

SOMMAIRE

SOMMAIRE	9
INTRODUCTION.....	11
PARTIE I : MATERIEL ET METHODE.....	13
1) Matériel	13
1.1) Les animaux	
1.2) Les prélèvements	
1.3) Le microscope	
2) Méthodes.....	13
2.1) Techniques de traitement des prélèvements cytologiques	
2.1.a) Cytoponction à l'aiguille fine	
2.1.b) Réalisation des étalements cellulaires	
Technique par étirement entre deux lames perpendiculaires	
2.1.c) L'empreinte ou calque	
Technique de coloration May-Grünwald-Giemsa Rapide	
2.1.d) Le raclage	
2.1.e) Tableau récapitulatif des techniques de prélèvements cytologiques	
2.1.f) Coloration des lames cytologiques	
2.2) Techniques de traitement des prélèvements histologiques	
2.2.a) Fixation, inclusion en paraffine et coupe	
2.2.b) Coloration	
2.3) Méthodes d'observation et principe de lecture	
2.3.a) Lecture des lames cytologiques	
2.3.b) Lecture des lames histologiques	
2.3.c) Etude comparative cyto-histologique	
PARTIE II : RESULTATS.....	21
II.A) Evaluation de la qualité des lames cytologiques et histologiques.....	21
II.B) Etude comparative histologique et cytologique d'un organe particulier, le pancréas.....	23
II.B.1) Etude descriptive histologique et cytologique du pancréas chez un chat sain.	
II.B.1)a) Description des lames histologiques	
II.B.1)b) Description des lames cytologiques	
II.B.2) Discussion.....	42
II.B.2)a) Comparaison des lames observées et des données bibliographiques.	
II.B.2)b) Comparaison des lames cytologiques et histologiques	
BIBLIOGRAPHIE.....	44

INTRODUCTION

La cytologie, discipline encore jeune en médecine vétérinaire, était jusque là sous utilisée ; elle a acquis ces dernières années une notoriété certaine dans la mesure où elle est de faible coût, peu agressive et permet une réponse rapide. Cependant, la lecture et l'interprétation de ces lames nécessitent une grande expérience afin de pouvoir retirer de cette science tout ce qu'elle peut donner, à savoir une image microscopique des cellules d'une qualité exceptionnelle en comparaison de l'histologie avec des éléments d'architectures cependant moindres que l'analyse histologique. Une parfaite connaissance de la cytologie normale est donc nécessaire. Malheureusement peu de données sur la cytologie des organes sains sont actuellement disponibles, en particulier dans l'espèce féline.

L'objectif de ce travail est donc de réaliser une banque de lames et de photographies de cytologie et d'histologie de tissus sains chez le chat, facilement consultable au laboratoire lors de la pratique quotidienne. Dans cette banque, le cytologiste ou l'anatomopathologiste pourra trouver une référence cytologique et histologique d'organe sain afin de mieux comprendre la lecture des lames difficiles ou d'expliquer à des étudiants les modifications pathologiques.

Cette thèse est donc composée de trois volets : un manuscrit, un Cdrom regroupant l'ensemble des photographies réalisées sous forme d'atlas, et enfin les boîtes de lames histologiques et cytologiques.

Le manuscrit est également composé de trois parties. Dans une première partie, sont exposés les matériels et méthodes utilisés pour la réalisation des prélèvements et la préparation des lames. Dans une seconde partie, une évaluation de la qualité des lames est réalisée en fonction du tissu et de la technique utilisée. Enfin, la dernière partie est une description comparée histologique et cytologique d'un organe en particulier : le pancréas.

PARTIE I : MATERIEL ET METHODES

1) MATERIEL

1.1) Les animaux :

Les animaux utilisés pour effectuer ce travail étaient :

- Une chatte croisée siamoise femelle stérilisée de 2.5 ans présentant un décollement épiphysaire distal du fémur droit de type Salter-Harris 2.
- Une chatte européenne non stérilisée d'un an.

Toutes deux étaient en bonne santé. Leur euthanasie a été réalisée à la demande de leur propriétaire.

1.2) Les prélèvements :

L'ensemble des prélèvements cytologiques et histologiques ont été réalisés dans l'heure suivant l'euthanasie.

Les prélèvements cytologiques n'ont pas nécessité de matériel spécifique. Ils ont été effectués à l'aide de :

- seringues de 2 à 5 mL,
- aiguilles stériles de 22 ou 25 G,
- cytobrosses,
- lames porte-objet neuves, pré-dégraissées et matées à une extrémité avec identification immédiate au crayon à papier qui est restée indélébile lors des colorations.

Les prélèvements histologiques ont nécessité des lames de scalpel et des flacons de formol à 10% tamponné à la neutralité.

1.3) Le microscope :

La lecture des lames histologiques et cytologiques a été réalisée avec un microscope photonique Nikon E400 équipé d'objectifs plan APO ($\times 10$, $\times 20$, $\times 40$ et $\times 100$ à immersion).

2) METHODES

Les techniques de prélèvement cytologiques utilisées pour effectuer ce travail ont été :

- la cytoponction à l'aiguille fine,
- les calques ou apposition de tranches de section d'organe,
- les raclages à l'aide d'un scalpel ou d'une cytobrosse.

2.1) Techniques de traitement des prélèvements cytologiques :

Les lames cytologiques ont été confectionnées et rangées dans une boîte de lames tenue à l'écart des flacons de formol. Toujours dans le même souci d'éviter une fixation artéfactuelle des cytologies par les vapeurs de formaldéhyde, les lames ont été colorées dans le laboratoire de cytologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

2.1.a) Cytoponction à l'aiguille fine

La taille de la seringue utilisée a été choisie en fonction de la consistance du tissu à ponctionner. Pour les tissus mous, comme les nœuds lymphatiques, une seringue de 2mL a été suffisante. Pour les tissus plus fermes, nécessitant une aspiration plus importante, comme la peau, une seringue de 5mL a été nécessaire.

L'aiguille, avec la seringue montée, a été introduite dans les tissus étudiés. Une pression négative a été appliquée en retirant le piston d'environ trois quarts du volume de la seringue. Plusieurs aspirations ont ainsi été effectuées. Entre chaque aspiration, le piston a été accompagné lors de son retour. L'orientation et la profondeur de l'aiguille ont été changées à l'intérieur du tissu, sans en ressortir, toutes les trois aspirations environ, afin de ramener un échantillon représentatif de la totalité du tissu. Dès que du sang ou du matériel cellulaire est apparu à l'entrée de la seringue, la traction sur le piston a cessé. Avant de retirer l'aiguille du tissu, le piston de la seringue a été relâché pour ne pas aspirer les cellules dans le corps de la seringue.

Dans la mesure du possible, la contamination sanguine a été évitée afin de ne pas diminuer la qualité de l'échantillon. En cas de saignement, la même technique sans aspiration a pu être utilisée.

Après chaque ponction, les étalements des échantillons ont été effectués rapidement sur les lames porte-objet.

2.1.b) Réalisation des étalements cellulaires :

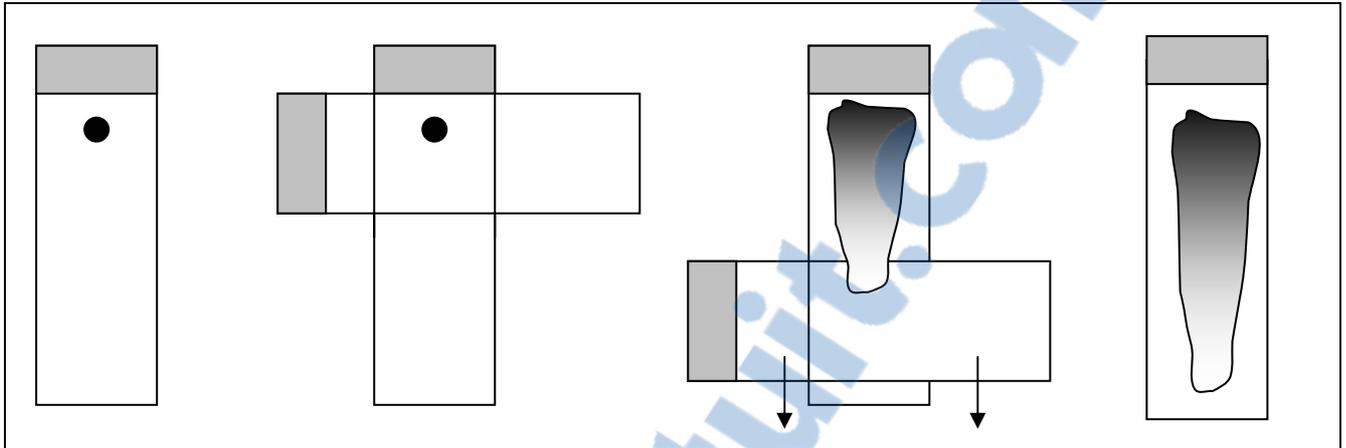
L'aiguille a été désolidarisée de la seringue et de l'air a été aspiré dans la seringue. Puis l'aiguille a été replacée sur la seringue, et le matériel présent dans le corps de la seringue a été expulsé sur le milieu de la lame porte-objet en repoussant rapidement le piston. Quand il y avait trop de matériel dans la seringue, il était déposé sur plusieurs lames afin de ne pas avoir trop de matériel sur la lame. D'ailleurs plusieurs étalements ont été réalisés pour

- s'assurer d'en avoir au moins un correct,
- réaliser plusieurs colorations si nécessaire,
- prévenir une casse éventuelle.

● Technique d'étirement entre deux lames perpendiculaires :

Le matériel a été déposé au début de la lame porte-objet. Une seconde lame a été apposée perpendiculairement à la première, afin de recouvrir la goutte de matériel déposée. Les deux lames ont ensuite été glissées l'une sur l'autre, avec un mouvement doux, jusqu'à obtenir un étalement régulier. La pression exercée sur les deux lames n'était pas trop importante afin d'éviter l'éclatement des cellules.

Schéma 1 : Technique par étirement entre deux lames perpendiculaires



2.1.c) L’empreinte ou calque :

La surface des organes étudiés a été essuyée délicatement avec une compresse, sans frotter. Puis une lame porte-objet a été fermement appliquée sur cette même surface. Cette apposition a été répétée plusieurs fois sur la même lame pour obtenir un échantillon représentatif. Ensuite la lame a été séchée à l’air libre.

2.1.d) Le raclage :

Pour les épithéliums, les tissus ont été raclés à l’aide d’une lame de scalpel perpendiculairement à la surface du tissu plusieurs fois. Pour les muqueuses, le raclage a été réalisé à l’aide d’une cytobrosse. Le matériel récolté a été déposé sur la lame de microscope en le faisant glisser de la lame de scalpel ou en roulant la cytobrosse sur la lame.

2.1.e) Tableau récapitulatif des techniques de prélèvements cytologiques :

Les techniques de prélèvements cytologiques utilisées pour chaque tissu étudié sont regroupées dans le tableau N°1.

Tableau 1: Tableau récapitulatif des modalités de réalisation des prélèvements cytologiques (tableau n°1).

	Grattage, cytobrosse	Apposition de tranches de section (calque)	Cytoponction à l'aiguille fine
Muqueuse nasale	+	-	-
Poumon	-	-	+
Conjonctive oculaire	+	-	-
Peau oreille (face interne)	+	-	+
Peau coussinet	-	-	+
Peau dos	-	-	+
Glande salivaire	-	+	+
Pancréas	-	+	+
Foie	-	+	+
Fundus	-	-	+
Duodénum	-	-	+
Colon	-	-	+
Rectum	+	-	-
Rein	-	+	+
Vessie	-	+	+
Ovaire	-	+	+
Mamelle	-	-	+
Nœud lymphatique rétromandibulaire	-	-	+
Rate	-	raté	+
Thymus	-	-	+
Thyroïde	-	-	+
Surrénale	-	+	+
Synovie	-	-	+

2.1.f) Coloration des lames cytologiques :

Une fois fixées par agitation à l'air, les lames ont été colorées à l'aide d'une coloration May-Grünwald-Giemsa.

● Technique de coloration au May-Grünwald-Giemsa Rapide :

- Fixation : la lame a été séchée à l'air par agitation
- Un millilitre de colorant May-Grünwald a été déposé sur la lame pendant 4 minutes,
- La lame a été rincée abondamment à l'eau claire,
- Ensuite, la lame a été recouverte de solution de Giemsa diluée au dixième ou au vingtième pendant 10 minutes,
- Enfin, elle a été rincée abondamment à l'eau claire, puis séchée.

Certains frottis trop épais ont nécessité une seconde coloration.

2.2 Techniques de traitement des prélèvements histologiques :

Les prélèvements histologiques ont été traités au laboratoire d'histopathologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

2.2.a) Fixation, Inclusion en paraffine et coupe :

Des prélèvements de 5 mm à 1 cm de côté ont été réalisés et fixés dans du formaldéhyde du commerce dilué à 10% et tamponné à la neutralité pendant 48 heures. Tous les prélèvements ont été enrobés en paraffine après déshydratation (passages successifs dans différents bains d'alcool de concentration croissante : 80°, 95° et 100°) puis éclaircissement dans du toluène. Cette étape d'imprégnation en paraffine a été réalisée dans un automate (HMP 110-MICROM). Les prélèvements ont ensuite été inclus en paraffine dans une station d'enrobage (MICROM) et coupés à une épaisseur de 3 µm à l'aide d'un microtome à mouvement vertical (MICROM HM 330). Après récupération sur milieu liquide (bain-marie à 40°C), les coupes ont été étalées sur lame de verre préalablement recouverte d'une goutte d'albumine glycinée. Elles ont ensuite été séchées à l'étuve (1 heure à 37°C) avant d'être colorées.

2.2.b) Coloration :

Après déparaffinage au toluène et réhydratation progressive de la coupe tissulaire (bains d'alcools à 100°, 95° et eau), une coloration biochimique à l'Hémalun-éosine a été effectuée. Les coupes ont été plongées pendant 2 minutes dans une solution d'Hémalun de Mayer puis rincées à l'eau courante pendant 5 minutes avant de subir une deuxième coloration dans une solution d'Eosine jaunâtre –Erythrosine aqueuse à 2% pendant 30 secondes. Elles ont enfin rapidement été rincées à l'eau courante puis déshydratées par passage dans des alcools de concentration croissante puis placées dans du toluène. Le montage s'est effectué par l'apposition d'une lamelle sur chaque lame, restant fixée par le dépôt préalable d'une noisette de baume synthétique non miscible à l'eau.

