII^e siècle en France ainsi que dans de nombreux autres pays européens, tributaire de croyances périmées et de systèmes sociaux peu propices au progrès des connaissances médicales. La médecine, jadis réservée aux clercs, continuait à être enseignée à l'université alors que la chirurgie en avait été écartée pendant des siècles par une faculté de médecine intransigeante.

1799 : publication du Traité des membranes par Bichat

Ce traité qui constitua l'ouvrage fondamental de l'anatomopathologie initia une nouvelle façon de voir l'anatomie. En effet, à côté d'une vision montrant des organes voisins les uns des autres, il proposait une conception de l'homme constitué d'enveloppes successives autour des différents organes. Ce modèle se révéla étonnamment utile et permit de prédire de façon satisfaisante l'évolution d'un certain nombre de maladies, telles que des pathologies couramment observées à l'époque, comme la tuberculose. On observait alors très fréquemment des lésions des séreuses pleurales, péritonéales et péricardiques.

1819 : publication du Traité de l'auscultation médiate par Laennec

Il s'agissait d'une auscultation au moyen d'un cylindre, précurseur du stéthoscope.

Ces nouvelles méthodes donnèrent des résultats objectifs et fiables pour l'examen des organes internes. Cet ouvrage consacré en principe à la présentation et à la promotion de ce nouvel outil diagnostique comportait une partie très importante dédiée à l'examen post-mortem et à la pathologie macroscopique des tissus. Le lien entre l'auscultation et la percussion d'une part et les autopsies d'autre part était très étroit. En effet, ces nouvelles méthodes d'examen ne trouvaient leur valeur que dans une corrélation étroite avec les autopsies. Tout ceci aboutit vers les années 1830 à la constitution d'un ensemble de connaissances qui se trouva alors brutalement confronté à un nouvel instrument : le microscope.

Place de l'anatomie pathologique en médecine

Démarche diagnostique

L'anatomie et cytologie pathologiques (ou pathologie) est une discipline médicale qui étudie les lésions provoquées par les maladies, ou associées à celles-ci, sur les organes, tissus ou cellules, en utilisant des techniques permettant l'examen morphologique macroscopique (les lésions visibles à l'œil nu) d'une part et l'examen microscopique et moléculaire d'autre part.

Les lésions sont des altérations morphologiques des organes, décelables par tout moyen d'observation. Celles-ci sont des signes de maladies, au même titre que les symptômes cliniques. Elles peuvent être le résultat direct de l'agression qui a déclenché la maladie (ex. : hépatite virale détruisant les hépatocytes), ou celui des réactions apparues au cours du déroulement du processus morbide (ex. : cirrhose hépatique compliquant une hépatite virale au long cours). La lésion élémentaire correspond à l'altération morphologique d'une structure analysée isolément. L'association de différentes lésions élémentaires constitue un ensemble lésionnel.

Il n'y a pas forcément de corrélation étroite entre l'importance d'une lésion et son expression clinique ou biologique. Les causes des lésions sont variées : anomalies génétiques constitutionnelles ou acquises, agents infectieux (bactéries,

virus, parasites, champignons, prions), agents chimiques (toxiques, caustiques, médicaments), agents physiques (agression thermique, radiations, modifications de pression atmosphérique, traumatismes), déséquilibres circulatoires, nutritionnels ou hormonaux, troubles immunitaires innés ou acquis et sénescence.

La démarche de l'anatomie pathologique est fondée sur une analyse sémiologique qui compare les tissus normaux et les tissus pathologiques (comparaison macroscopique, microscopique et moléculaire). Les lésions sont confrontées aux données cliniques, biologiques et d'imagerie : c'est la corrélation anatomo-clinique, qui est indispensable pour permettre une interprétation synthétique qui aboutit à un diagnostic (certain, probable ou incertain).

