s. siebert/d. besançon

**atlas
de
colpocytologie**

**atlas
of
colpocytology**

**atlas
de
colpocytologie**

**atlas
of
colpocytology**

AVANT-PROPOS	5
CYTOLOGIE EXFOLIATIVE DE L'UTERUS	
<i>EXFOLIATIVE CYTOLOGIE OF THE UTERUS</i>	
Rappel histologique <i>Histology</i>	13
Cytologie de l'exocol <i>Cytology of the exocervix</i>	23
Cytologie de l'endocol <i>Cytology of the endocervix</i>	35
Cellules conjonctives et sanguines <i>Blood and connective tissue cells</i>	53
Quelques aspects cytologiques particuliers <i>A few peculiar cytological features</i>	63
CYTOLOGIE EXFOLIATIVE APPLIQUEE AU DEPISTAGE DU CANCER DE L'UTERUS	
<i>EXFOLIATIVE CYTOLOGY APPLIED TO DIAGNOSIS OF THE CANCER OF THE UTERUS</i>	
Introduction <i>Introduction</i>	95
Cellules dyskaryotiques <i>Dyskaryosis</i>	97
Cellules malpighiennes malignes <i>Malignant squamous cells</i>	109
Cellules métastatiques <i>Metastatic cells</i>	149
Cellules malignes de l'endomètre <i>Malignant cells from the endometrium</i>	151
Cancer ou grossesse <i>Cancer or pregnancy</i>	157
Cytologie post radiothérapique <i>Cytology after radiation therapy</i>	165
Récidive après irradiation <i>Post-irradiation relapse</i>	171
Résultats personnels <i>Personal results</i>	177

**atlas
de
colpocytologie**

**atlas
of
colpocytology**

s. siebert/d. besançon

Chef de Travaux d'Histologie
C.H.U. Grenoble

Laborantine au Centre
Hospitalier de Grenoble

**atlas
de
colpocytologie**

**atlas
of
colpocytology**

avant-propos par les docteurs j. et c. mouriquand

simep éditions

47-49 rue du 4 Août, 69 Villeurbanne

AVANT-PROPOS	5
CYTOLOGIE EXFOLIATIVE DE L'UTERUS	
<i>EXFOLIATIVE CYTOLOGIE OF THE UTERUS</i>	
Rappel histologique <i>Histology</i>	13
Cytologie de l'exocol <i>Cytology of the exocervix</i>	23
Cytologie de l'endocol <i>Cytology of the endocervix</i>	35
Cellules conjonctives et sanguines <i>Blood and connective tissue cells</i>	53
Quelques aspects cytologiques particuliers <i>A few peculiar cytological features</i>	63
CYTOLOGIE EXFOLIATIVE APPLIQUEE AU DEPISTAGE DU CANCER DE L'UTERUS	
<i>EXFOLIATIVE CYTOLOGY APPLIED TO DIAGNOSIS OF THE CANCER OF THE UTERUS</i>	
Introduction <i>Introduction</i>	95
Cellules dyskaryotiques <i>Dyskaryosis</i>	97
Cellules malpighiennes malignes <i>Malignant squamous cells</i>	109
Cellules métastatiques <i>Metastatic cells</i>	149
Cellules malignes de l'endomètre <i>Malignant cells from the endometrium</i>	151
Cancer ou grossesse <i>Cancer or pregnancy</i>	157
Cytologie post radiothérapique <i>Cytology after radiation therapy</i>	165
Récidive après irradiation <i>Post-irradiation relapse</i>	171
Résultats personnels <i>Personal results</i>	177

AVANT-PROPOS

L'Atlas de colpocytologie présenté ici n'a pas l'ambition d'apporter des informations nouvelles au cytologiste confirmé. On connaît déjà les excellents ouvrages qu'il serait bien présomptueux de vouloir imiter. Il se propose plutôt d'être le guide des premiers pas du débutant et l'ébauche d'un Enseignement de la Cytologie Exfoliative à qui manque encore son cadre propre. La nécessité de cet enseignement est d'autant moins discutable que des dispositions légales déjà anciennes (1) font obligation aux départements d'organiser le dépistage systématique du cancer.