2.3) Méthodes d'observation et principe de lecture :

L'ensemble des lames de cytologie et d'histologie a été lu conjointement par les Drs Trumel, Bourgès et moi-même.

2.3.a) Lecture des lames cytologiques :

La première étape a permis de vérifier et d'évaluer la qualité des lames et de leur coloration, l'importance de la contamination sanguine. Seules les lames jugées de qualité suffisantes ont été conservées pour être interprétées.

La deuxième étape était la lecture analytique des lames qui a consisté à :

- apprécier le fond du frottis (présence d'hématies, de mucus, granules, débris cellulaires...)
- reconnaître les différentes populations cellulaires présentes. L'essentiel de l'examen cytologique a été réalisé à l'objectif x20 afin de décrire la ou les population(s) cellulaire(s) présente(s) en notant les types cellulaires, les proportions de chaque population et l'organisation des cellules.
- à l'objectif x40 et x100 les détails cellulaires ont pu être observés, ainsi que les caractéristiques du noyau et du cytoplasme.

La qualité des lames cytologiques a été évaluée d'après trois critères :

- la richesse en matériel d'intérêt,
- le respect de la structure du tissu,
- la morphologie cellulaire.

Pour chaque critère, une note de 0 à 3 a été attribuée avec :

- | | |
|---------------|-------------|
| - 0 = nul | - 2 = moyen |
| - 1 = mauvais | - 3 = bon |

L'évaluation cytologique a donc permis d'attribuer une note sur 9 pour chaque tissu. Cependant, certains prélèvements n'ont pu recevoir qu'une note partielle, comme le liquide synovial pour lequel on ne peut retrouver de structure réelle et qui a donc été noté sur 6.

2.3.b) Lecture des lames histologiques :

La qualité des lames histologiques a été évaluée par une note de 0 à 3 similaire à l'évaluation cytologique :

- | | |
|----------------|---------------|
| - 0 = nulle | - 2 = moyenne |
| - 1 = mauvaise | - 3 = bonne |

Il est à noter que certains prélèvements cytologiques n'ont pu être analysés car les lames histologiques servant de référence pour la comparaison cytologique/histologique étaient inexploitable.

2.3.c) Etude comparative cyto-histologique :

La dernière étape, phase d'interprétation a consisté à réaliser le comparatif entre l'observation cytologique et l'observation histologique. Cette étude comparative cyto-histologique chez le chat sain a été illustrée sous forme d'un atlas de photographies et a été développée et détaillée dans la thèse pour un organe en particulier : le pancréas.

PARTIE II : RESULTATS

II. A) EVALUATION DE LA QUALITE DES LAMES CYTOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES

Les résultats ont été regroupés sous la forme d'un tableau récapitulatif (tableau 2)

Tableau 2 : Tableau récapitulatif de l'évaluation de la qualité des lames histologiques et cytologiques.

PRELEVEMENT		EVALUATION HISTOLOGIQUE	EVALUATION CYTOLOGIQUE				
Tissus	Chat N°	Note qualité histologique	Technique de prélèvement cytologique	Richesse	Structure	Reconnaissance	Note qualité cytologique
Muqueuse nasale	1	2.5/3	cytobrosse	3/3	1/3	3/3	7/9
Poumon	1	3/3	ponction	1/3	0/3	3/3	4/9
Conjonctive oculaire	2	3/3	cytobrosse	2/3	0.5/3	1.5/3	4/9
Peau oreille (face interne)	1	3/3	ponction	0.5/3	0.5/3	0/3	1/9
	2	3/3	grattage	0.5/3	0/3	0.5/3	1/9
Peau coussinet	2	1/3	ponction	1/3	0/3	1/3	2/9
Peau dos	2	2.5/3	ponction	0/3	1/3	2/3	3/9
Glande salivaire	1	3/3	ponction	3/3	2/3	2/3	7/9
	2	2/3	calque	3/3	3/3	3/3	9/9
Pancréas	1	2.5/3	ponction	2/3	0/3	0/3	2/9
	2	1.5/3	calque	1/3	2/3	3/3	6/9
Foie	1	3/3	ponction	0.5/3	0/3	1/3	1.5/9
	2	3/3	ponction	1/3	2/3	2/3	5/9
			calque	0.5/3	0/3	1/3	1.5/9
Fundus	2	1.5/3	ponction	0.5/3	0/3	1/3	1.5/3
Duodénum	1	3/3	ponction	3/3	3/3	3/3	9/9
	2	2/3	ponction	3/3	2/3	3/3	8/9
Colon	1	2.5/3	ponction	3/3	1/3	1/3	5/9
	2	2/3	ponction	3/3	3/3	2.5/3	8.5/9
Rectum	1	3/3	cytobrosse	3/3	2/3	2/3	7/9
Rein	1	2/3	ponction	3/3	3/3	3/3	9/9
	2	3/3	ponction	2/3	3/3	3/3	8/9
			calque	2/3	3/3	3/3	8/9
Vessie	1	3/3	ponction	0/3	0/3	0/3	0/9
	2	3/3	calque	3/3		3/3	6/6
Ovaire	2	2/3	ponction	3/3	0.5/3	2/3	5.5/9
			calque	2.5/3	0/3	1/3	3.5/3
Mamelle	1	2/3	ponction	0/3	0/3	0/3	0/9
	2	1.5/3	ponction	0/3	0/3	0/3	0/9

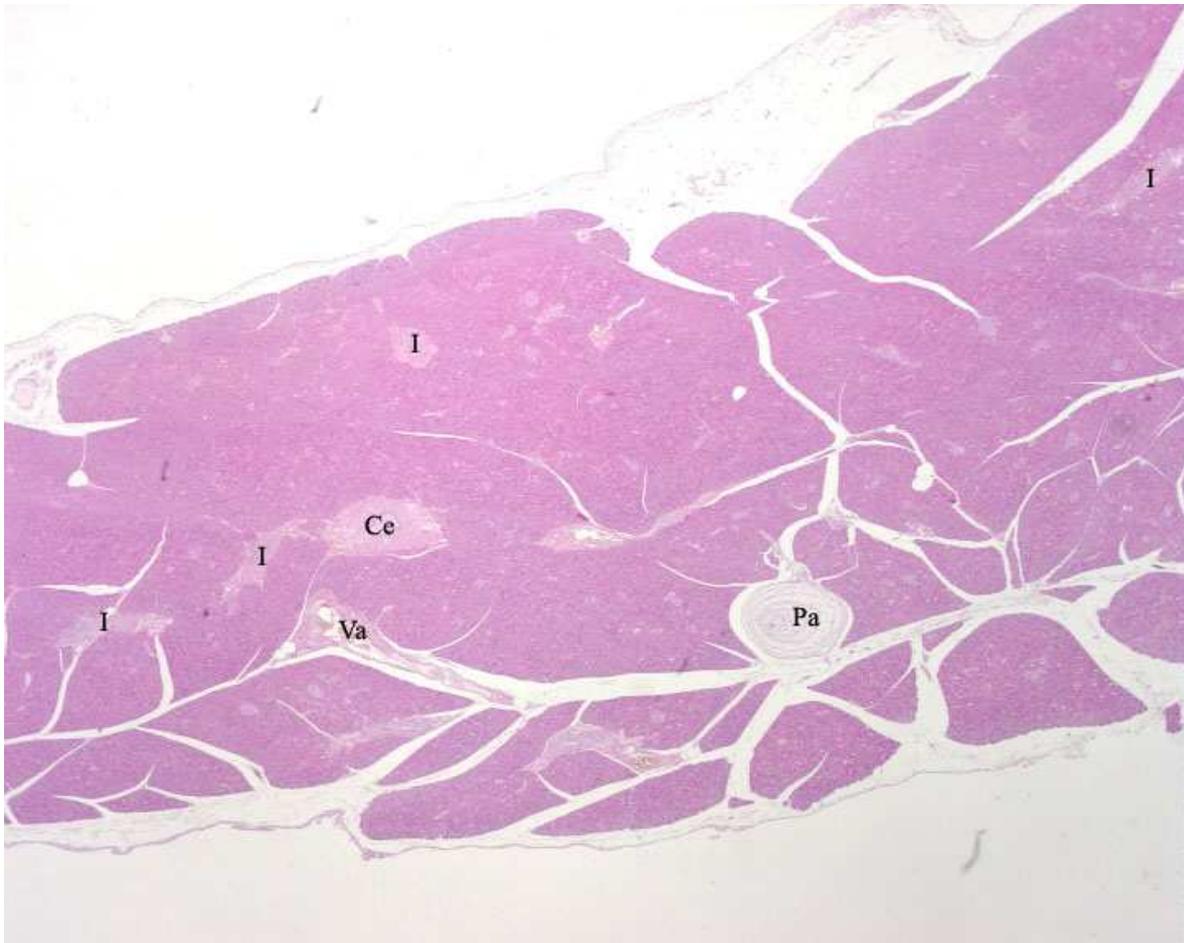
PRELEVEMENT		EVALUATION HISTOLOGIQUE	EVALUATION CYTOLOGIQUE				
Tissus	Chat N°	Note qualité histologique	Technique de prélèvement cytologique	Richesse	Structure	Reconnaissance	Note qualité cytologique
Nœud lymphatique rétromandibulaire	2	1/3	ponction	3/3	?	1/3	4/6
Rate	1	1.5/3	ponction	0.5/3	0.5/3	1/3	2/9
	2	2/3	ponction	2/3	0.5/3	1.5/3	4/9
			calque	Contamination par des hépatocytes			
Thymus	2	1/3	ponction	3/3	2/3	2/3	5/6
Thyroïde	1	3/3	ponction	2/3	2/3	2/3	6/9
Surrénale	1	3/3	ponction	3/3	1/3	2/3	6/9
	2	1.5/3	calque	3/3	2/3	3/3	8/9
Synovie	1	1.5/3	ponction	1/3	2/3	2/3	3/6

II. B) ETUDE COMPARATIVE HISTOLOGIQUE ET CYTOLOGIQUE D'UN ORGANES PARTICULIER, LE PANCREAS

II. B.1) Etude descriptive histologique et cytoologique du pancréas chez un chat sain.

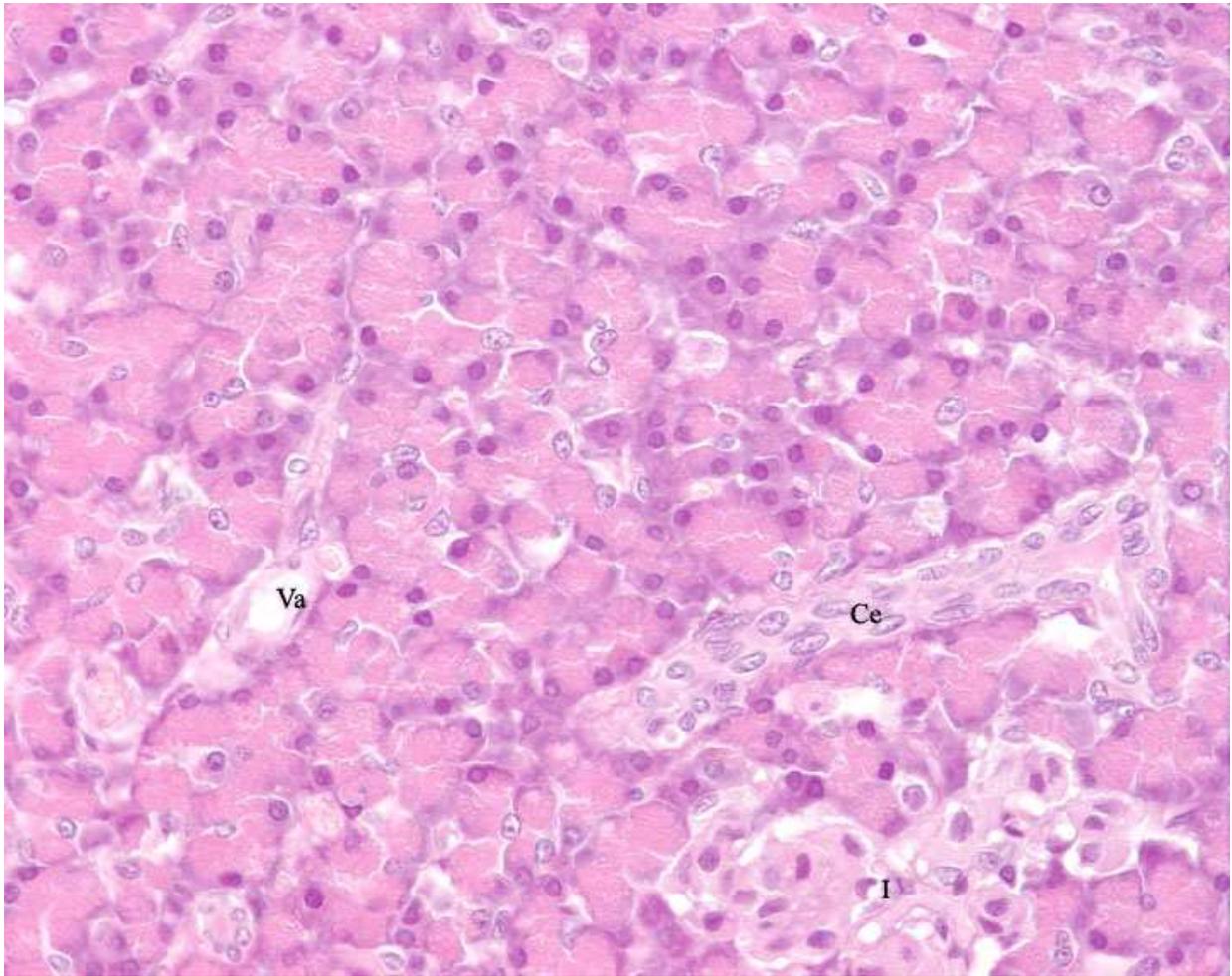
II. B.1)a) Description des lames histologiques :