Buts de l'anatomie pathologique dans la pratique médicale

Le rôle du pathologiste est de contribuer à :

- *élaborer le diagnostic* par la démarche anatomo-clinique : les lésions élémentaires sont analysées et décrites dans un compte-rendu, puis groupées en grands ensembles lésionnels et intégrées avec des renseignements cliniques et si nécessaire des données moléculaires pour, en conclusion du compte-rendu, affirmer un diagnostic ou proposer une hypothèse diagnostique;
- *préciser le pronostic* en apportant des éléments utiles, en particulier dans le domaine de la pathologie tumorale;
- *prédire l'efficacité des thérapeutiques* grâce à certains biomarqueurs dont l'expression (ou l'absence) est associée à la réponse au traitement;
- *évaluer l'effet des thérapeutiques* : les examens anatomo-cytopathologiques sont renouvelés au cours d'un traitement afin de juger de la disparition, de la persistance ou de l'aggravation des lésions.

Différents types de prélèvements

Prélèvements cytologiques

Les cellules isolées, ou les petits amas cellulaires, peuvent être obtenus de diverses façons :

- recueil des liquides spontanément émis (urine, expectoration, fistule, drain);
- raclage, brossage, écouvillonnage, aspiration de cellules desquamant spontanément (col utérin, bulle cutanéomuqueuse, bronches, voies biliaires, aspiration après lavage bronchoalvéolaire);

- ponction à l'aiguille d'un liquide (épanchement de séreuse ou articulaire, liquide céphalo-rachidien, kyste, collection) avec ou sans contrôle écho-ou scannographique;
- ponction à l'aiguille d'un organe ou d'une tumeur (ganglion, nodule thyroïdien ou mammaire) avec ou sans contrôle échographique ou scannographique;
- apposition d'un tissu (pièce opératoire, biopsie) sur une lame de verre.

Prélèvements tissulaires

Il existe différents moyens d'obtenir ces prélèvements : la biopsie, les pièces opératoires et l'autopsie.

Biopsie

La biopsie consiste à prélever un fragment de tissu sur un être vivant en vue d'un examen anatomopathologique. Par extension, ce terme peut désigner le fragment tissulaire.

La biopsie peut être effectuée selon plusieurs modalités :

- *par ponction* à l'aide d'une aiguille coupante ou d'un trocart (foie, rein, os, etc.) : on obtient des cylindres de tissu de quelques millimètres à quelques centimètres de long (figure 01.01). Les ponctions sont effectuées « à l'aveugle » lorsque l'ensemble de l'organe est malade, ou sous repérage (échographie, scanner) lorsque la ponction doit être dirigée sur une lésion focale visible en imagerie;
- *par biopsie chirurgicale* après anesthésie locale ou générale et sous contrôle de la vue : biopsie partielle, ou biopsie exérèse enlevant la totalité de la lésion;
- *au cours d'une (écho)endoscopie* (pince montée sur l'(écho)endoscope) : il s'agit généralement de très petits fragments de 0,5 mm à 2 mm (figure 01.02).

Les critères de qualité des biopsies reposent sur :

1. leur taille (ex. : pour la recherche d'une artérite à cellules géantes où les lésions sont segmentaires, une biopsie



Figure 01.01

Carotte de ponction-biopsie hépatique.

À gauche, vue macroscopique de la lame : deux carottes de 1 cm. À droite, vue microscopique d'une carotte colorée (x 50).



Figure 01.02

Biopsie de muqueuse colique prélevée à la pince lors d'une endoscopie.

À gauche, vue macroscopique de la lame : elle présente 3 biopsies de 1 à 2 mm de diamètre, sur quatre coupes. À droite, vue microscopique d'une biopsie colorée (x 50).

d'artère temporelle représentative doit mesurer au moins 1,5 cm de long);

2. leur nombre : plus elles sont nombreuses, plus on a de chance de trouver du tissu lésionnel, de rendre compte de son hétérogénéité et d'observer une lésion focale mais importante pour le diagnostic;

3. le choix de la zone biopsiée : éviter les zones nécrotiques ou hémorragiques; sur la peau ou une muqueuse, éviter les prélèvements trop superficiels; biopsier le ganglion ayant déjà fait l'objet d'une ponction cytologique antérieure révélant des cellules anormales;

4. la bonne préservation des tissus : ne pas étirer ou écraser les fragments, éviter le bistouri électrique « grillant » les tissus;

5. le repérage topographique en cas de biopsies multiples (flacons différents répertoriés).

Pièces opératoires

Les pièces opératoires : exérèse partielle ou complète d'un ou de plusieurs organes, séparés ou en monobloc (figure 01.03).

