



**Eve Ramery**  
Spécialiste  
en pathologie  
clinique,  
cytologiste  
pour Vetscyt.



**Cathy Layssol-Lamour**  
Praticienne  
hospitalière à l'ENV  
de Toulouse.



SYNTHÈSE

# Cytologie : les clés pour un étalement réussi

L'un des principaux freins pour recourir à la cytologie est la peur du prélèvement non diagnostique. Pourtant, en appliquant quelques astuces relativement simples, il est possible d'obtenir du matériel de qualité dans la plupart des cas. Cet article aborde ainsi les clés liées à l'étalement du prélèvement. Il fait suite à une première partie<sup>1</sup> qui présentait l'intérêt de la cytologie et visait à lever les obstacles liés au prélèvement en lui-même.

## Conserver des cellules intactes

De par ses petites dimensions, le prélèvement cytologique a tendance à sécher rapidement. Or, lorsqu'elles séchent, les cellules perdent leur élasticité et ont donc tendance à se rompre facilement dès lors qu'une force même minime leur est appliquée : par exemple, quand les cellules sont expulsées de l'aiguille, en les étalant. La rapidité d'exécution du prélèvement est donc un élément clé pour obtenir des cellules intactes. Pour ce faire, les lames doivent être sorties à l'avance (en prévoir cinq en moyenne par site). Il n'est pas nécessaire de les nettoyer, car elles sont vendues pré-lavées. Le piston de la seringue utilisée pour stabiliser le geste est pré-

rempli avec 1 ml d'air pour faciliter l'expulsion du prélèvement. Ce dernier doit être déposé sur une lame dès que l'aiguille est sortie de l'animal. Il convient d'éviter d'expulser le matériel en spray, car les cellules sécheraient immédiatement et se rompraient en cas d'étalement, ou se retrouveraient au sein de gouttelettes épaisses où les détails cytomorphologiques ne sont pas discernables. Le matériel déposé doit être immédiatement étalé. Deux techniques sont possibles :

- **La technique utilisée pour réaliser les frottis sanguins.** Dans ce cas, il importe de veiller à ce que le frottis n'atteigne pas l'extrémité de la lame, afin que les cellules situées en queue de frottis (souvent les plus nombreuses et les mieux préservées) soient observables (s'arrêter au maximum à 0,5 cm du bout de la lame). Cette technique est à privilégier pour les prélèvements de consistance liquidienne à semi-liquidienne.

- **La technique "lame sur lame".** Le dépôt est effectué à 0,5 cm du bord de la première lame. Une deuxième lame est déposée sur le dépôt, perpendiculairement à la première, et délicatement glissée dans le sens de la longueur de celle-ci, le

## POINTS FORTS

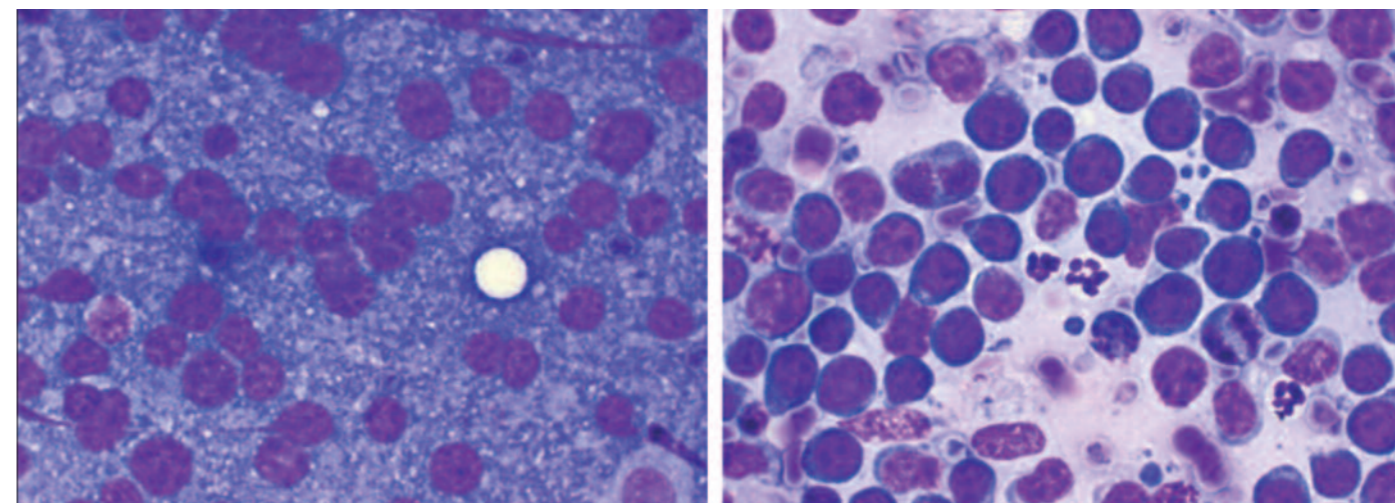
Les éléments clés d'un étalement de qualité sont les suivants :