- *Lame 1 : Pancréas du chat N°1 au grossissement X20 :*



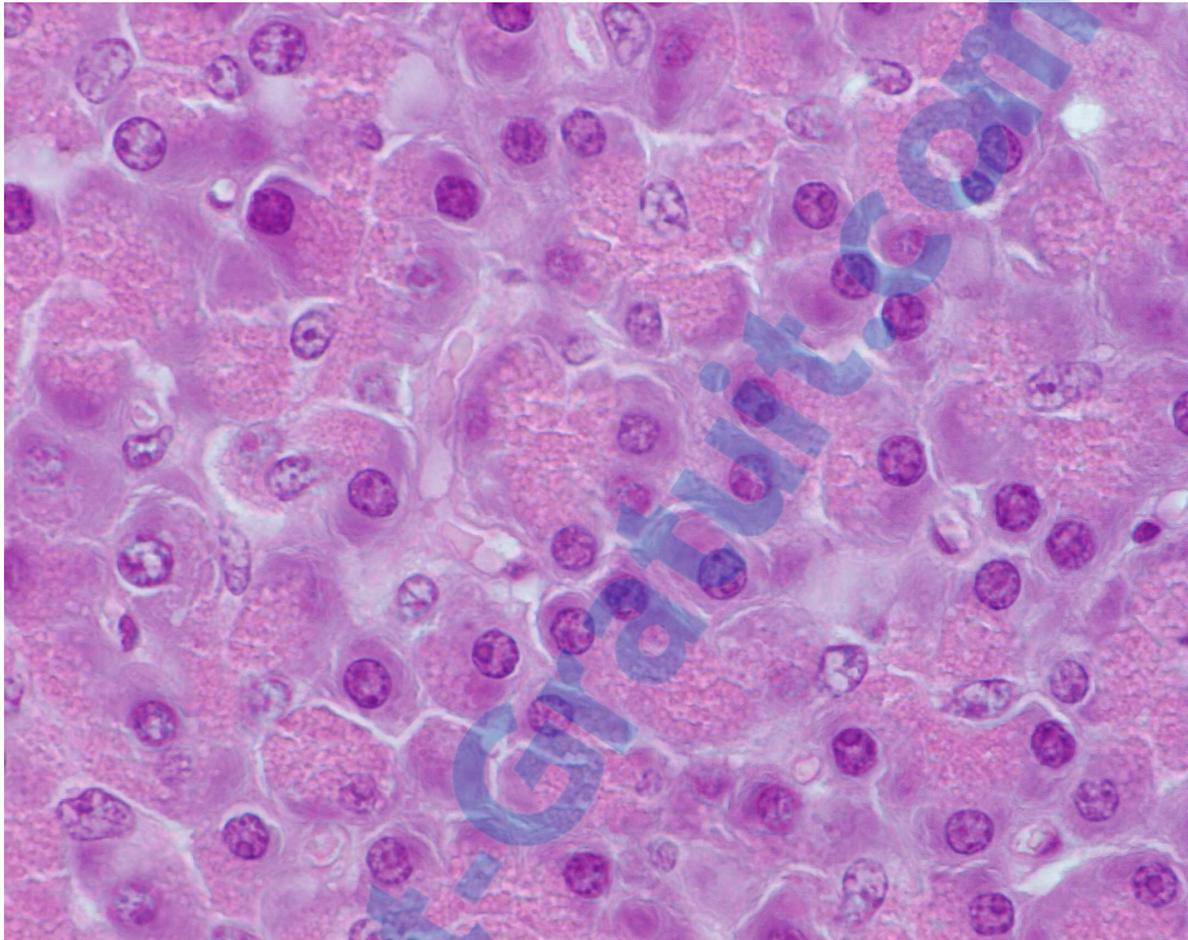
Sur ce lobe pancréatique de couleur éosinophile, lobulé, apparaît à ce faible grossissement, un corpuscule lamellaire de Pacini (**Pa**) rencontré spécifiquement chez le chat. Au sein du tissu éosinophile pancréatique exocrine, s'observent de nombreuses plages de petites tailles, plus claires, qui correspondent aux îlots endocrines de Langerhans (**I**). Certaines plages éosinophiles claires présentent une lumière correspondant pour certaines d'entre elles à des structures vasculaires (**Va**), et pour d'autres à des canaux excréteurs (**Ce**) interlobulaires.

- *Lame 2 : Pancréas du chat N°1 au grossissement X400 :*

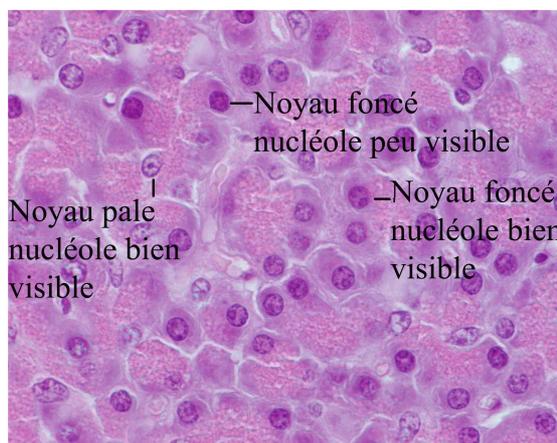


Les acini pancréatiques apparaissent de forme grossièrement ovoïde et présentent une polarité de coloration : le centre de l'acinus est éosinophile et sa périphérie, basophile. On peut observer sur cette micrographie une coupe longitudinale d'un canalicule exocrine (**Ce**), un îlot de Langerhans (**I**), ainsi qu'une coupe transversale de vaisseau sanguin (**Va**). Le canalicule exocrine est bordé par un épithélium simple cubique aplati, sa lumière étant difficile à distinguer. Le tissu endocrine semble constitué de cellules non organisées, à rapport nucléocytoplasmique faible et au cytoplasme éosinophile clair. Le vaisseau sanguin s'identifie par la présence d'un endothélium bordant une lumière centrale.

- *Lame 3 : Pancréas du chat N°1 au grossissement X1000 :*

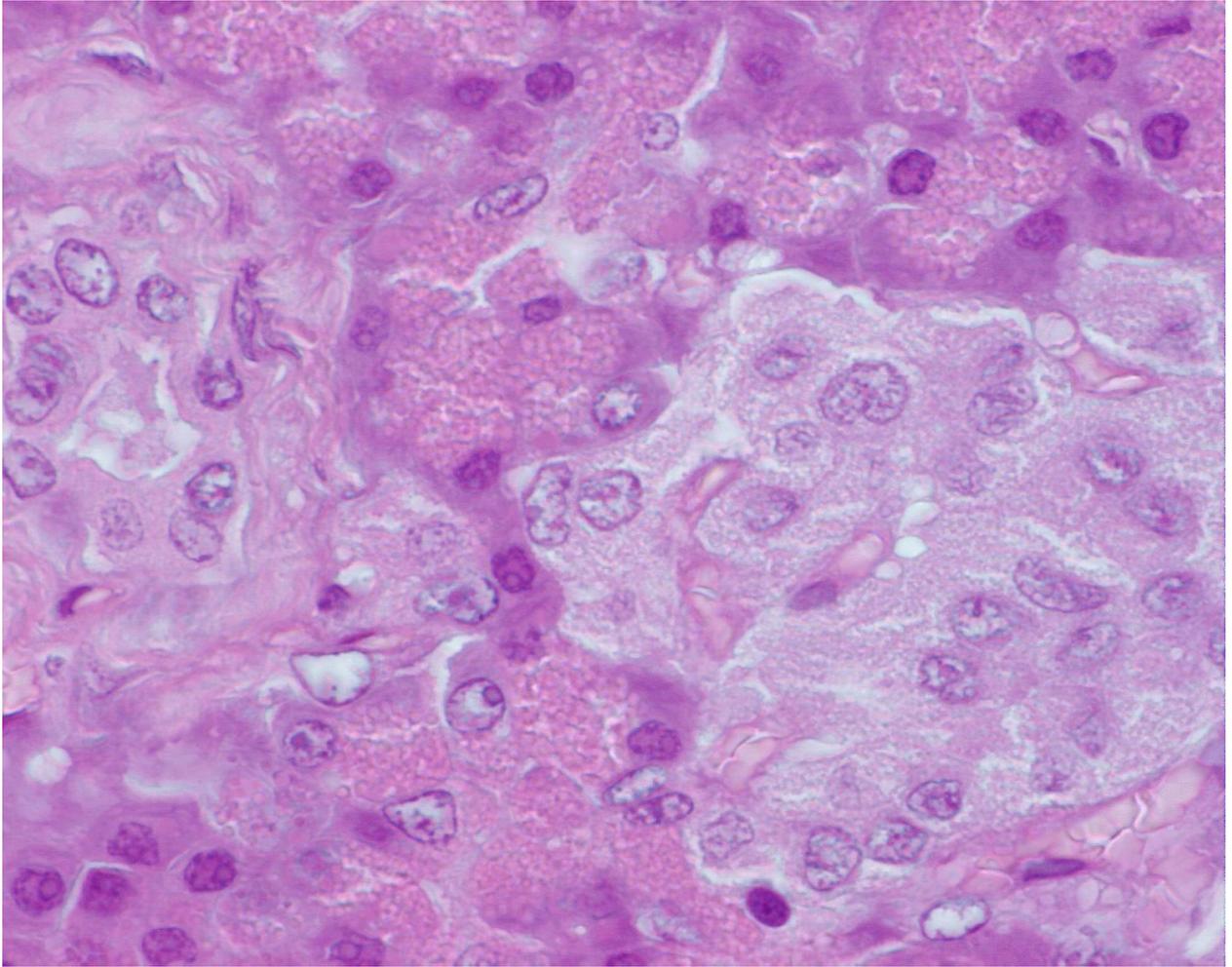


Au très fort grossissement apparaissent des acini pancréatiques de forme ovoïde composés des cellules acineuses. La cellule acineuse présente un noyau basal. Celui-ci peut présenter un nucléole proéminent avec une chromatine réticulée, marginale qui dessine la membrane nucléaire. D'autres noyaux apparaissent plus ou moins foncés, le nucléole n'étant pas toujours visible. Le cytoplasme est basophile au pôle basal et éosinophile granulaire au pôle apical. Cette polarité tinctoriale est due à la présence d'un réticulum endoplasmique granuleux basal abondant et de nombreuses vésicules sécrétoires apicales correspondant aux grains de zymogènes.

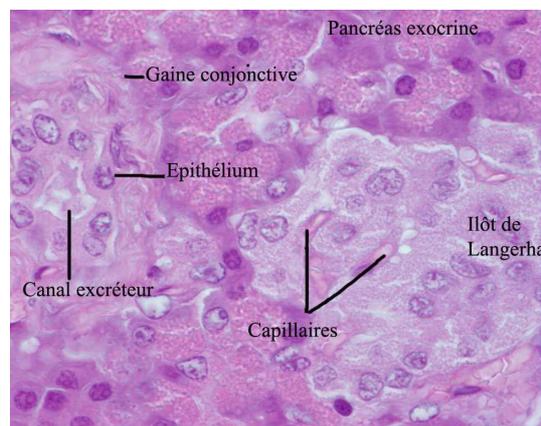


Caractéristiques tinctoriales nucléaires de la cellule acineuse pancréatique

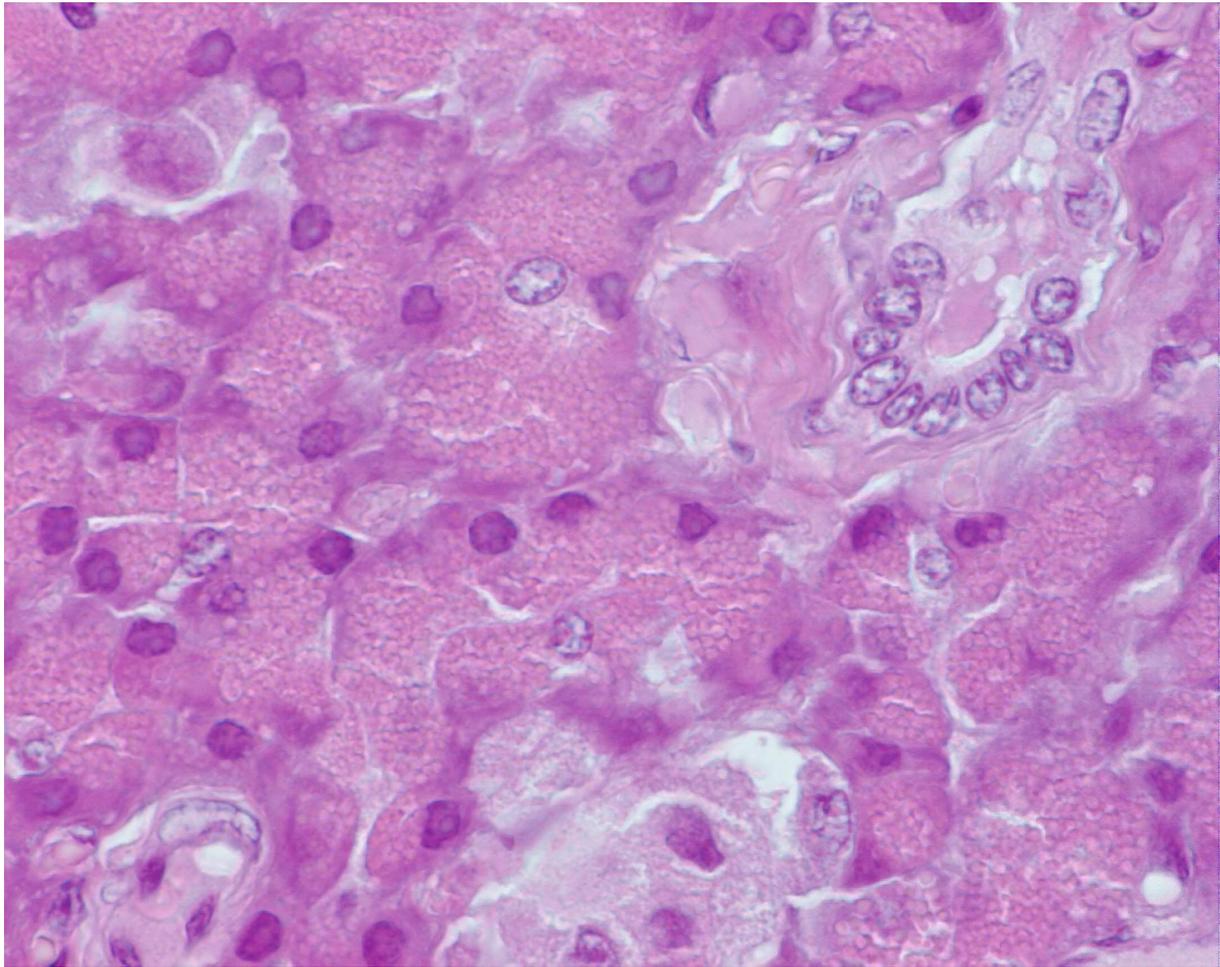
- *Lame 4 : Pancréas du chat N°1 au grossissement x1000 :*



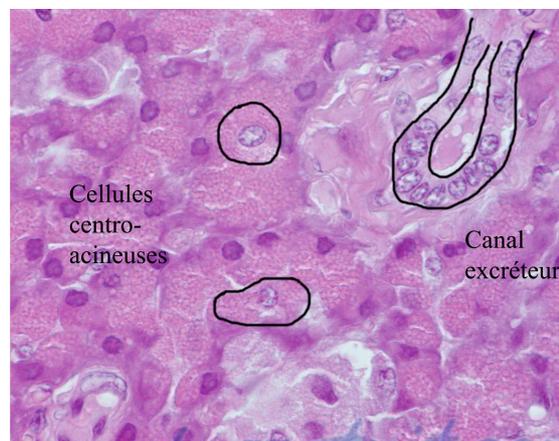
Le pancréas exocrine avec les acini pancréatiques décrits précédemment apparaissent sur cette micrographie. Une coupe transversale de canal excréteur interlobulaire entouré d'une gaine de tissu conjonctif est présente ; sa lumière est bordée par un épithélium simple cubique. L'îlot endocrine voisin apparaît constitué de cellules insulaires sans organisation définie, au sein d'un fin réseau capillaire. Les cellules endocrines ont un rapport nucléocytoplasmique moyen à élevé. Le noyau est de taille variable, souvent indenté et nucléolé, à chromatine fine et leur cytoplasme apparaît microgranulaire basophile clair.