Autopsie

L'autopsie (ou nécropsie) correspond à un examen anatomopathologique pratiqué sur un cadavre.

Les autopsies médico-légales sont pratiquées par les médecins légistes sur ordre de la justice (réquisition du pro-

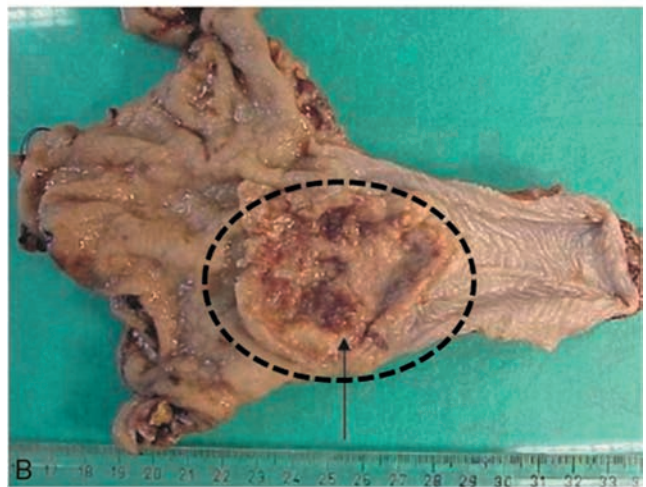
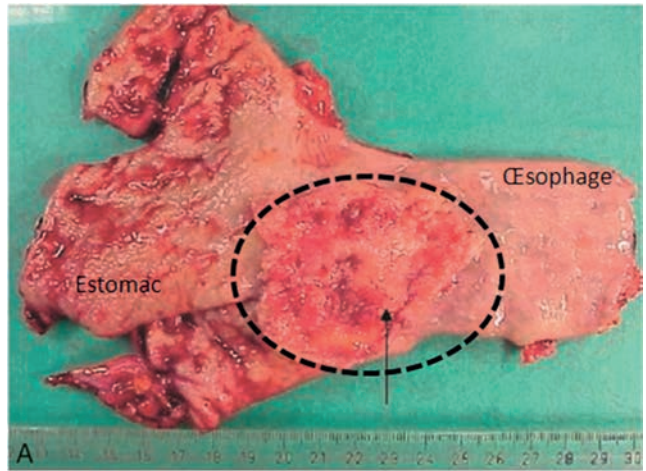



Figure 01.03

Pièce opératoire : pièce d'œsogastrectomie pour cancer du bas œsophage (zone entourée et fléchée).

A. Pièce fraîche. B. Pièce après fixation dans une solution de formol.

cureur, ou ordonnance d'un juge d'instruction) dans tous les cas de mort suspecte, notamment lorsqu'il n'y a pas eu de délivrance de permis d'inhumer.

Les autopsies médicales et à but scientifique sont pratiquées par les médecins anatomopathologistes des hôpitaux, généralement à la demande des médecins qui ont soigné le patient pendant son séjour à l'hôpital dans le but de comprendre la cause du décès, éventuellement à la demande d'un médecin traitant pour un patient décédé à son domicile. Ce type d'autopsie ne peut être réalisée qu'après la vérification de l'absence d'opposition du défunt à des prélèvements post-mortem par une interrogation du Registre national des refus, tenu par l'Agence de Biomédecine ou avec une autorisation écrite des parents pour les enfants.

 Pour plus d'informations, voir le complément en ligne [En savoir plus 1.1](#).

Techniques d'étude morphologique des prélèvements cellulaires et tissulaires

La qualité des prélèvements conditionne la qualité de l'étude anatomopathologique. Les médecins préleveur et prescripteur ont une responsabilité dans l'acte anatomopathologique en s'assurant de la bonne réalisation technique du prélèvement et de son acheminement dans de bonnes conditions au laboratoire (dans des délais brefs, en respectant les règles de fixation, accompagné d'une demande d'examen correctement renseignée).

