



Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



MISE AU POINT

L'immuno-cytochimie : une aide au diagnostic cytologique

Immunocytochemistry as an adjunct to diagnostic cytology

Monique Courtade-Saidi^{a,*}, Marc P. Dupre^b

^a *UF d'histologie-cytologie, service d'anatomie pathologique et histologie-cytologie, hôpital de Rangueil, 1, avenue J.-Poulhes, TSA 50032, 31059 Toulouse cedex 9, France*

^b *Department of pathology and laboratory medicine, faculty of medicine, university of Manitoba, hôpital Général de Saint-Boniface, 409, avenue Taché, Winnipeg, R2H 2A6 Manitoba, Canada*

Accepté pour publication le 13 septembre 2012
Disponible sur Internet le 20 novembre 2012

MOTS CLÉS

Immuno-cytochimie ;
Lames d'étalement ;
Cytospin ;
Étalements en
monocouche ;
Liquides
d'épanchement ;
Cytoponctions à
l'aiguille fine

KEYWORDS

Immunocytoche-
mistry ;
Smear ;
Cytospin ;
Liquid-based
cytology ;
Effusion fluid ;
Fine needle
aspiration

Résumé L'immuno-cytochimie est une technique complémentaire qui devrait être de routine ; cela reste néanmoins loin de la réalité pour de nombreuses structures d'anatomie et cytologie pathologiques ; les raisons en sont multiples : diversité des techniques de préparation cytologique parfois au sein d'une même structure ; manque de reproductibilité du matériel cellulaire ou pauvreté cellulaire ; absence de validation de certaines techniques en cytologie ; absence de témoins etc. . . . Néanmoins, la cytopathologie ne devrait plus, de nos jours, se concevoir sans l'aide de l'immuno-cytochimie qui apporte, comme en histologie, fiabilité diagnostique et éléments pronostiques.

© 2012 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary Immunocytochemistry (ICC) as a routine ancillary test remains a distant reality for most diagnostic laboratories. Notable barriers to the mass deployment of ICC include: the large variety of specimen preparations, the small specimen size, lack of validation and lack of control specimens. As clinicians constantly strive to answer questions relating to diagnosis, therapy and prognosis with minimally invasive sampling techniques, the cytopathology community must endeavour to adopt ancillary specimen testing by ICC as a core element of diagnostic cytology.

© 2012 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

DOI de l'article original : <http://dx.doi.org/10.1016/j.annpat.2012.09.205>.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : courtade.m@chu-toulouse.fr (M. Courtade-Saidi).

Introduction

Le développement des diagnostics basés sur la cytologie a nécessité le développement de techniques ancillaires parmi lesquelles l'immuno-cytochimie (ICC) joue un rôle majeur. En dépit de plus de 20 ans de publications décrivant des protocoles standardisés et en justifiant l'utilisation, l'ICC peine à devenir une technique de routine et souffre d'un manque de standardisation des méthodes [1,2]. Nous rapportons ici une revue pratique de l'ICC en résumant les techniques applicables aux échantillons cytologiques les plus couramment rencontrés : étalements sur lames, cytopins, cytologie en milieu liquide et cytoblocs d'inclusion en paraffine.

Les spécificités techniques de l'immuno-cytochimie

Une des difficultés majeures qui limite la standardisation et la généralisation de l'ICC est représentée par l'importante diversité des échantillons et des préparations cytologiques que l'on rencontre au sein des structures. Le matériel cytologique peut parvenir sous forme d'étalements séchés à l'air réalisés par le clinicien ou de liquides frais fixés ou non fixés qui seront traités selon différents protocoles techniques au laboratoire. La cytologie en milieu liquide bénéficie du recueil dans un liquide spécifique, dont la nature est variable puisqu'il existe plusieurs milieux liquides, et implique la confection de lames selon les recommandations du fournisseur.

Le caractère limité des échantillons cytologiques ainsi que la grande diversité des modalités de préparation des lames sont autant de facteurs limitant la performance et la reproductibilité de l'ICC. Enfin, la nature de certaines préparations cytologiques n'autorise pas l'utilisation de certains anticorps spécifiques.