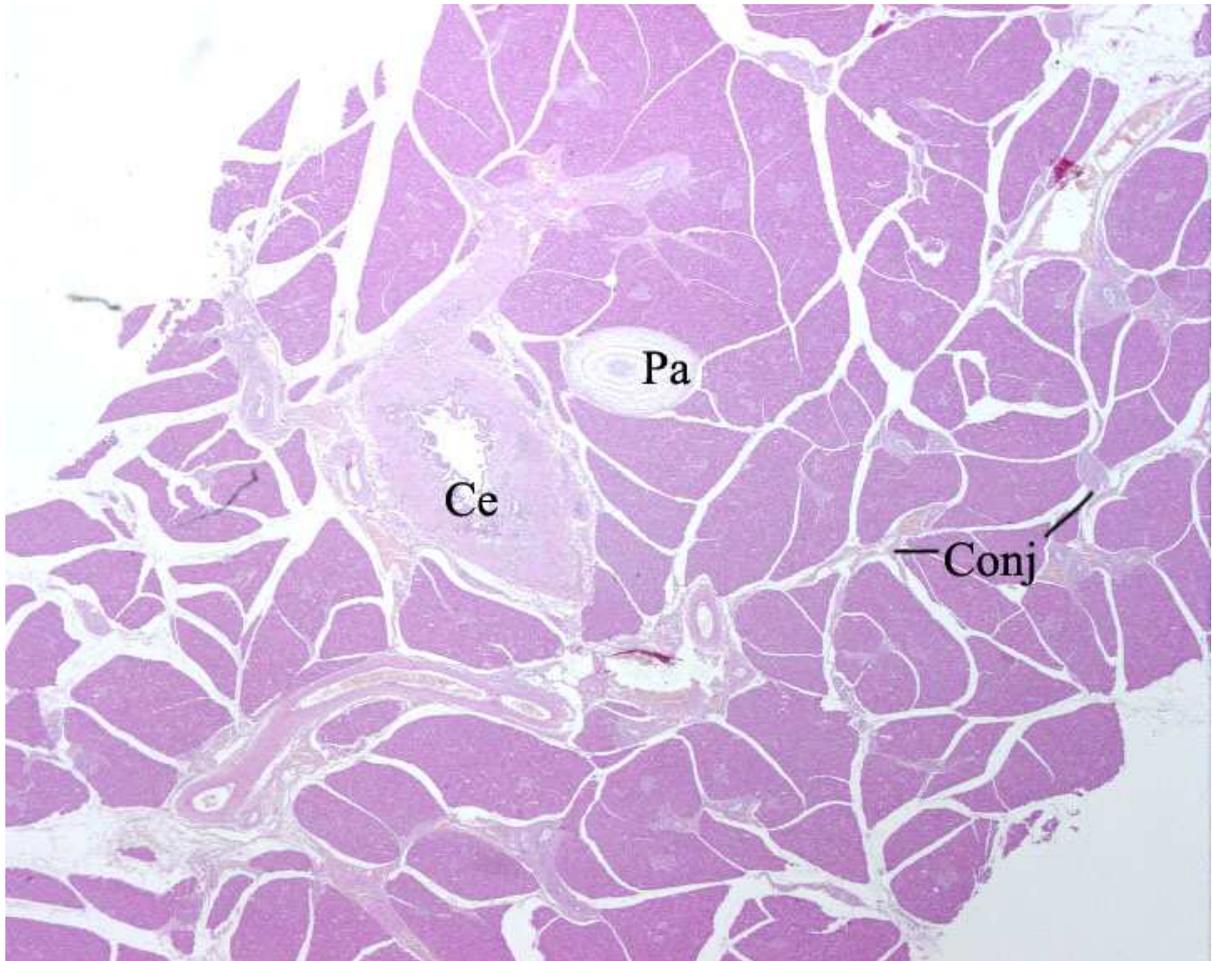
- *Lame 5 : Pancréas du chat N°1 au grossissement x1000 :*



On retrouve sur cette micrographie le tissu exocrine avec acini pancréatiques et canal excréteur. Par ailleurs des cellules centro-acineuses de cytologie voisine des cellules canalaire sont présentes au centre des acini.

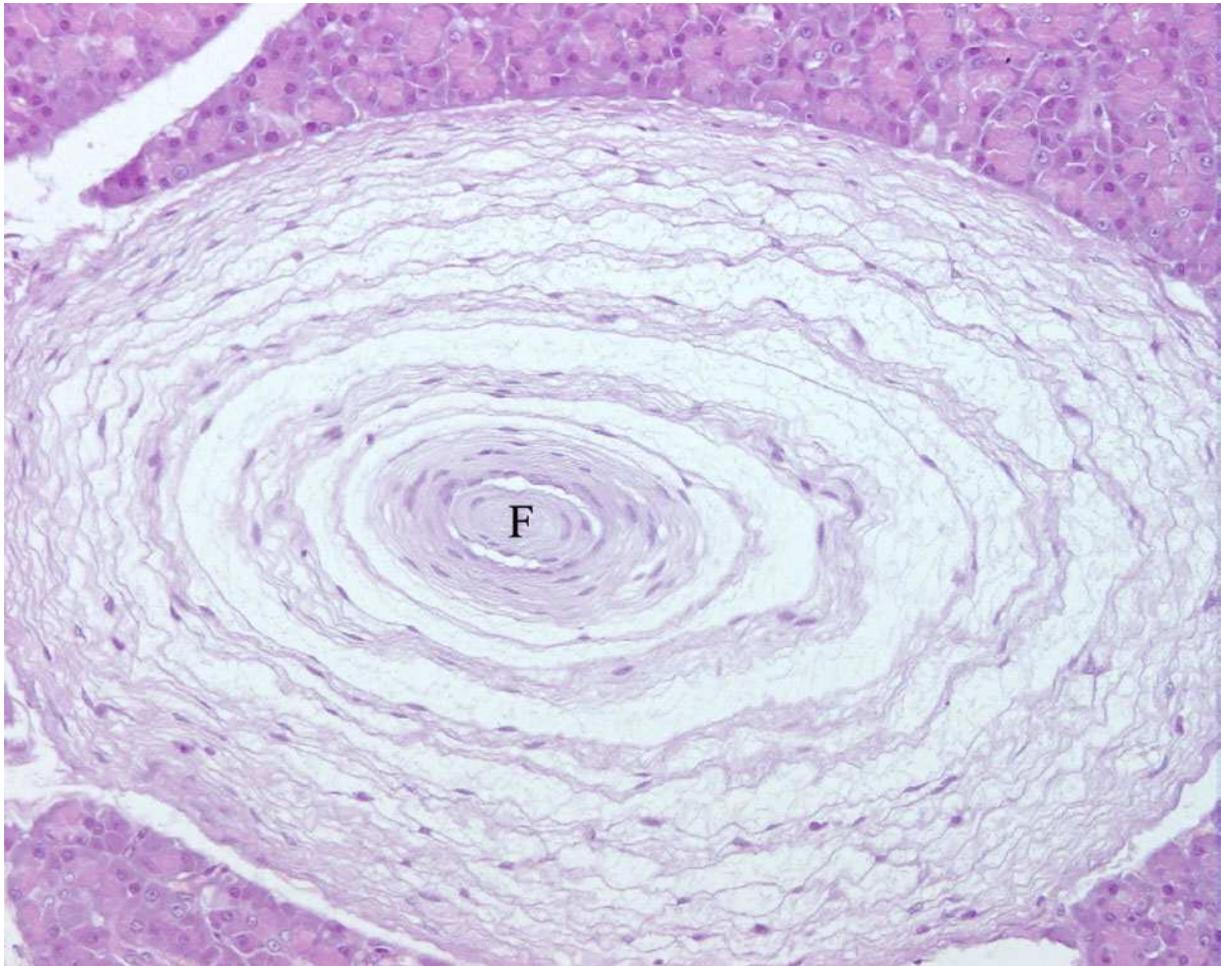


- *Lame 6 : Pancréas du Chat N°2 au grossissement x20 :*



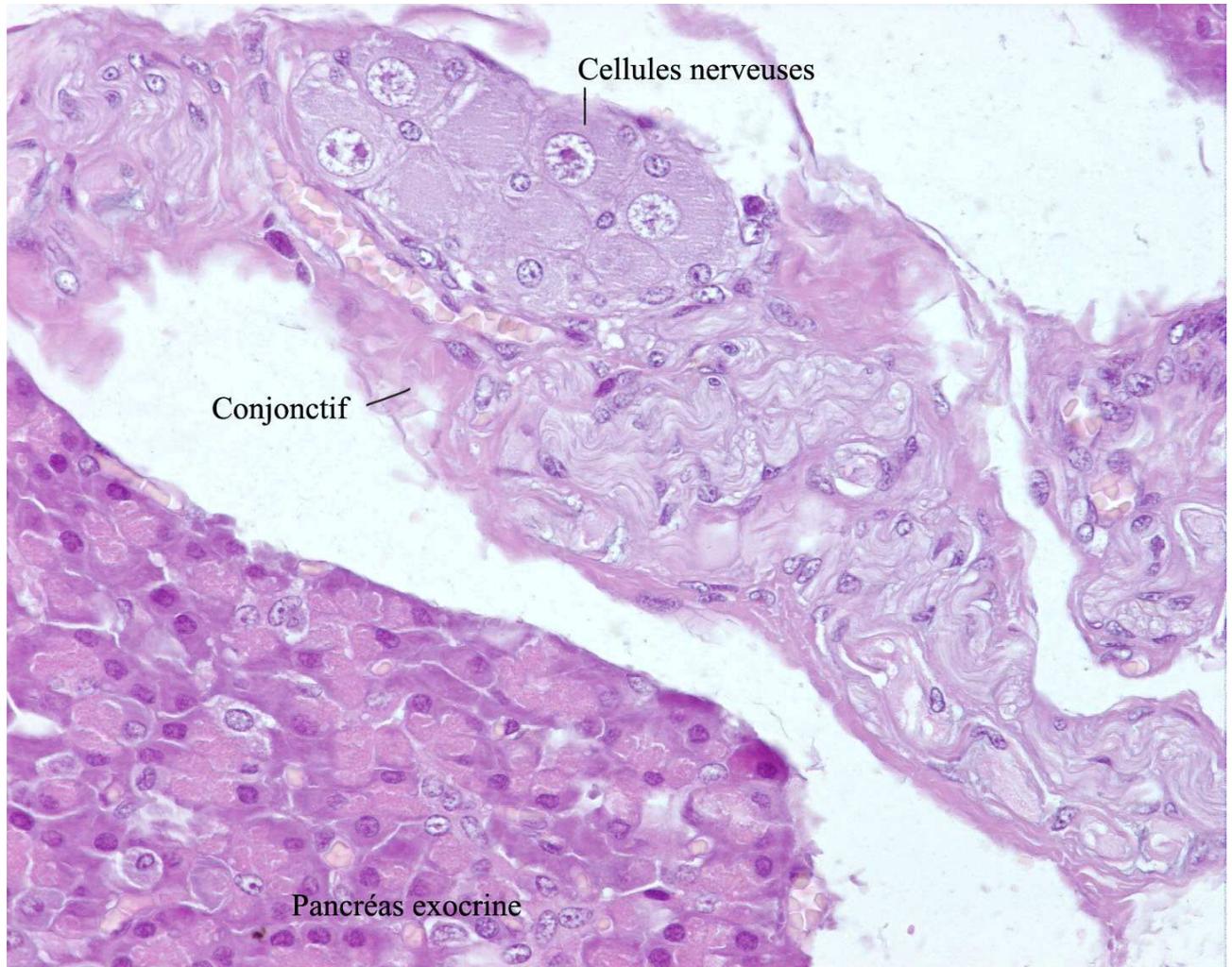
L'observation est similaire au pancréas du chat N°1. On retrouve un organe lobulé de couleur éosinophile parsemé de plages plus claires représentant les îlots de Langerhans. Sur cette micrographie, les lobules pancréatiques sont détachés et laissent deviner la charpente conjonctive (**Conj**). S'observent aussi facilement un corpuscule lamellaire de Pacini (**Pa**) et un canal excréteur (**Ce**) de grand calibre.