Enregistrement

Lorsqu'un prélèvement parvient au laboratoire, il est enregistré et reçoit un numéro d'identification unique. Celui-ci sera retranscrit sur les blocs et les lames, qui seront examinées au microscope après le traitement technique du prélèvement. Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignements remplie par le médecin prescripteur qui doit mentionner :

1. l'identité du patient : nom, prénom(s), date de naissance, sexe;
2. le siège anatomique précis (sans oublier la latéralité pour les organes pairs);
3. la date (jour et heure) et la nature du prélèvement (type de prélèvement cytologique, biopsie ou exérèse) et son conditionnement (non fixé ou dans un liquide fixateur);
4. les circonstances cliniques et paracliniques qui ont motivé le prélèvement : données pertinentes connues de biologie et imagerie (en particulier indispensable pour les tumeurs osseuses), aspect per endoscopique ou per opératoire (un compte-rendu endoscopique ou opératoire peut être utilement joint);
5. éventuellement les hypothèses diagnostiques;
6. les antécédents pathologiques du patient, en particulier, dans la mesure du possible, les antécédents d'examens anatomopathologiques effectués dans un autre laboratoire et la nature de ses traitements;
7. les nom et coordonnées du médecin prescripteur et du préleveur, et éventuellement ceux des autres médecins correspondants;
8. Si nécessaire : préciser le caractère urgent de l'examen ou indiquer d'éventuelles recherches particulières à effectuer.

Techniques d'étude des cellules

Étalement des cellules sur des lames de verre

L'étalement est fait par le préleveur lors des cytoponctions d'organes, des frottis, écouvillonnages, brossages ou appositions. Ce geste simple doit être bien maîtrisé pour éviter un écrasement des cellules, ou des amas de plusieurs couches peu interprétables (figure 01.04).

Cytocentrifugation sur lame de verre

Le liquide (naturel, ou d'épanchement, ou de lavage) est acheminé au laboratoire où il est centrifugé sur une lame de verre, sous forme de pastille ou « spot » (figure 01.05).

Fixation des étalements

Elle se fait soit par simple séchage à l'air pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa (figure 01.06), soit par immersion dans l'alcool-éther ou par application d'un aérosol de laque fixante pour la coloration de Papanicolaou (frottis cervico-utérins notamment, figure 01.07).

Afin d'éviter l'altération des cellules par autolyse, la fixation, la cytocentrifugation et la coloration doivent être effectuées rapidement après l'obtention du prélèvement :

- fixation des frottis cervico-utérins étalés sur lames par le médecin préleveur;
- acheminement rapide d'un liquide à l'état frais au laboratoire;
- et coloration au MGG sans délai excessif de lames d'étalement séchées à l'air.

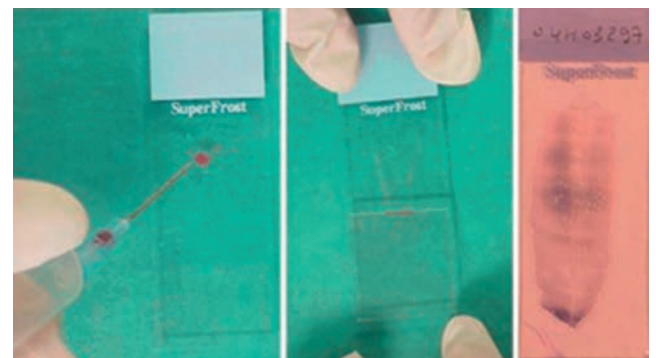


Figure 01.04

Ponction cytologique.

À gauche : projection du produit de ponction à l'aiguille sur une lame. Au centre : la goutte est étalée, tirée à l'aide d'une autre lame. À droite : lame d'un étalement cytologique après coloration.



Figure 01.05

Cyto-centrifugation d'un liquide d'ascite.
À gauche : cyto-centrifugeuse. À droite : spot de cyto-centrifugation sur lame après coloration (flèche).

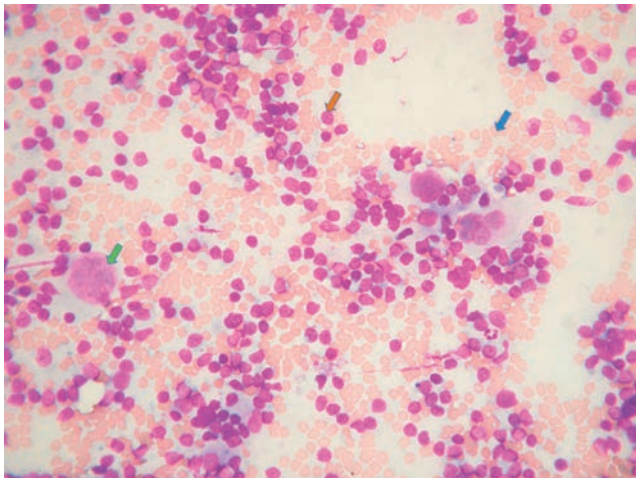


Figure 01.06

Produit de cytoponction d'un ganglion lymphatique de lymphome de Hodgkin.
Étalement coloré au May-Grünwald-Giemsa (flèche bleue : hématie, flèche orange : lymphocyte, flèche verte : cellule tumorale).