- vider l'aiguille, étaler et sécher (très) rapidement après être sorti de l'animal ;
- ne pas envoyer de spray sur la lame ;
- faire en sorte que l'étalement n'empiète pas sur les cinq derniers millimètres de la lame ;
- un sèche-cheveux en position "froid" facilite un séchage rapide des lames ;
- la zone de pénétration de l'aiguille doit être exempte de gel échographique ;
- prélèvements cytologiques et histologiques doivent voyager dans des contenants séparés (vapeurs de formol) ;
- changer régulièrement les bains de colorant ;
- toujours accompagner les liquides par des étalements directs réalisés par ses soins.

tout sans exercer de pression. Ce procédé est à privilégier pour les prélèvements de consistance tissulaire.

Quelle que soit la technique retenue, il est essentiel d'étaler, sinon il ne sera pas possible de distinguer les détails cytomorphologiques des cellules, superposées les unes aux autres. Par ailleurs, un petit dépôt est à privilégier : l'étalement sera plus facile et de meilleure qualité.

Enfin, une fois étalé, le prélèvement doit être séché le plus rapidement possible, car les cellules ont tendance à se contracter, avec, une fois de plus, des détails intracellulaires non discernables. À cette



La rapidité d'exécution lors du prélèvement est essentielle pour obtenir des cellules intactes. Ponctions à l'aiguille fine d'un nœud lymphatique. Objectif x 50 à l'immersion. À gauche, apparaissent des cellules endommagées lors de l'étalement trop tardif. Le prélèvement est non diagnostique. À droite, une ponction du même nœud lymphatique étalée rapidement : le diagnostic de lymphome de haut grade peut être posé.

fin, un sèche-cheveux peut être un allié utile et peu coûteux. Cette étape de fixation à l'air est indispensable et suffisante en cytologie. Une fois fixé à l'air, le prélèvement est stable pendant des jours, voire des semaines.

## Éviter les artéfacts

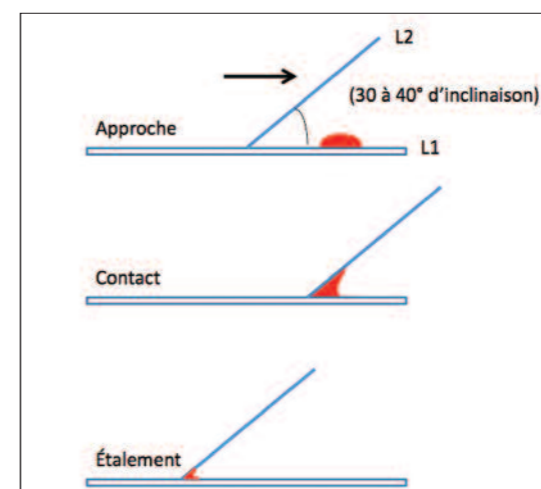
Un artéfact très courant est la présence de gel d'échographie sur les lames obtenues à partir de ponctions échoguidées. Le gel apparaît comme un matériel granuleux rose magenta qui se superpose aux cellules et empêche de discerner leurs détails. Il est fortement recommandé de savonner et de rincer soigneusement la peau de l'animal avant la ponction (du papier absorbant convient parfaitement). Le gel sera alors remplacé par de l'eau ou de l'Hibitane® dilué avant de réaliser le prélèvement.

Les vapeurs de formaldéhyde ont également un effet délétère sur les préparations cytologiques et rendent les lames totalement ininterprétables. Attention donc à toujours bien séparer les prélèvements anatomopathologiques et cytologiques, notamment lors d'envoi.