- *Lame 7 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x 200 :*



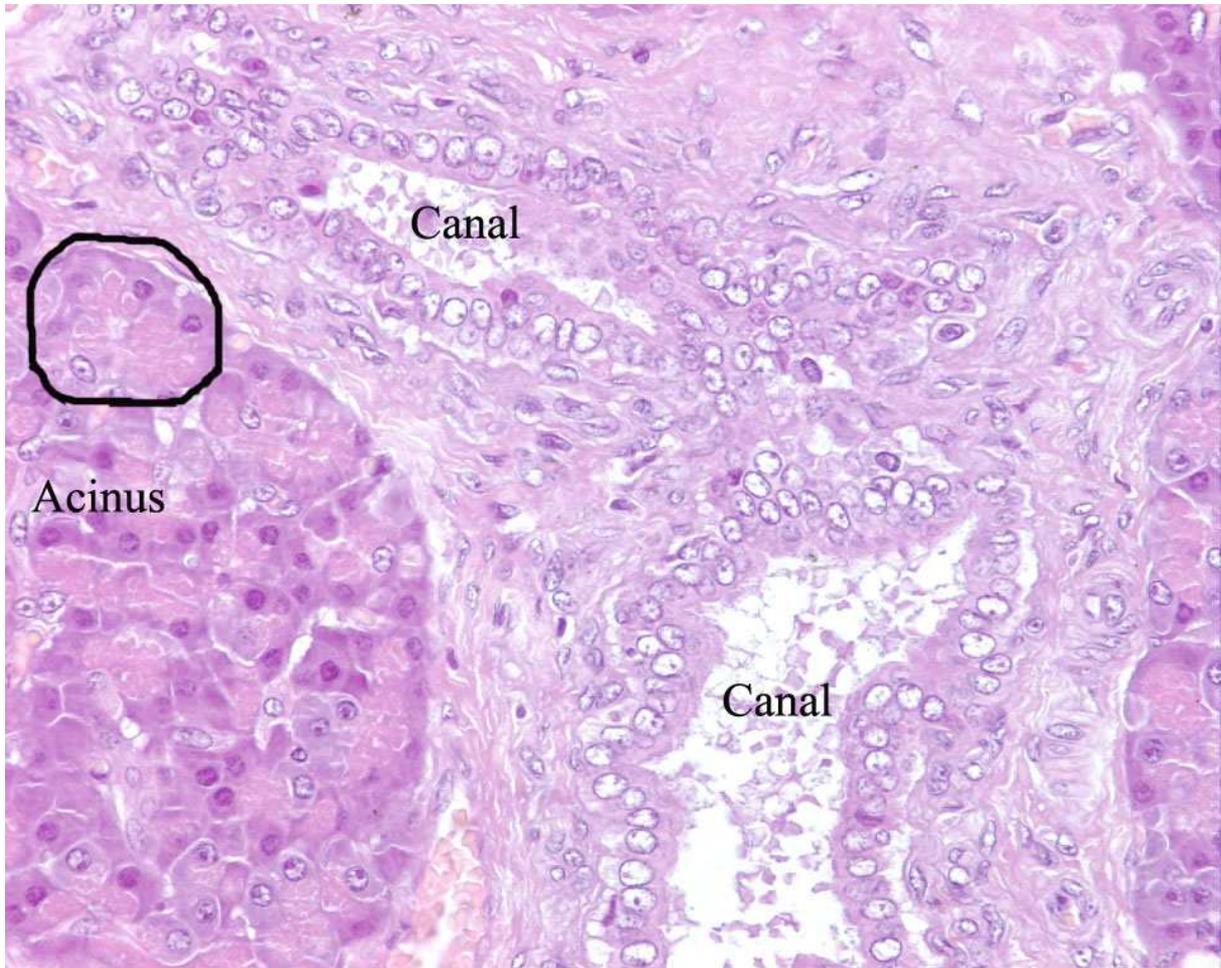
Sur cette micrographie peuvent être observés les détails histologiques d'un corpuscule lamellaire de Pacini. Les corpuscules lamellaires sont de volumineux récepteurs sensoriels encapsulés présentant à la coupe l'aspect d'un bulbe d'oignon. Une fibre nerveuse centrale (F) est entourée de lamelles cellulaires concentriques aplaties séparées par des espaces interstitiels remplis de liquide et de fibres de collagène. Ces corpuscules de Pacini s'observent spécifiquement dans les pancréas du chat.

- *Lame 8 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x400 :*



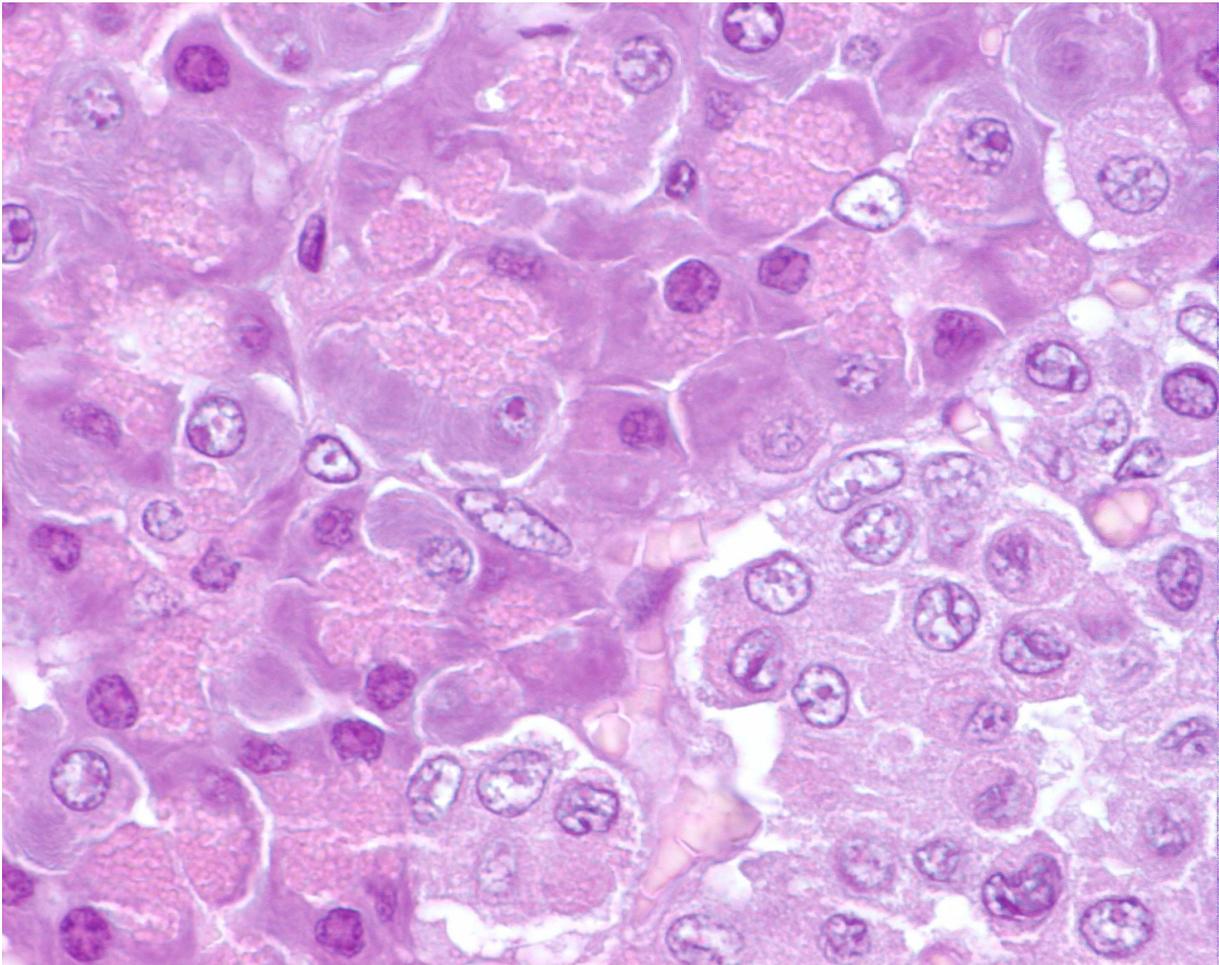
Au voisinage du tissu pancréatique exocrine présent sur cette micrographie, apparaît dans un trabécule conjonctif un plexus nerveux autonome parasympathique. En coupe transversale, se distinguent des cellules nerveuses de grande taille (environ 100 microns). Ces cellules ont un noyau excentré, volumineux à la chromatine poussiéreuse et avec un nucléole proéminent. Leur cytoplasme est basophile et étendu.

- *Lame 9 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x400 :*

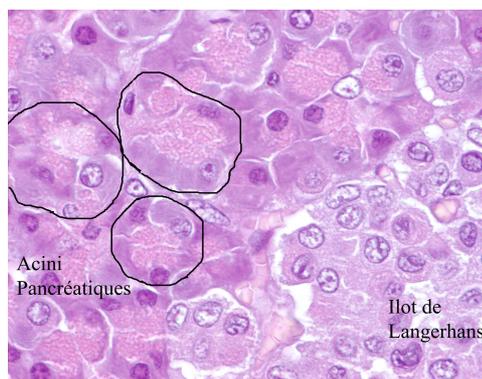


On retrouve sur cette micrographie, les acini pancréatiques décrits sur le chat N°1 avec des cellules acineuses à polarité tinctoriale. Sont présents aussi deux gros canaux excréteurs interlobulaires avec une lumière centrale bien visible bordée par un épithélium simple cubique.

- *Lame 10 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x1000 :*

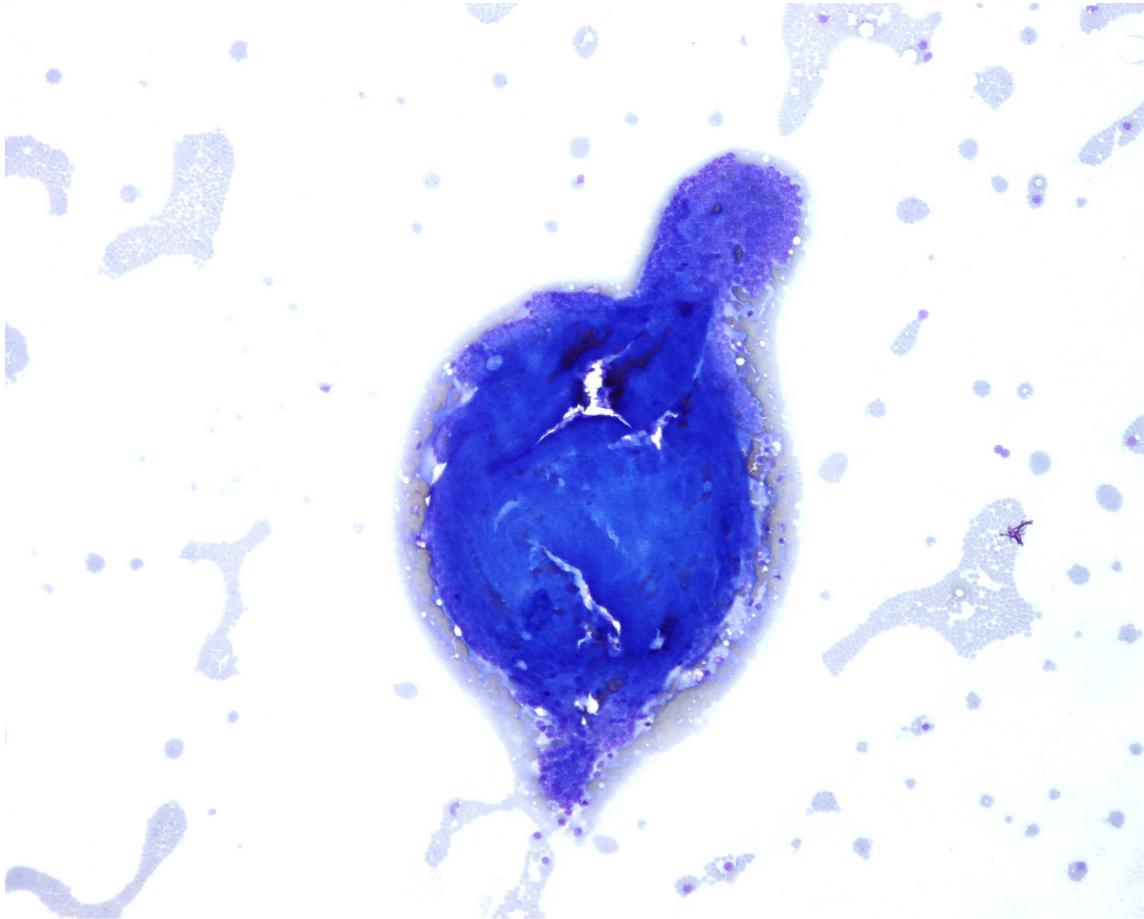


Sur cette micrographie au très fort grossissement apparaissent des acini pancréatiques de forme ovoïde composés de cellules acineuses comme ceux décrits pour le chat N°1. La cellule acineuse présente un noyau basal. Celui-ci peut avoir un nucléole volumineux avec une chromatine réticulée et marginale dessinant la membrane nucléaire. D'autres noyaux peuvent être plus ou moins foncés, le nucléole n'étant pas toujours visible. Le cytoplasme des cellules acineuses apparaît basophile au pôle basal et éosinophile granulaire au pôle apical. L'îlot endocrine apparaît constitué de cellules insulaires sans organisation définie. Les cellules endocrines ont un rapport nucléocytoplasmique moyen à élevé. Leur noyau est de taille variable, souvent indenté et nucléolé, à chromatine fine. Leur cytoplasme apparaît microgranulaire basophile clair.