En cas de besoin (par exemple, recueil d'un liquide en dehors des heures d'ouverture d'un laboratoire) un liquide peut être provisoirement stocké dans un réfrigérateur à + 4 °C.

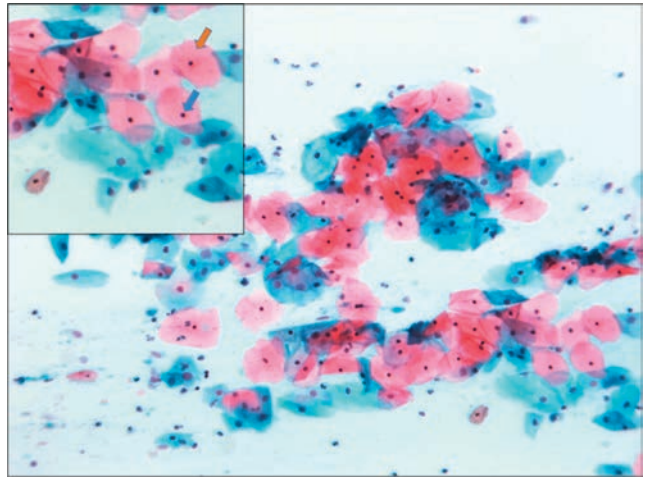


Figure 01.07

Frottis cervico-utérin : étalement coloré au Papanicolaou.
Encadré montrant à plus fort grossissement des cellules épithéliales au cytoplasme orange ou vert (flèche orange) et leur petit noyau bleu foncé (flèche bleue).

Étalement des cellules en monocouche

Cette technique consiste à recueillir les cellules par ponction (séreuse, organe plein...) ou par frottis (col utérin) et à les transmettre au laboratoire dans un liquide conservateur. Les cellules présentes dans le flacon de fixateur sont ensuite remises en suspension et éventuellement soumises à une dispersion par gradient de densité, concentrées (par filtration et/ou centrifugation) puis transférées en couche mince sur une lame et sur une pastille de taille déterminée.

➤ Pour plus d'informations, voir le complément en ligne [En savoir plus 1.2](#).

Réalisation d'un culot de centrifugation

L'analyse des prélèvements cytologiques peut également se faire après *fixation et inclusion en paraffine d'un culot de centrifugation*, qui est alors pris en charge de la même façon qu'un prélèvement tissulaire. Cette approche permet de réaliser un complément d'analyse en immunohistochimie ou en biologie moléculaire selon le même protocole technique que celui utilisé pour les tissus. Elle permet parfois sur un petit fragment d'apprécier l'architecture du tissu et le rapport entre les cellules. La quantité de cellules étant également plus importante, les examens de biologie moléculaire sont classiquement plus rentables que sur une cytologie simple.

Avantages et limites des analyses cytopathologiques

La technique de prise en charge d'un prélèvement cytologique étant rapide (environ une heure), un résultat urgent

peut être donné au médecin prescripteur de l'examen le jour même du prélèvement. Des colorations spéciales et des réactions immunocytochimiques peuvent également être effectuées, à condition de disposer du nombre de lames nécessaires (d'où l'importance des renseignements cliniques fournis à la réception du prélèvement).

Un examen cytopathologique fournit des renseignements parfois partiels. Par exemple, les anomalies cytoplasmiques et nucléaires observées dans des cellules cancéreuses peuvent être difficiles à distinguer de modifications cellulaires induites par des phénomènes inflammatoires ou régénératifs. En outre, lors de l'étude de cellules isolées, des critères importants du diagnostic d'un cancer tels que l'architecture du tissu néoplasique et ses relations avec le tissu sain ne sont pas analysables. L'examen cytopathologique est le plus souvent un examen de dépistage ou d'orientation diagnostique. Un contrôle par biopsie peut être nécessaire avant toute thérapeutique.