Étalements conventionnels

Dans la plupart des cas, les étalements sur lames sont réalisés par le clinicien et la qualité des prélèvements peut donc être variable et représenter un facteur limitant pour l'ICC. Un prélèvement non traumatique et un bon étalement cytologique doivent être assurés afin de conserver la morphologie cellulaire et éviter la présence d'amas tridimensionnels de cellules qui seront insuffisamment marqués par l'ICC [3]. Les étalements très hémorragiques peuvent représenter un facteur limitant pour la qualité de l'ICC en raison du bruit de fond important que cela peut générer, en particulier lors de l'utilisation d'une réaction avec la peroxydase. Ce bruit de fond peut être évité en utilisant la phosphatase alcaline et une plateforme automatisée avec un anticorps secondaire lié à un polymère. C'est ainsi que de bons résultats ont été rapportés sur des étalements de sang périphérique et de moelle osseuse en utilisant cette technique [4]. Sur le plan pratique, l'utilisation de lames prétraitées afin d'augmenter l'adhérence est cruciale pour éviter la perte des cellules durant les différentes étapes de la technique. Les étalements non fixés, séchés à l'air, peuvent poser problème en ICC tant par le manque d'immunomarquage que par les faux-positifs, comme cela a été décrit notamment avec les anticorps dirigés contre des protéines du cytosquelette [3]. Même s'il a été rapporté que les antigènes de surface peuvent être détectés jusqu'à

trois à quatre jours après la réalisation de l'étalement en l'absence de fixation, il est admis que la fixation est essentielle pour assurer la conservation des épitopes antigéniques. Le séchage à l'air d'étalements post-fixés avant l'ICC peut également compromettre le résultat. Les méthodes de fixation sont variables. Il peut s'agir d'une immersion dans de la glutaraldéhyde à 0,05 %, dans de l'acétone, des fixateurs à base d'alcool ou de formol ou bien de l'utilisation de sprays fixateurs. La glutaraldéhyde et les fixateurs en spray ont été préférés par certains auteurs dans la mesure où ils ne modifient pas les protéines de surface des cellules [3], alors que d'autres ont critiqué les sprays fixateurs car ils ne conviennent pas systématiquement pour la fixation de tous les épitopes antigéniques [5].

L'ICC peut être réalisée avec succès sur des lames blanches non colorées, colorées au Papanicolaou ou après décoloration [6]. En comparant l'ICC réalisée sur des lames blanches et sur des lames de Papanicolaou décolorées, des résultats équivalents ou supérieurs ont été obtenus dans 84 % des cas sur les lames décolorées. Des résultats similaires peuvent être attendus quand l'ICC est réalisée directement sur des lames colorées au Papanicolaou. Toujours dans l'étude d'Abendroth et al. [6], il n'y avait pas de différence de résultat entre des lames fixées et des lames séchées à l'air. Les échantillons difficiles à interpréter en ICC en raison d'un bruit de fond lié à de la nécrose ou à un fond richement protéique bénéficient de meilleurs résultats quand l'ICC est pratiquée à partir de lames colorées au Papanicolaou ou bien décolorées [6]. La réhydratation des lames dans des alcools et la décoloration dans des bains d'alcool-acide permettent l'élimination du fond protéique. Il est intéressant de noter que même si cette technique permet de réduire le bruit de fond, la positivité peut être relativement focale et nécessite une attention particulière pour l'interprétation des lames.

Des techniques de transfert de cellules ont été utilisées afin de permettre l'utilisation de plusieurs anticorps quand trop peu de matériel est disponible [7]. Les lames représentatives avec une dispersion cellulaire relativement correcte peuvent être recouvertes avec un milieu de recouvrement liquide qui, une fois durci, peut être découpé avec un couteau de diamant. Ces échantillons sont alors montés sur des lames individuelles à des fins d'ICC. Même si cette méthode est laborieuse et nécessite plusieurs étapes pour réaliser des lames supplémentaires, elle est considérée comme très peu coûteuse et possède l'avantage de générer plusieurs lames avec une perte minimale de cellules tout en préservant la morphologie cellulaire et la réactivité antigénique. Indépendamment de ces applications en ICC, le transfert de cellules peut être utile pour réparer des lames abîmées [8]. Ce transfert peut également représenter une technique intéressante afin de limiter le volume d'anticorps nécessaire pour recouvrir une lame entière. Des résultats d'ICC identiques à ceux obtenus à partir de cytoblocs d'inclusion en paraffine ont été ainsi rapportés [9].

Des étalements directs réalisés à partir du culot cellulaire recueilli après centrifugation de liquide frais présenteront de meilleurs résultats dans la mesure où le laboratoire contrôle toutes les étapes de la confection et de la fixation des lames.

Cytospins

Du matériel frais (épanchements des séreuses, ponctions de kystes, liquides céphalorachidiens...) ou fixé (urines) envoyé au laboratoire peut être traité avec la technique en cytopin. La plupart des études immuno-cytochimiques sur lames

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4128279>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4128279>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)