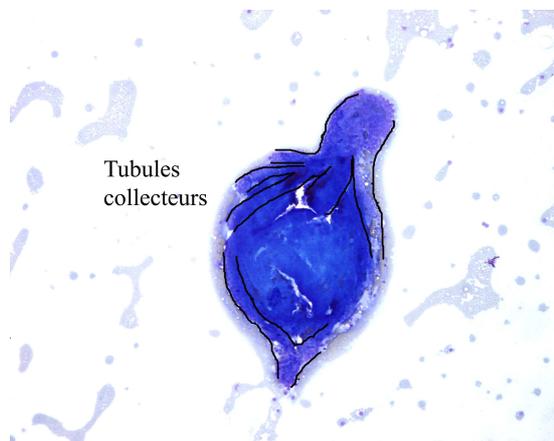


II.B.1)b) Description des lames cytologiques :

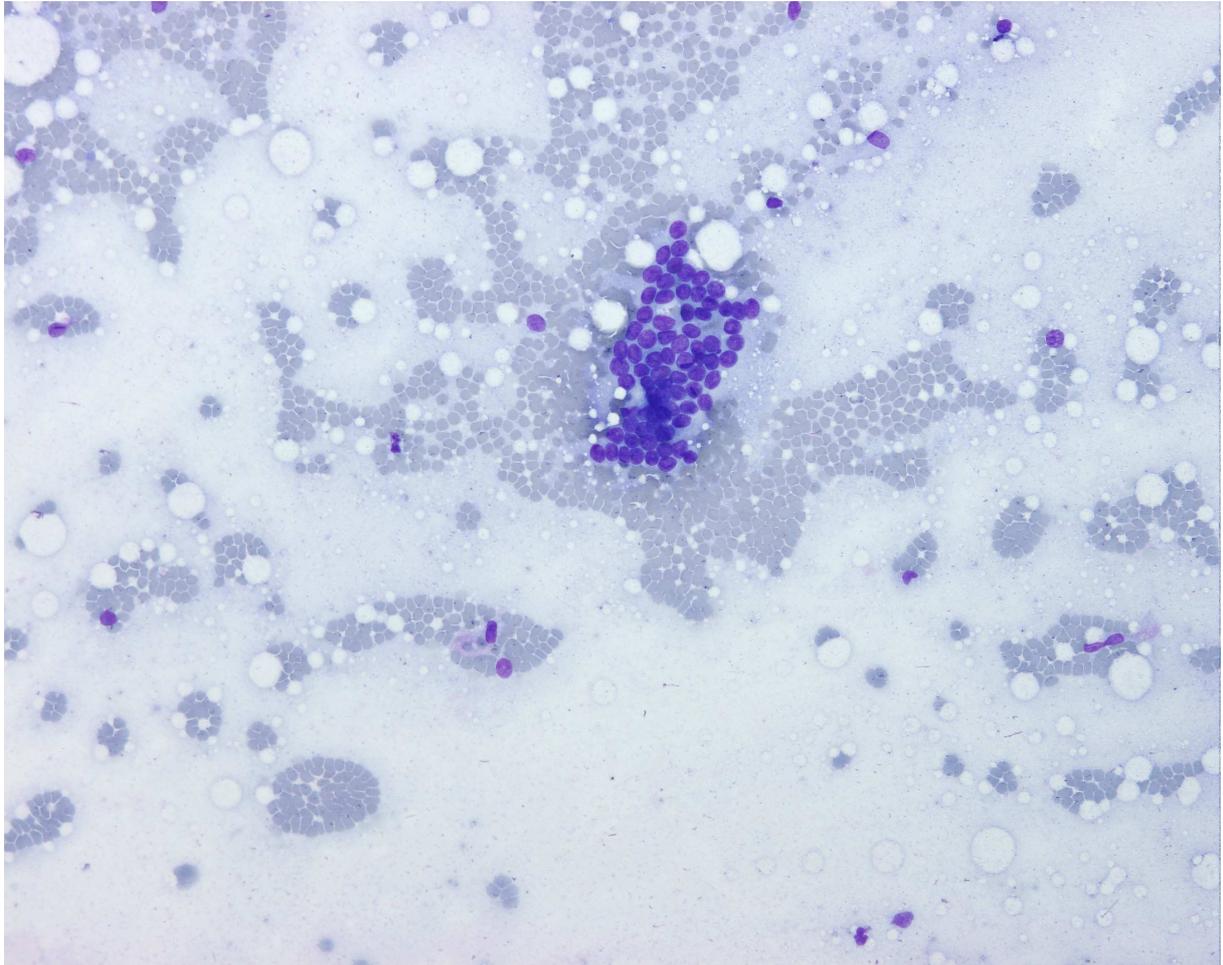
- *Lame 1 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x 100 :*



Sur un fond très légèrement hémorragique, on observe un amas tridimensionnel fortement basophile auquel sont rattachés des éléments longilignes évoquant des ramifications. Au sein de ces ramifications, les cellules qui les constituent sont basophiles avec un fort rapport nucléo-cytoplasmique. L'ensemble de ces observations permet de suspecter qu'il s'agit de tubules collecteurs exocrines.

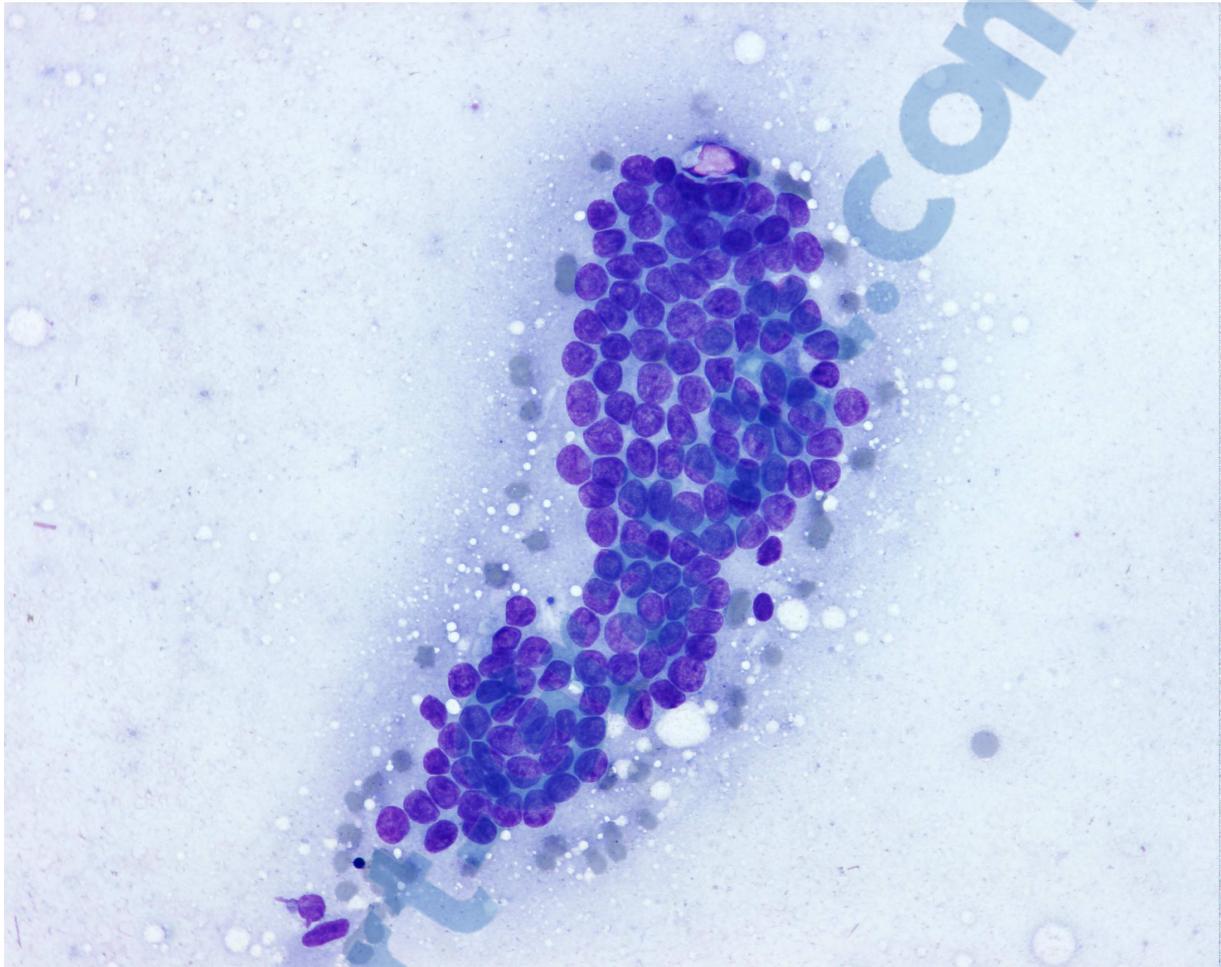


- *Lame 2 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x 200 :*



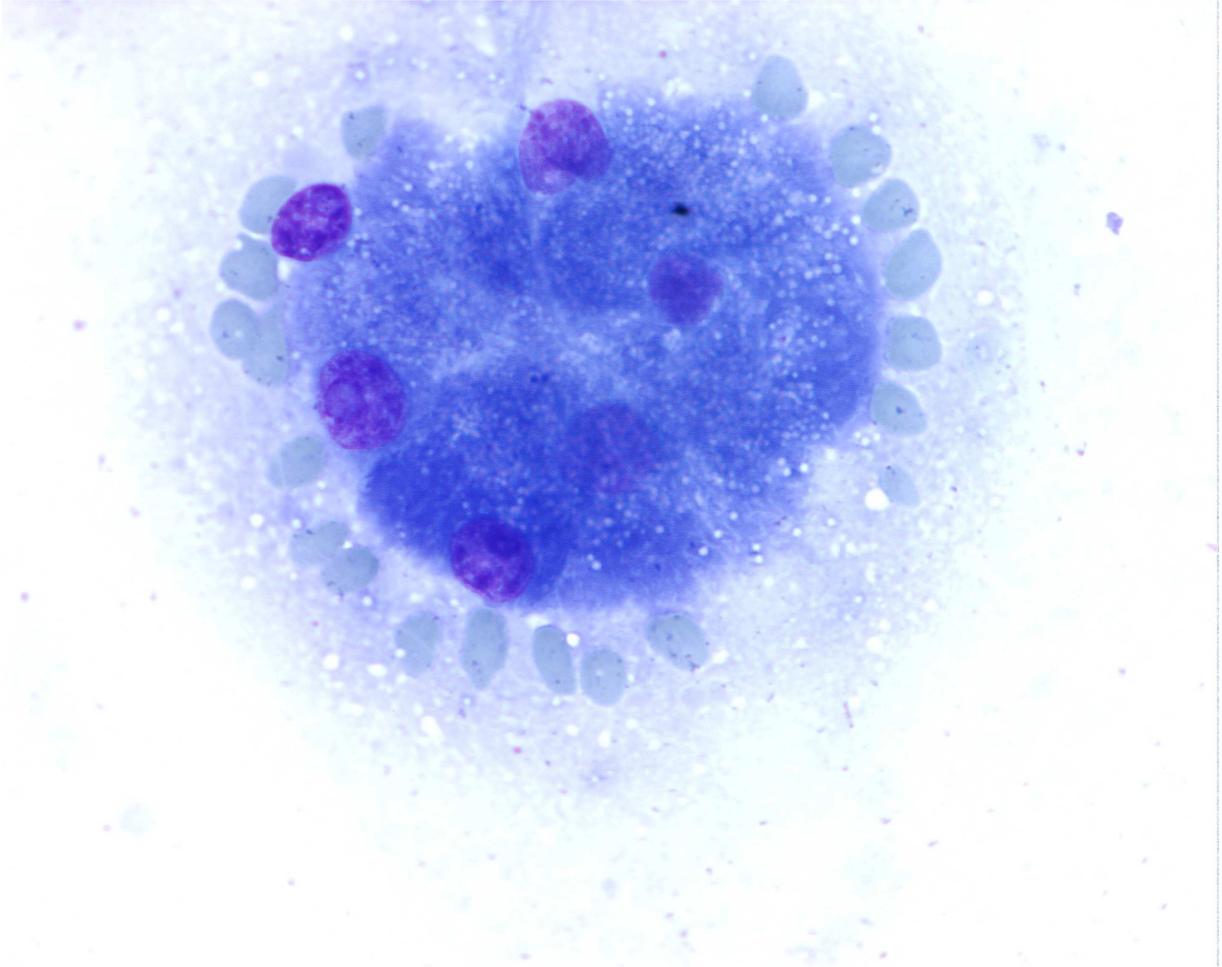
Sur un fond hémorragique et gras, est présent un amas de cellules compatible avec un canal excréteur dont les noyaux semblent coalescents les uns aux autres, évoquant un tapis où les limites cytoplasmiques sont indistinctes. Ces cellules semblent avoir un rapport nucléocytoplasmique élevé : elles sont de petite taille (environ 12 microns) avec un noyau petit également. Leur cytoplasme apparaît basophile clair et ne se distingue pas du fond du frottis.

- *Lame 3 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x400 :*



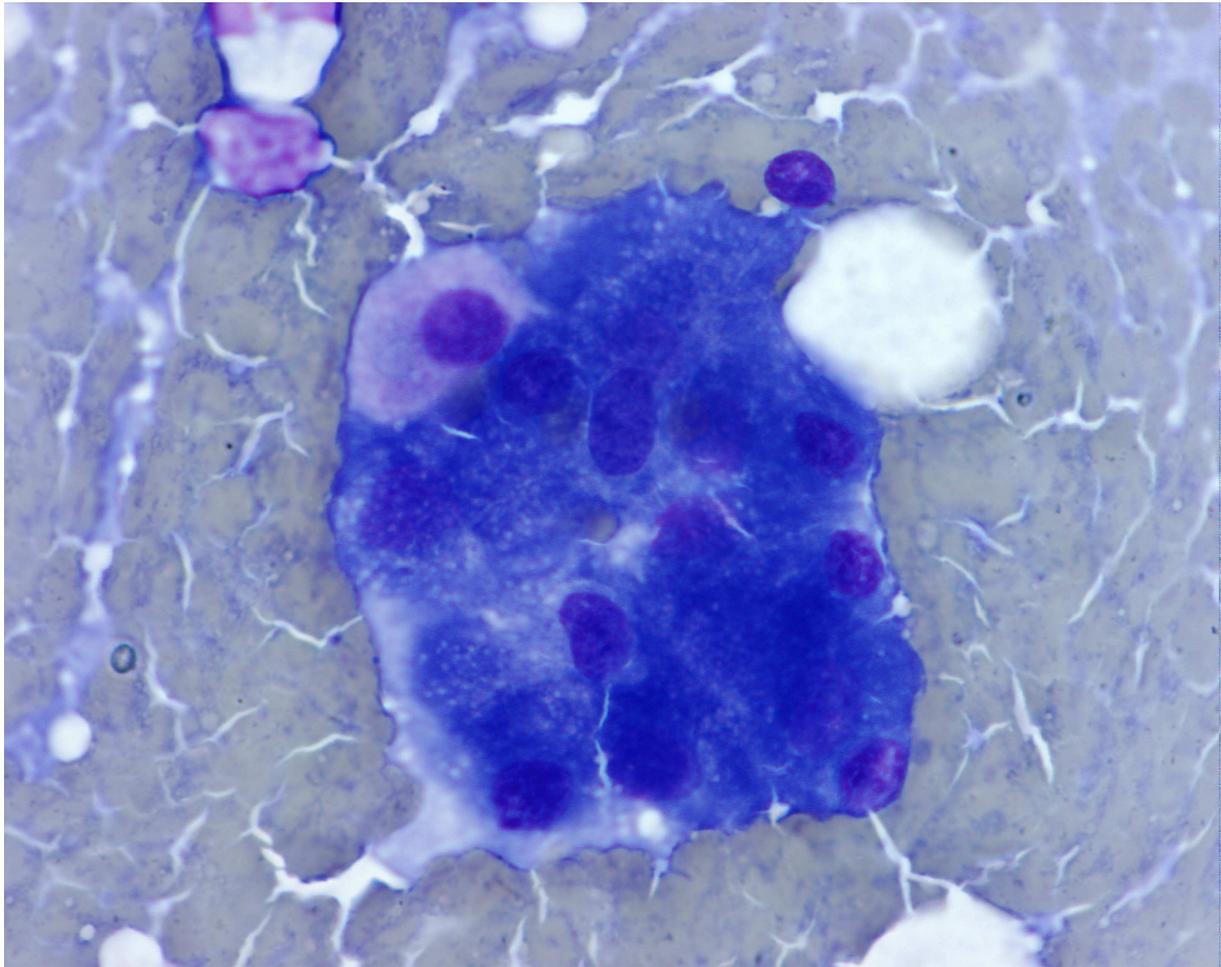
Sur cette micrographie, correspondant à la même plage que précédemment mais à plus fort grossissement, le cytoplasme plus distinct apparaît basophile clair et le fort rapport nucléocytoplasmique de ces cellules est confirmé. Les noyaux sont caractérisés par une légère anisocaryose avec une coloration d'intensité différente allant d'un violet moyen à soutenu. Les noyaux violet foncés ont une chromatine plus homogène et dense. Les autres noyaux, plus clairs, ont une chromatine réticulée.