Techniques d'étude des tissus

La technique de base comporte plusieurs étapes : la fixation, l'inclusion en paraffine, la confection de coupes et leur coloration. Avant la fixation, il est possible d'effectuer sur le tissu non fixé des appositions sur lames pour une étude cytopathologique, et des prélèvements pour des techniques particulières :

- la congélation ;
- l'examen histologique extemporané ;
- la fixation adaptée à la microscopie électronique ;
- la mise en culture pour étude microbiologique, cytogénétique, ou en suspension cellulaire pour étude par cytométrie en flux.

En ce qui concerne les pièces opératoires, une étape d'analyse macroscopique est indispensable, avant (idéalement) ou après la fixation de la pièce.

Étude macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire : la pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée (figure 01.08). Chaque lésion est repérée sur un schéma et éventuellement photographiée. Ces constatations sont confrontées aux documents cliniques et/ou radiologiques, ce qui souligne l'importance des renseignements écrits fournis par le médecin clinicien. En cas de pièces opératoires complexes (exérèse monobloc de plusieurs organes, ou pièce de résection selon une méthode non conventionnelle), le chirurgien devra adresser la pièce avec des indications de



Figure 01.08

Examen macroscopique d'une pièce opératoire.

De 1 à 4 : mesure et dissection d'une pièce d'œsogastrectomie fixée dans le formol puis sélection des prélèvements destinés à l'étude microscopique.

repérage topographique. Il peut être utile de marquer les berges d'une pièce de résection de tumeur avec une encre indélébile : ceci ne nuit pas à l'étude histologique et permet d'apprécier exactement la distance entre la tumeur et la limite chirurgicale de la pièce (figure 01.09).

L'examen macroscopique est fondamental : il donne des indications pour le pronostic de la maladie (notamment la taille et la localisation d'un cancer) et il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique : zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse.

Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

Fixation

La fixation est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire, elle doit être immédiate ou au moins très rapidement débutée après l'obtention du prélèvement. Toute fixation défectueuse rend l'étude histopathologique et moléculaire difficile, voire impossible (dessiccation et/ou autolyse du tissu).

Si le laboratoire est situé à proximité immédiate du lieu de prélèvement, celui-ci peut être acheminé rapidement (moins d'une heure) et confié à l'anatomopathologiste qui choisira les conditions de fixation les plus adaptées. Sinon, la fixation doit être effectuée par le médecin préleveur.