Enfin, les bains de colorant sont la source de deux artéfacts potentiels s'ils ne sont pas régulièrement changés et filtrés. D'une part, il est possible de confondre les grains de colorants avec des microorganismes, d'autre part, des microorganismes, des bactéries notamment, peuvent se multiplier dans les bains et entraîner un diagnostic erroné d'infection en se superposant aux lames.

## Le cas particulier des liquides

Les liquides sont généralement assez accessibles et chargés d'informations cyto-

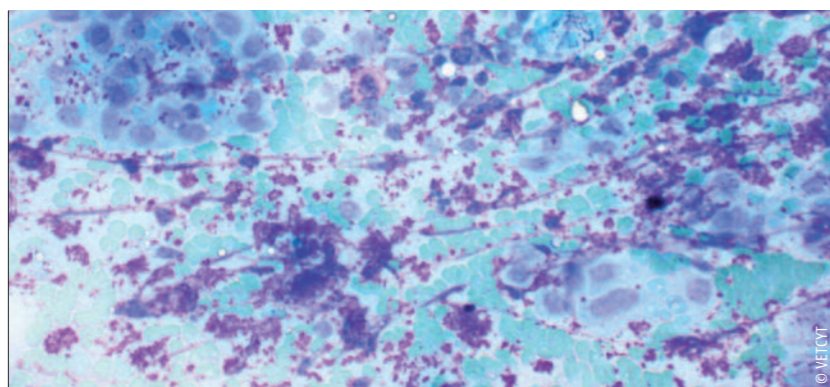


La technique d'étalement "frottis" se réalise à l'aide de deux lames. Une goutte de matériel est déposée sur la première (L1). La lame qui sert à étaler (L2) se place devant. Il convient de reculer légèrement pour toucher la goutte. Le sang migre par capillarité le long de L2. L2 est alors avancée. Le matériel doit être épuisé environ 0,5 cm avant le bout de la lame. C'est pourquoi le volume de la goutte doit être suffisamment petit. Il est possible de modifier l'épaisseur et la longueur du frottis en variant l'angle d'inclinaison de L2. Plus l'angle est ouvert, proche de la perpendiculaire, et plus l'étalement sera court et épais. À l'inverse, plus l'angle est fermé, proche de l'horizontale, plus le frottis sera long et fin.

logiques utiles. Pour autant, leur interprétation peut s'avérer problématique en raison de leur délai de conservation. Contrairement aux prélèvements cytologiques d'origine tissulaire, les cellules au sein des liquides ne sont pas fixées, elles se conservent donc mal au cours du temps. De plus, certains liquides (urine, liquide céphalorachidien, lavage trachéal ou broncho-alvéolaire) sont particulièrement pauvres en protéines, ce

qui réduit encore leur délai de conservation (4 heures maximum contre 12 à 24 heures pour un liquide cavitaire ou articulaire). Afin d'améliorer celle-ci, il est possible d'ajouter un peu de sérum ou de plasma issu du sang du même animal (volume pour volume). Dans ce cas, le volume ajouté est précisé pour que le facteur de dilution soit pris en considération. Par ailleurs, il convient de réserver une portion de liquide sans ajout si des analyses biochimiques, bactériennes ou moléculaires sont prévues. Malgré tout, lorsqu'un liquide doit être envoyé pour une analyse cytologique, il est vivement recommandé d'effectuer deux ou trois étalements directs et, si possible pour les liquides peu cellulaires (d'aspect limpide le plus souvent), après centrifugation et re-suspension du culot d'une partie du liquide. L'étalement est réalisé en suivant la technique du frottis. Le matériel doit être épuisé avant d'atteindre les derniers 0,5 cm de la lame, ce qui implique de déposer une goutte de petite dimension. S'il ne l'est pas totalement, une "lame-stop" peut être effectuée : relever la lame qui sert à faire l'étalement avant d'arriver en bout de lame, même si le liquide n'est pas épuisé. À nouveau, le séchage est une étape essentielle, sans quoi les détails cellulaires ne seront pas observables, y compris la présence d'agents infectieux intracellulaires. Si des grains, des mucosités ou autre inclusion sont présents dans le liquide, il est recommandé d'en étaler une petite quantité sur une lame à part en identifiant celle-ci. ●

<sup>1</sup> « Cytologie : les clés pour un prélèvement réussi », *La Semaine Vétérinaire* n° 1694 du 4/11/2016, pages 32 et 33.



La présence de gel d'échographie sur le prélèvement est un artéfact fréquemment observé.