- *Lame 4 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x 1000 :*



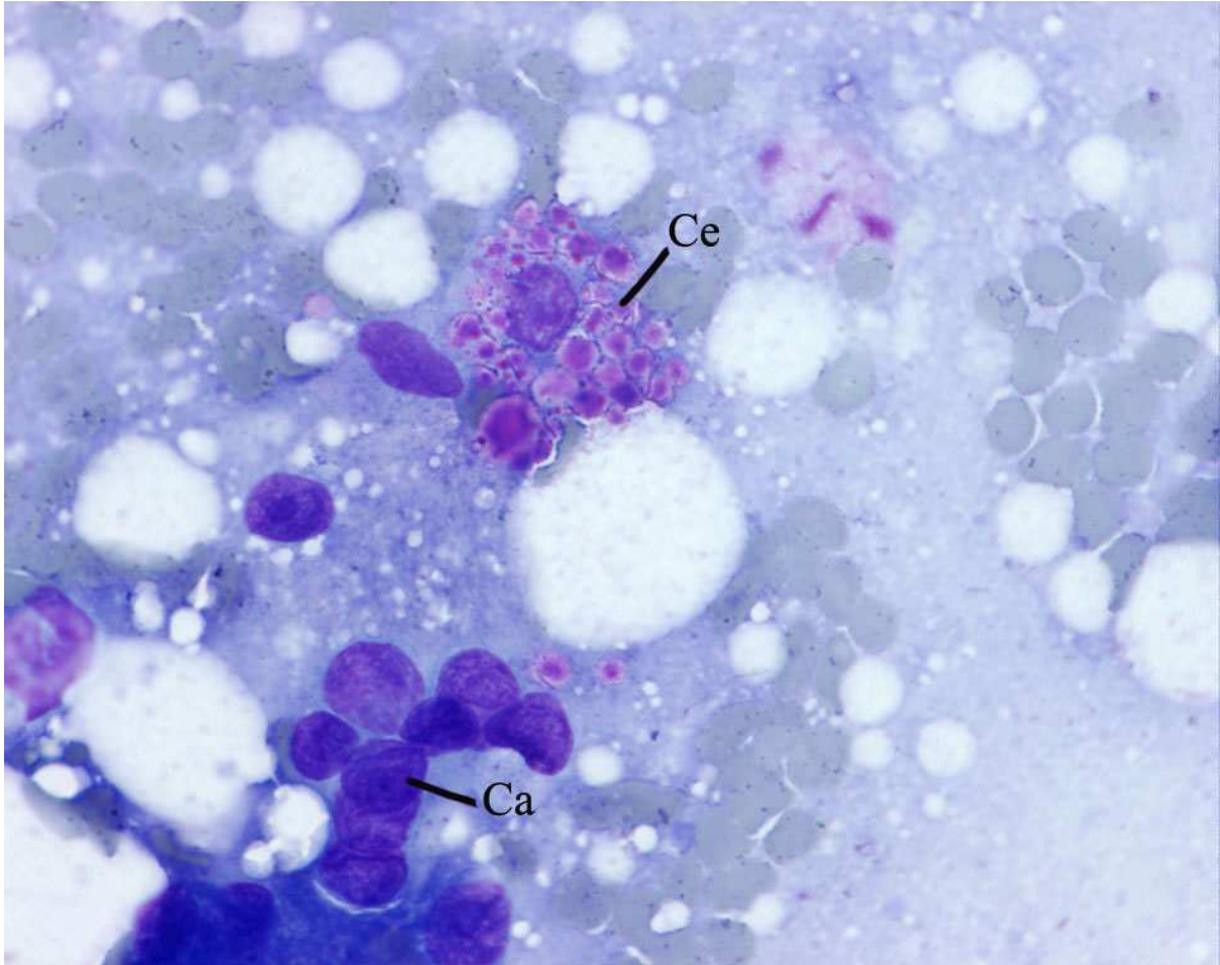
Cerné par une couronne d'hématies, on observe un acinus du pancréas exocrine constitué de cellules organisées en rosettes. Les cellules acineuses sont basophiles foncées, avec un rapport nucléo-cytoplasmique faible. Les noyaux sont de taille hétérogène, ronds ou ovoïdes, excentrés et en position basale. Sur l'ensemble des six cellules observées, deux noyaux possèdent un nucléole bien visible, de grande taille et rond. La chromatine est réticulée, finement mottée. Le cytoplasme basophile est hétérogène caractérisé par la présence de granulations basophiles claires à éosinophiles en quantité importante. Sur la cellule la plus basophile, ces granulations sont situées au pôle apical, tandis que sur les autres cellules, les granulations sont dispersées dans le cytoplasme. Au centre de l'acinus, une zone basophile plus claire est observée et correspond à la lumière virtuelle acineuse.

- *Lame 5 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x 1000 :*



Sur cet amas de cellules acineuses, est présente, à 11h, une cellule plus claire à rapport nucléo-cytoplasmique moyen, noyau rond et chromatine réticulée. Son cytoplasme semble homogène et éosinophile clair. Cette cellule pourrait évoquer une cellule endocrine.

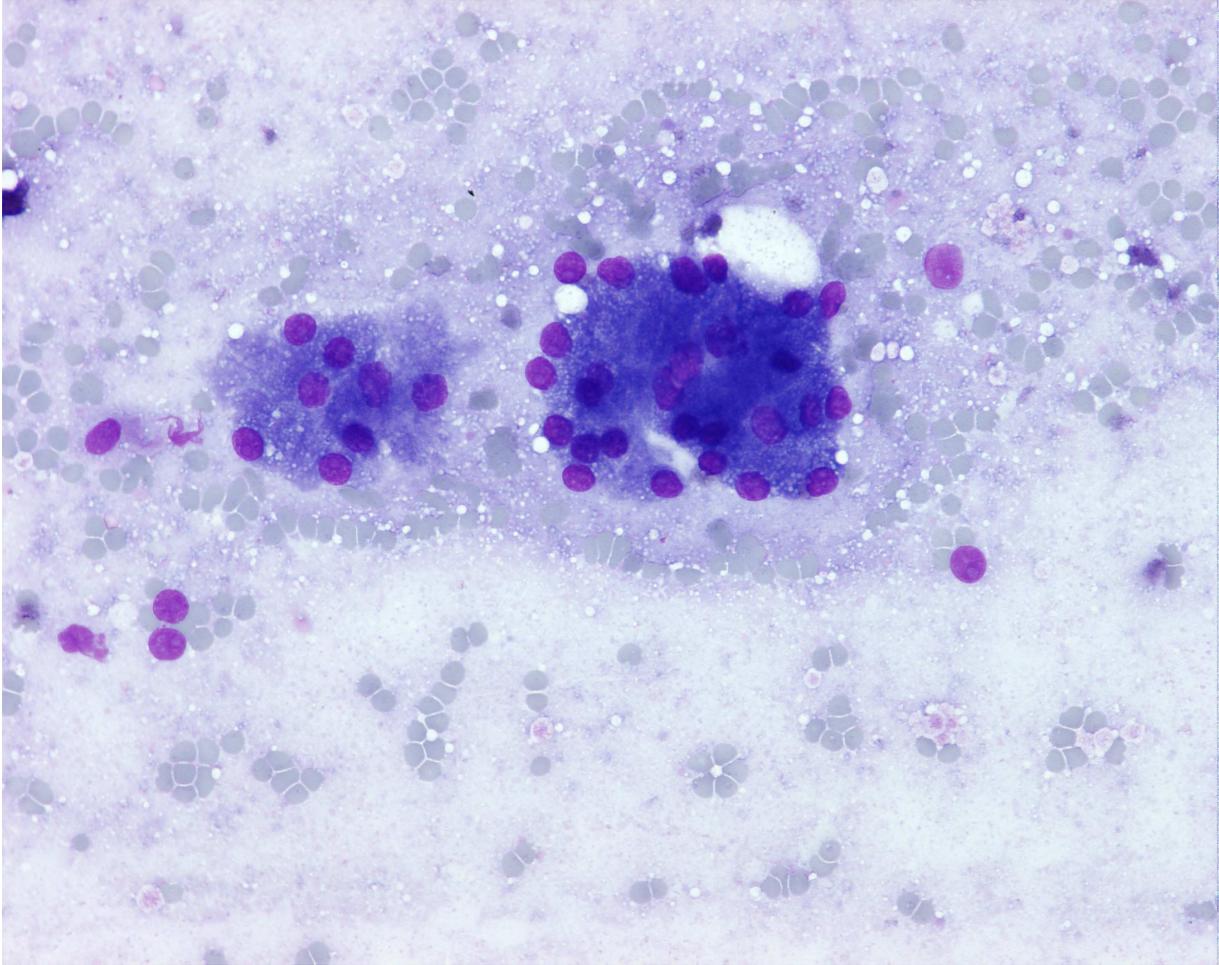
- *Lame 6 : Pancréas du chat N°2 au grossissement x 1000 :*



Sur un fond hémorragique et gras, est observé un tout petit amas cellulaire à fort rapport nucléo-cytoplasmique évoquant des cellules canalaire (**Ca**).

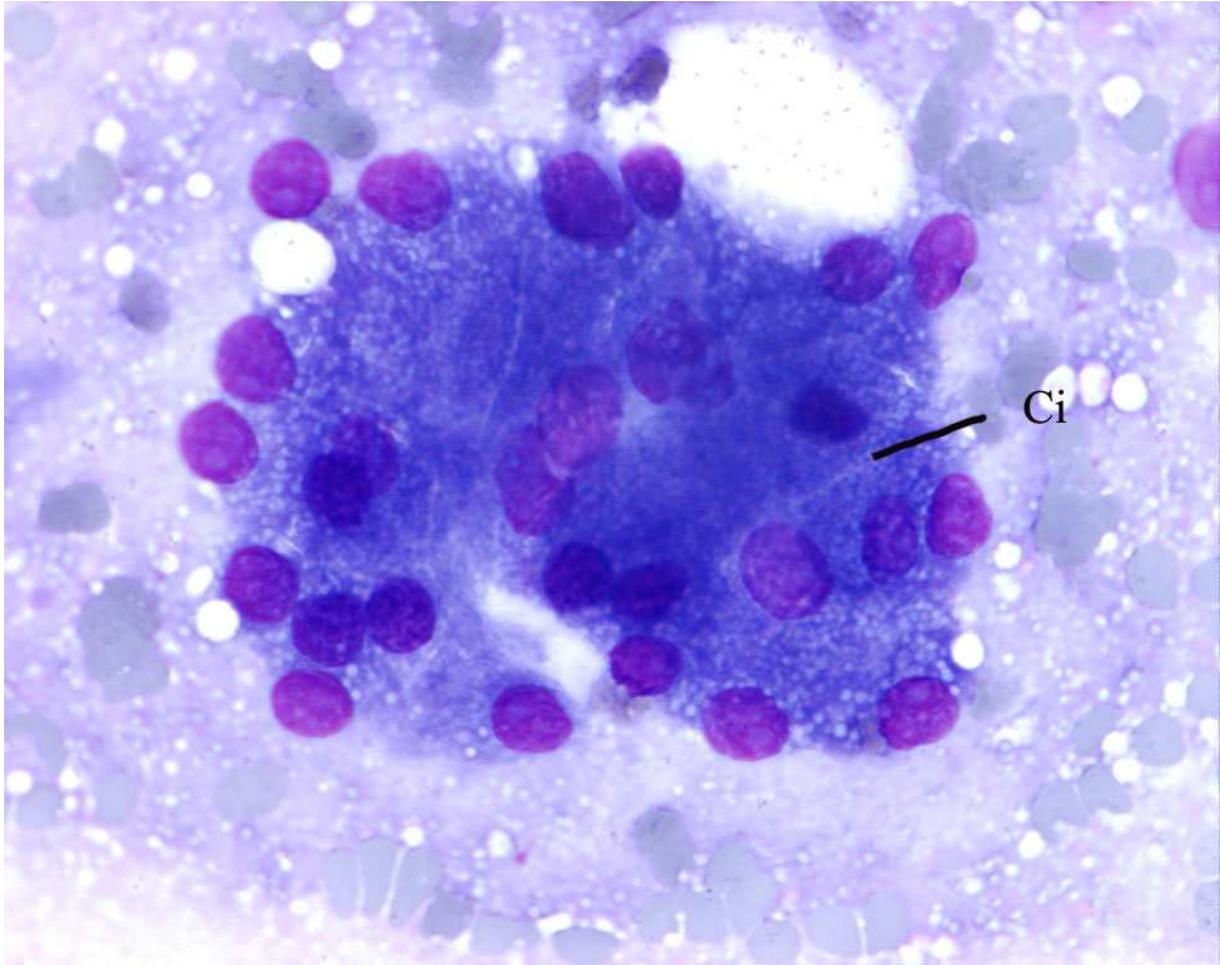
Au centre de cette micrographie, est présente une cellule dont les bords cellulaires ne sont pas définis. Cette cellule d'origine non identifiée (**Ce**) a un noyau central à chromatine réticulée ainsi que des granulations cytoplasmiques azurophiles de petite taille à éosinophiles voire basophiles de taille hétérogène.