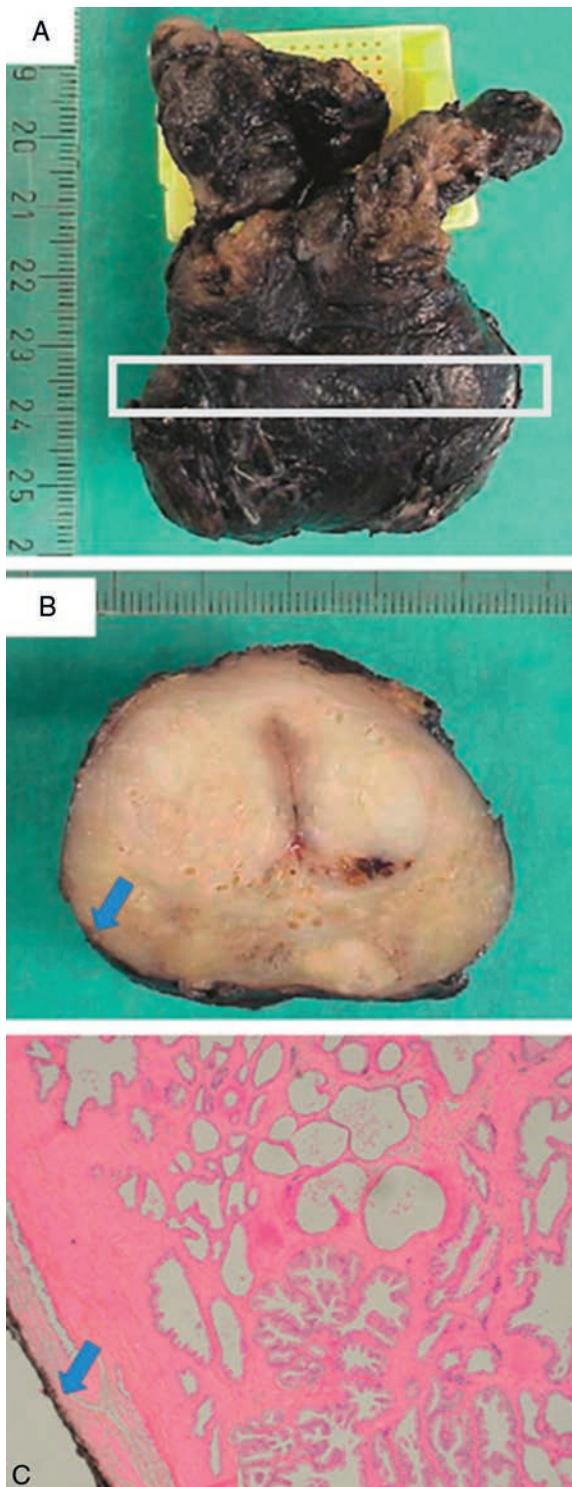


Figure 01.09

Pièce d'exérèse de prostate et de vésicules séminales.


A. Surface badigeonnée à l'encre de chine. B. Tranche de section de la prostate (au niveau du rectangle blanc placé sur la photo en A) : l'encre noire (flèche bleue) ne pénètre pas en profondeur. C. En bas lors de l'examen microscopique, l'encre permet de repérer exactement les limites de la résection chirurgicale (limite noire à gauche repérée par la flèche bleue).

Trois précautions doivent être prises pour une fixation de bonne qualité :

1. le volume du fixateur doit représenter environ 10 fois le volume de la pièce;
2. le récipient doit être de taille suffisamment grande pour prévenir les déformations des pièces opératoires volumineuses;
3. avant fixation, les *organes creux* (tube digestif, vésicule biliaire, utérus) doivent être ouverts et si nécessaire lavés de leur contenu afin de prévenir l'autolyse des muqueuses; les *organes pleins* volumineux (foie, rate) doivent être coupés en tranches pour faciliter la pénétration rapide et homogène du fixateur, les poumons peuvent être fixés par insufflation d'une solution de formol dans les bronches ou coupés en tranches. Seuls les cerveaux de nécropsies seront plongés dans une solution de formol sans être tranchés en raison de la fragilité de la substance cérébrale.

La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement : au minimum environ 6 heures pour une biopsie et 24 heures pour une pièce opératoire, et de préférence moins de 48 h afin de limiter la dégradation des acides nucléiques.

Nature du fixateur : le fixateur le plus habituellement utilisé est une solution aqueuse de formol à 4 % tamponné. Il s'agit d'un produit toxique (allergisant, cancérigène) qui nécessite des mesures de protection lors de son utilisation : port de gants, lunettes, surblouses par les personnels médicaux et paramédicaux, et systèmes d'aspiration des vapeurs dans les laboratoires.

 Pour plus d'informations, voir le complément en ligne [En savoir plus 1.3](#).

Cas particuliers des tissus calcifiés : les prélèvements calcifiés (os, certaines tumeurs) doivent être sciés, puis fixés, puis plongés dans une solution décalcifiante avant d'être inclus dans la paraffine, ce qui rallonge la durée de la technique.

Imprégnation et inclusion

Les prélèvements ayant achevé leur fixation sont déposés dans des cassettes en plastique, directement s'il s'agit de biopsies ou, s'il s'agit de pièces opératoires, après l'étape d'examen macroscopique au cours de laquelle sont prélevés des fragments de petite taille (en moyenne 2 cm × 1,5 cm sur 0,3 cm d'épaisseur). Puis les tissus contenus dans les cassettes sont déshydratés par passage dans des alcools, l'alcool est éliminé par des solvants (xylène), puis la paraffine liquide à 56 °C imprègne les tissus et est refroidie. Ces étapes sont automatisées dans des appareils à imprégnation/inclusion. L'étape finale de l'inclusion est parfois manuelle et consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de paraffine (figure 01.10).