Certes, le cytologiste averti peut avoir la crainte légitime de voir ces débutants croire que ce livre élémentaire peut suffire à leur formation et, au moment de donner à ce manuel une certaine audience, une réelle inquiétude perturbe l'esprit de vieux routiers. Ils ont connu des cytologistes sans angoisse, ils ont connu des cytologistes pressés qui n'arrivent pas à rester plus de quelques instants devant leur microscope. Ils ont connu des cytologistes amateurs, sans la moindre formation, qui avaient le front de donner des réponses ! Quel drame ce serait alors qu'on puisse croire qu'un atlas remplace l'expérience !

Cependant, la sagesse, la prudence et la conscience professionnelle sont le plus souvent rencontrées et le but serait atteint si l'utilisation de ce volume pouvait faciliter l'interprétation des éléments cellulaires observés au cours du long entraînement nécessaire à la bonne connaissance de la cytologie, particulièrement celle des nombreux pièges que peut rencontrer le microscopiste.

Notre élève, Madame le Docteur Siebert a été à la base du développement de la cytologie Gynécologique au Centre Hospitalier et Universitaire de Grenoble. Chef des Travaux Pratiques d'Histologie, son activité hospitalière est une illustration éloquente des services que peut rendre un Laboratoire de Sciences Fondamentales ouvert aux problèmes cliniques.

Danièle Besançon, laborantine au Centre Hospitalier, n'a cessé, depuis de nombreuses années, d'assurer, avec dévouement et intelligence, la responsabilité des problèmes techniques du Laboratoire. On lui doit les microphotographies présentées. Son souci constant a été d'apporter une iconographie valable.

Les auteurs ont d'ailleurs eu raison de penser que la multiplication des images est beaucoup plus utile que les commentaires, quelque pertinents qu'ils puissent être, aussi peut-on savoir gré aux Editions SIMEP et à leur dynamique Directeur Scientifique, le Docteur Duportet, d'avoir accepté un grand nombre de figures et d'avoir porté tous leurs soins à leur reproduction.

En terminant, nous aimerions exprimer notre satisfaction de voir se concrétiser d'une façon que nous croyons très utile, l'activité d'un laboratoire animé par des cytologistes si convaincus et espérer que ce premier atlas inaugure une série qui permettra de présenter les autres applications de la cytologie à la Clinique Humaine.

J. et C.MOURIQUAND
Université Scientifique et Médicale de Grenoble
Laboratoire d'Histologie et d'Embryologie
Domaine de la Merci
38 - LA TRONCHE.

(1) loi n° 63-1241 du 19 décembre 1963, décret n° 65-13 du 6 janvier 1965.

1 cytologie exfoliative de l'uterus **exfoliative cytology of the uterus**

La cytologie exfoliative contribue très efficacement depuis de longues années au diagnostic précoce des cancers gynécologiques, du cancer du col utérin en particulier.

Papanicolaou signalait déjà en 1928 la présence de cellules atypiques sur certains frottis vaginaux. Sa découverte passa inaperçue. Un peu plus tard, ayant mis au point une technique de coloration des cellules épithéliales, encore utilisée de nos jours et qui porte son nom, il publie en 1943 un premier rapport sur le "diagnostic du Cancer utérin par les frottis vaginaux" : plus de 3 000 frottis, une précision de 98,4 % pour le diagnostic du cancer du col et de 90,7 % pour celui du corps utérin !

Il serait trop long et ce n'est pas le but de cet ouvrage d'énumérer et de commenter les très nombreux travaux qui ont succédé à ceux de Papanicolaou. La méthode qu'il avait préconisée s'est avérée d'un très grand intérêt et le frottis vaginal est actuellement le complément indispensable de tout examen gynécologique.

Quelles sont ses possibilités et ses limites ?

Il permet de juger de l'état du vagin et de l'utérus (les ovaires et les trompes étant pratiquement inaccessibles), mais les résultats les plus spectaculaires sont obtenus au niveau du col et plus précisément de l'exocol, lieu de prédilection du cancer gynécologique de la femme jeune. A son niveau, le cytologiste peut prélever directement et sur une large surface un matériau cellulaire riche qui donne des résultats très satisfaisants (voir tableau I). L'endomètre est plus difficile à atteindre ; l'épithélium cylindrique qui le borde desquame moins que l'épithélium malpighien. Le prélèvement y est plus délicat à réaliser et les cellules que l'on recueille sont très souvent altérées. Pour cette raison, cet atlas sera presque exclusivement consacré à l'étude du col utérin.