- *Lame 7 : pancréas du chat N°1 au grossissement x 400 :*



Sur un fond hémorragique et gras, deux amas de cellules jointives sont présents, évoquant des cellules exocrines acineuses. Ces cellules sont basophiles foncées, avec un rapport nucléocytoplasmique faible. Les noyaux sont de taille hétérogène, ronds ou ovoïdes, excentrés et en position basale. Le cytoplasme basophile est hétérogène caractérisé par la présence de granulations basophiles claires à éosinophiles en quantité importante.

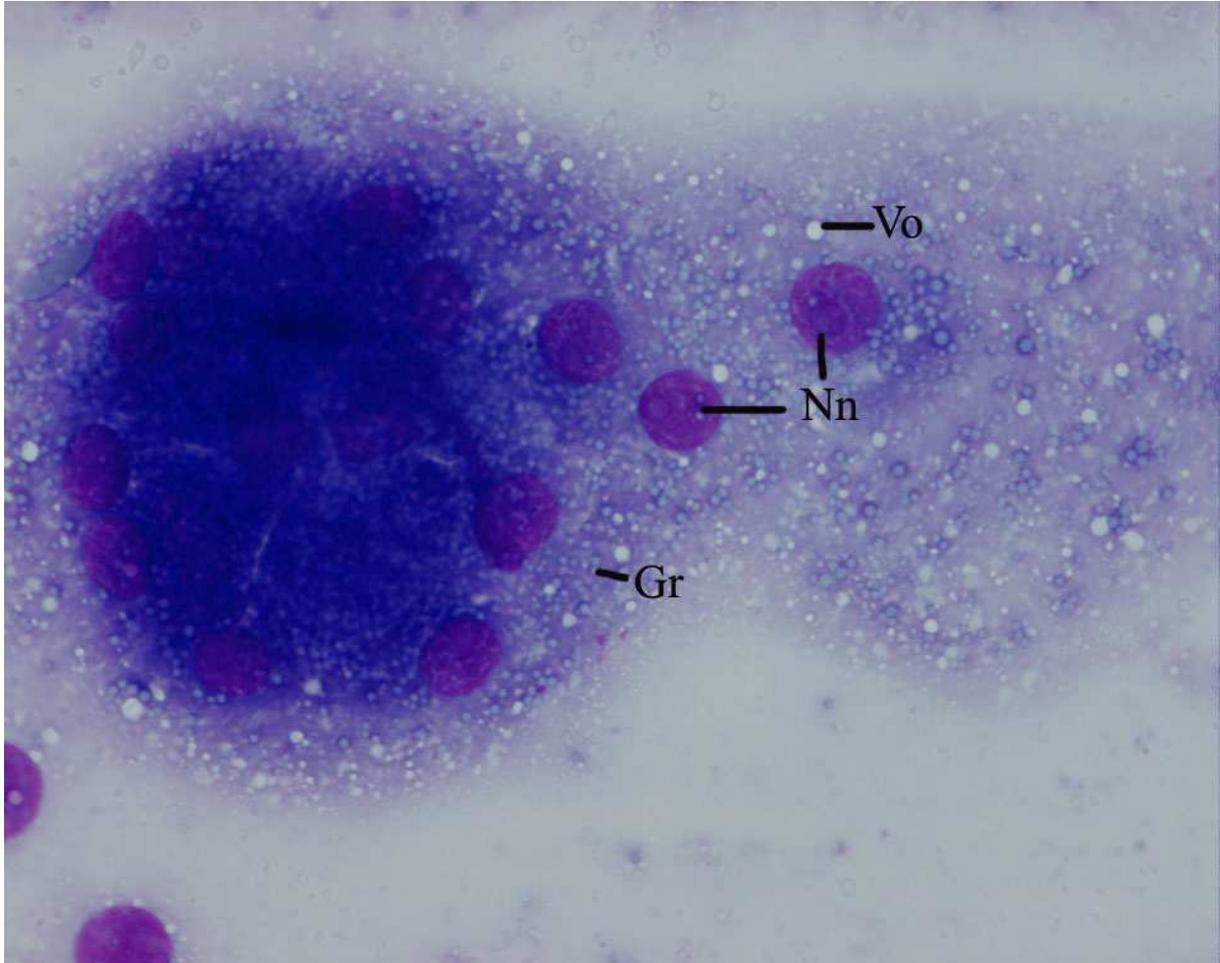
- *Lame 8 : Pancréas du chat N°1 au grossissement x1000 :*



Au fort grossissement, se distingue nettement sur cet amas de cellules jointives un ciment intercellulaire clair (Ci). Cet amas ne permet cependant pas de distinguer des acini bien délimités.

On retrouve cependant les caractéristiques cytologiques des cellules acineuses. Le noyau est rond à ovoïde, excentré en position basale, parfois nucléolé. Le rapport nucléocytoplasmique est élevé. Le cytoplasme basophile contient des granulations basophiles pâles en grande quantité.

- *Lame 9 : Pancréas du chat N°1 au grossissement x1000 :*



A côté d'un amas de cellules évoquant les cellules acineuses décrites sur la micrographie précédente, sont présents deux noyaux nus (**Nn**). En périphérie de ces noyaux nus, le fond du frottis est constitué d'une part de vacuoles optiquement vides (**Vo**) modérément nombreuses évoquant du gras ; et d'autre part de très nombreux grains (**Gr**) de taille et de forme toutes identiques entre elles, de couleur basophile clair homogène bordé d'un ourlet éosinophile foncé évoquant les granulations cytoplasmiques des cellules acineuses.

II.B.2) Discussion :

II.B.2)a) Comparaison des lames observées et des données bibliographiques.

- Comparaison cytologique :

Les sources bibliographiques sur la cytologie normale du pancréas sont rares et peu documentées en particulier chez le chat.

Dans l'*Atlas of canine and feline cytology* de RASKIN Rose E et MEYER Denny J (4) il est précisé que le pancréas est un organe peu ponctionné dont les cellules se dégradent rapidement du fait de l'activité des enzymes pancréatiques. Cependant la bonne qualité des lames cytologiques obtenues par des prélèvements effectués dans les deux heures suivant le décès des chats semble contredire cette hypothèse.

Dans *The Veterinary clinics, Small Animal Practise, Cytology of the pancreas* de BJORNEBY J, KARI S (5), la description du pancréas normal est plus développée.

Les cellules acineuses sont décrites comme suit : elles sont souvent organisées en petits acini ronds et cohésifs voire en plus grand groupe lobulé et occasionnellement isolées. Elles sont polyédriques avec un noyau basal et un cytoplasme apical faiblement éosinophile et granuleux. Le cytoplasme abondant granuleux peut contenir de petites vacuoles. Les noyaux ronds et de taille uniforme sont souvent excentrés avec une chromatine finement granuleuse et un nucléole unique, distinct et petit.

Cette description concorde avec nos observations cytologiques des cellules acineuses à quelques points près :

- Le cytoplasme apparaît basophile plutôt qu'éosinophile.
- Ce cytoplasme contient des granulations claires et non pas des vacuoles (cf photographie lame N°9).
- Les noyaux présentent une certaine anisocaryose et n'apparaissent pas de taille uniforme.

Il est aussi précisé que les cellules endocrines des îlots de Langerhans sont difficiles à différencier des cellules acineuses. Elles ont un cytoplasme de taille variable légèrement basophile. Leur noyau rond à ovale peut présenter une anisocaryose modérée et une chromatine fine à occasionnellement grossière avec un petit nucléole indistinct. Cette description ne correspond pas tout à fait à la cellule éosinophile observée sur la lame N°5 que nous avons supposé être une cellule endocrine distinguable des cellules acineuses environnante.

Enfin, la cellule observée sur la lame N°6 contenant des granulations cytoplasmiques azurophiles de petite taille à éosinophiles voire basophiles de taille hétérogène n'a été décrite dans aucune source bibliographique.

- Comparaison histologique :

Les observations de nos lames histologiques concordent en totalité avec les descriptions bibliographiques du pancréas dans les ouvrages suivants :

- (6) BANKS William J. , *Applied Veterinary Histology. Third edition*, 1993 (Mosby).
- (7) DELLMANN Dieter H, EURELL Joann, *Textbook of Veterinary Histology. Fifth Edition. 2000* (William & Wilkins).
- (8) DELLMANN Dieter H, EURELL Joann, *Color atlas of Veterinary Histology. Second Edition. 2000* (William & Wilkins).
- (9) WEATHER P.R. , YOUNG B. , HEATH J.W. , *Histologie fonctionnelle, Quatrième édition*, 2001 (De Boeck université).

II.B.2)b) Comparaison des lames histologiques et cytologiques.

La lecture des lames cytologiques et histologiques a permis de tirer des conclusions pour les différents composants du pancréas :

- Les acini du pancréas exocrine ont une structure relativement bien conservée à la cytologie. Une bonne corrélation est observée entre les observations cytologiques et histologiques.
- Le tissu endocrine est difficile à identifier avec certitude en cytologie. Il est peu représenté sur les lames cytologiques puisqu'il ne représente que 2% de la masse pancréatique.
- Les cellules des conduits excréteurs sont bien conservées en cytologie avec l'observation possible de tubules collecteurs (lame N°1).
- Les corpuscules lamellaires de Pacini observés en histologie (lame N°7) n'ont pas été retrouvés sur les lames cytologiques.

En conclusion, même si l'histologie apparaît plus complète pour décrire les différents composants du pancréas, la cytologie semble être un outil très intéressant comme le montrent ces deux cas. En effet, chez ces deux chats sains, le pancréas exocrine représentait 98% de la masse pancréatique et nous avons pu observer ses différentes composantes (acini, tubules) sur l'ensemble des lames cytologiques observées. Ainsi peut-on conclure que la cytologie a été représentative de la masse pancréatique principale.

Ces observations nous permettent de proposer la cytologie comme un outil complémentaire des investigations du pancréas chez le chat notamment en collaboration étroite avec l'échographie. En effet, moins invasive que la biopsie, la ponction à l'aiguille fine du pancréas peut être effectuée en plusieurs points de l'organe en toute innocuité au niveau des images échographiques anormales. Cette ponction permettrait ainsi d'obtenir des lames cytologiques représentatives du tissu pancréatique présent si l'on s'en réfère aux résultats obtenus sur du tissu sain et au peu d'études existant en médecine vétérinaire (5).

La connaissance de la cytologie normale, peu détaillée chez le chat nous permettra ainsi de mieux aborder les tissus malades, pour le pancréas bien sûr, mais aussi pour tous les autres tissus encore parfois peu ponctionnés en médecine vétérinaire féline.

BIBLIOGRAPHIE

1. COWELL Rick L., TYLER Ronald D., MEINKOTH James H.
Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and the Cat, second edition.
Mosby, Inc,1999
2. KUCHLER-HIGELIN Murielle
Cytologie normale des organes profonds du chien et du chat.
Thèse de Doctorat Vétérinaire, Lyon, 2002- LYON I, 127.
3. BAKER Rebecca, LUMSDEN John H, Le SUEUR-ALMOSNI Florence
Atlas de cytologie canine et féline.
Masson, 2001
4. RASKIN Rose E, MEYER Denny J.
Atlas of canine and feline cytology.
Saunders, 2001
5. BJORNEBY John M, KARI Shawn,
Cytology of the pancreas
Veterinary clinics of North America : Small Animal Practice, 2002 ; 32
6. BANKS William J.
Applied Veterinary Histology. Third edition
Mosby, 1993.
7. DELLMANN Dieter H, EURELL Joann,
Textbook of Veterinary Histology. Fifth Edition.
William & Wilkins, 2000.
8. BACHA William J, BACHA Linda M,
Color atlas of Veterinary Histology. Second Edition.
William & Wilkins, 2000.
9. WEATHER P.R., YOUNG B., HEATH J.W,
Histologie fonctionnelle. Quatrième édition.
De Boeck université, 2001.

Toulouse 2006

NOM : LAFOND

PRENOM : Carine

TITRE : Atlas comparatif d'histologie et de cytologie des tissus sains chez le chat.

RESUME :

Peu de données sont actuellement disponibles sur la cytologie normale du chat sain. Cette étude a eu pour but de réaliser une banque de lames et de photographies de cytologie et d'histologie de tissus sains chez le chat. Elle est composée de trois volets : un manuscrit, un Cdrom regroupant l'ensemble des photographies sous forme d'atlas, et les boîtes de lames histologiques et cytologiques. Le manuscrit expose le travail effectué avec la description comparée histologique et cytologique d'un organe en particulier, le pancréas. Pour le pancréas, même si l'histologie est plus complète pour décrire les différents composants tissulaires et leurs rapports architecturaux, la cytologie s'avère riche et concordante avec l'histologie. La cytologie est donc intéressante dans l'exploration des affections pancréatiques du chat, fréquentes dans cette espèce. De plus, la cytoponction est avantageuse de par son innocuité et sa précision. Cette étude a permis de faire le point sur la cytologie des tissus sains et d'apprécier la qualité de cette technique pour chacun des organes prélevés.

MOTS CLES : Chat, Histologie, Cytologie, Tissus sains, Atlas.

LAST NAME : LAFOND

FIRST NAME : Carine

TITLE : Comparative atlas of histology and cytology of healthy tissues in cats.

ABSTRACT :

Nowadays, few data are available on healthy cats normal cytology. Our aim was to realize a bank of slides and photographs of cats healthy tissues. This study is three-parted : first a manuscript, then a CD-rom displaying an atlas of all the photographs taken and at least the box containing the cytologic and histologic slides. In the first place, the author describes how the study was carried out. Afterwards, he compares the pancreas histology and its cytology. Histology of this specific organ helps to describe its different components and their architecture more thoroughly. Nevertheless, cytology proved to be information-full, and agreeing with histology. Thus, cytology seems specially interesting to explore the cats pancreatic disorders, which often occurs in this species. Furthermore, the harmlessness and accuracy of cytopuncture make it more attractive. This study took stock of the cytology on healthy tissues and assessed the quality of this technique for each organ sampled.

KEY WORDS : Cat, Histology, Cytology, Healthy tissues, Atlas.