Exfoliative cytology has been for many years a major contribution to the early diagnosis of cancer in gynecology, particularly cancer of the cervix. As early as 1928 Papanicolaou mentioned atypical cells on some vaginal smears. His discovery passed unnoticed. A little later, having elaborated a staining technique for demonstration of epithelial cells still used nowadays and named after him, Papanicolaou published in 1943 a first paper concerned with "Diagnosis of uterine cancer by vaginal smears" a survey of over 3 000 smears, an accuracy reaching 98,4 per cent in cancer of the cervix and 90,7 per cent in cancer of the corpus uteri !

It would be too long and out of the scope of this book to mention and comment upon the numerous papers following those of Papanicolaou. The method he advocated has proved to be of major interest and vaginal cytology is the obligatory complement to a gynecological examination.

What are its possibilities and its limits ?

Cytology allows to evaluate the vaginal and uterine status (ovaries and Fallopian tubes being practically out of reach) but the most stimulating results are given by cervical cytology, particularly cytology of the exocervix, the favoured area of gynecological cancer in young women. Here the cytologist can collect directly and on a large surface a cellular material that yields very satisfactory results (see table I). The endometrium is more difficult to investigate : its columnar epithelium does not desquamate as much as the squamous epithelium of the cervix. Sampling, as will be seen, is more elaborate and the cells often poorly preserved. For these reasons, this atlas will be nearly only devoted to cytology of the cervix.

Technique de prélèvement

Le prélèvement consiste à recueillir et à étaler sur lames des cellules desquamées. Un épithélium normal desquame spontanément du fait du vieillissement des cellules ; un épithélium pathologique desquame encore davantage. Et de plus il est aisé, par des gestes simples d'exagérer cette desquamation.

– au niveau du vagin, ou plus précisément dans les culs de sac latéraux et postérieur, on recueille à l'aide de la spatule d'Ayre les sécrétions qui s'y trouvent et qui contiennent des cellules provenant de l'épithélium vaginal et de l'épithélium de l'exocol.

– le grattage cervicalse fait également à la spatule d'Ayre qui décrit un mouvement circulaire au niveau du col et recueille des cellules de l'exocol et de l'endocol (du moins chez la multipare). On trouve très rarement, sauf en période menstruelle, des cellules endométriales ; leur présence est en tous cas tout à fait inhabituelle sur un frottis vaginal ou cervical de femme ménopausée.

– l'aspiration endocervicale ou endométriale est moins couramment utilisée. Elle se pratique à l'aide d'une canule d'aspiration et elle ne peut en aucun cas être utilisée comme un moyen de dépistage systématique.

– les sécrétions ainsi obtenues sont étalées sur 3 à 6 lames pour chaque malade et immédiatement fixées dans un mélange d'alcool méthylique-acétone à parties égales où elles resteront immergées jusqu'à leur coloration par la méthode de Papanicolaou.

De la qualité du prélèvement dépend en grande partie la valeur de la réponse. Certaines précautions sont indispensables : la malade doit être en dehors de la phase menstruelle, ne pas avoir pris d'injection dans les 24 heures précédant l'examen, on évitera également de pratiquer avant le frottis un toucher vaginal qui pourrait altérer les cellules.

Quelle que soit la région examinée, il existe des causes d'erreurs qui seront illustrées par des photos sur lesquelles bien des discussions pourraient être ouvertes ! Dans tous les cas la collaboration entre le clinicien et le cytologiste est indispensable.

Quelle conclusion peut-on tirer de la lecture d'un frottis correctement effectué ?

– s'il est négatif et confirme la clinique il est inutile de le renouveler avant un délai d'un an.

– si l'histologie est positive et le frottis négatif, le "faux-négatif" peut être dû à des causes diverses qui tiennent le plus souvent au prélèvement. Au niveau du col cette éventualité est extrêmement rare (voir résultats).

– la positivité d'un frottis du col, même en l'absence de confirmation histologique, est un argument suffisant pour exercer une surveillance très étroite de la malade.

Sampling technique

The sampling proposes to obtain desquamated cells and smear them on slides. A normal epithelium spontaneously desquamates due to the senescence of cells ; a diseased epithelium desquamates much more. Moreover it is easy to exaggerate desquamation with a simple procedure.

– in the vaginal area and more precisely in the lateral and posterior cul de sacs one obtains with the help of the Ayre's spatule the secretions located there containing cells from the vaginal epithelium and from the exocervix.

– cervical scraping is also performed with a circular movement of the Ayre's spatule applied to the cervix and collects cells from the exocervix and the endocervix (at least in the multiparous), but very seldomly cells from the endometrium except during menstruation ; in any case they are quite unusual in vaginal or cervical smears after menopause.

– endocervical or endometrial aspiration is not performed as frequently. It necessitates an aspiration canula and can not be used in mass screening.

– the secretions thus obtained are smeared on 3 to 6 slides for each patient and immediatly fixed in a mixture of equal parts of methyl alcool and acetone until staining following the Papanicolaou's method.

The value of the method is greatly dependent on the quality of the sampling. Some precautions are absolutely necessary : the patient must be seen outside the menstruation periode ; no vaginal irrigation must have taken place within the 24 hours previous to the sampling ; vaginal exploration must be avoided before the sampling as it might alterate the cells.

Whatever the investigated area may be, possible causes of misinterpretation exist and will be illustred by photomicrographs. They could give rise to many discussions ! At any case collaboration between the clinician and the cytologist is essential.

What conclusions may be drawn from a correctly peformed smear ?

– when cytology is negative and confirms the clinical examination, it is useless to repeat cytology before a one-year lapse of time.

– when histology is positive and cytology negative, this "false-negative" might be due to different causes generally related to the sampling. As regards the cervix this possibility is quite unfrequent (see results).

– positivity of the cytological investigation, even when histology is non-confirmatory, is a sufficiently important warning to command a very close follow-up of the patient.

TECHNIQUE DE PAPANICOLAOU

- 1 – Rehydrater les lames fixées en les agitant doucement pendant environ 2 minutes dans un bain d'alcool éthylique à 95° puis dans un bain d'alcool éthylique à 70°
 - 2 – Mordantage à l'alun de potassium (une pincée dans 200 ml d'eau) agiter pendant 2 minutes environ.
 - 3 – Rincer à l'eau ordinaire.
 - 4 – Coloration des noyaux à l'hématoxyline de Harris : 1 à 2 minutes suivant l'âge du colorant. Les noyaux sont colorés en bleu.
 - 5 – Rincer à l'eau courante.
 - 6 – Différenciation par l'acide chlorhydrique à 5 %. Tremper 3 ou 4 fois.
 - 7 – Lavage à l'eau courante 10 minutes.
 - 8 – Deshydratation par passage dans 3 bains successifs d'alcool éthylique à 95°.
 - 9 – Coloration des cytoplasmes par l'orange G-6, 2 minutes environ.
 - 10 – Différenciation par passage dans 2 bains successifs d'alcool éthylique à 95°.
 - 11 – Coloration définitive des cytoplasmes par l'EA 50 – colorant polychrome : (vert lumière – brun bismarck – éosine).
 - 12 – Deshydratation par passage dans 4 bains successifs d'alcool éthylique à 95° puis dans 3 bains successifs d'alcool éthylique absolu.
 - 13 – Passage dans 2 bains successifs de toluène.
 - 14 – Montage au baume du Canada ou aux résines synthétiques.
- Certains appareils permettent d'automatiser la coloration de Papanicolaou. Notre expérience à ce propos est très satisfaisante.

STAINING TECHNIQUE (PAPANICOLAOU)

- 1 – Rehydrate the slides after fixation for approximately 2 minutes stirring them gently in 95° ethanol, then in a bath of 70° ethanol.
 - 2 – Pass through a bath of Potassium alum (A knife-tip for 200 ml of water), agitate for approximately 2 minutes.
 - 3 – Rinse in tap water.
 - 4 – Stain the nuclei with Harri's hematoxylin during 1 to 2 minutes depending on the freshness of the stain. Nuclei stain blue.
 - 5 – Rinse in running water.
 - 6 – Differentiate with 5 % hydrochloric acid. Dip 3 or 4 times in the acid.
 - 7 – Wash in running water for 10 minutes.
 - 8 – Dehydrate in passing through 3 successive baths of 95° ethanol.
 - 9 – Stain cytoplasm with Orange G 6 approximately 2 minutes.
 - 10 – Differentiate by passing through 2 baths of 95° ethanol.
 - 11 – Final stain of cytoplasm with EA 50 A polychromatic stain (light green, Bismark brown and eosin).
 - 12 – Dehydrate in passing through 4 baths of 95° ethanol and 3 baths of absolute ethanol.
 - 13 – Pass through 2 baths of toluol.
 - 14 – Mount in the Canadian balsam or synthetic resin.
- Automatic staining equipment is available. It has proved satisfactory in our hands.

rappel histologique

histology