

## SAVOIR-FAIRE

## OPHTALMOLOGIE

## Les prélèvements cytologiques de la conjonctive et de la cornée

O. JONGH,

DESV-Oph

Unité d'ophtalmologie - Vetagro-Sup, F-69280 MARCY-L'ÉTOILE

L'examen cytologique est l'étude morphologique d'amas cellulaires ou de cellules isolées, sortis de leur contexte tissulaire. Il s'agit d'un examen facile à réaliser, peu coûteux et fournissant des résultats rapides, « au chevet » du malade. Cet examen est particulièrement bien adapté, là où les biopsies sont difficiles, sinon impossibles à réaliser (orbite, milieux oculaires). La cytologie de surface (paupière, conjonctive, cornée) reste la plus simple et la plus utilisée. Les prélèvements cytologiques des paupières sont identiques à ceux réalisés au cours d'un examen dermatologique classique.

**Le frottis conjonctival** reste l'examen cytologique le plus communément réalisé au niveau de l'œil. Le geste technique est simple. L'anesthésie locale de la conjonctive n'est utilisée qu'exceptionnellement, en raison de la faible innervation (trijumeau) de ce tissu. Un nettoyage modéré préalable permet d'éliminer les principaux débris tissulaires (mucus, sérosités, chassie) venant « polluer » le frottis et rendre l'interprétation plus délicate. Le raclage cellulaire (cytologie par exfoliation) s'effectue grâce à un certain nombre d'instruments suffisamment « vulnérants » tout en étant aussi peu traumatisant que possible. Des spatules métalliques (de dentiste, en platine de Kimura) sont manipulées en douceur contre la conjonctive puis apposées contre la lame de microscope (mouvements rotatifs sur la lame formant des cercles de 1cm de diamètre). Une simple lame de bistouri émoussée offre, selon notre expérience, une qualité de prélèvement identique. Une cyto Brosse, dont l'extrémité garnie de poils est délicatement déplacée autour de son axe (3 à 4 tours toujours dans le même sens) afin de détacher les cellules puis à nouveau tournée en regard de la lame de verre. De grands amas de cellules jointives sont rarement obtenus avec cette dernière technique. Le coton tige, « rassurant » mais peu « abrasif » est à l'origine de frottis de qualité médiocre (paucicellularité). La technique par « empreinte » sur filtre millipore nécessite une méthodologie plus sophistiquée (fixation au formol, transparence, ...) mais une simple apposition de quelques secondes de sa face rugueuse au niveau de cette muqueuse puis le transfert sur une lame à la manière d'un « autocollant » autorise l'obtention de véritables placards de cellules intactes. Lors de la présence d'une néoformation solide (néoplasie, lésion granulomateuse), la cytologie par ponction à l'aiguille assure une meilleure représentativité de l'échantillon (aiguille orange ou bleue et seringue de 5 ml). Quelle que soit la méthode, il faut éviter tout saignement conjonctival rendant l'interprétation ambiguë. L'étalement doit toujours se réaliser avec une pression minimale afin d'éviter l'éclatement des cellules, alors peu identifiables (« noyaux nus »). Il est recommandé de réaliser 2 à 3 lames par œil et de bien les identifier (lames rodées, identifiées au crayon à papier, en précisant l'œil concerné ainsi que le nom du propriétaire). L'observation de la lame non colorée permet de constater une cellularité satisfaisante. Le site de raclage s'effectue préférentiellement sur les lésions et, si possible, dans un site habituel du cytologiste. En effet, l'aspect des cellules épithéliales et la densité des mucocytes varient en fonction de la topographie conjonctivale (le cul-de-sac conjonctival inférieur est, par exemple, très riche en cellules caliciformes). La lame est ensuite séchée à l'air, ce qui permet de la conserver quelques jours (il faut évi-

ter les fixateurs chimiques source d'artéfacts). La coloration est celle dont a l'habitude le clinicien ou le cytologiste (les colorations rapides sont suffisantes pour la cytologie inflammatoire alors que le May Grünwald Giemsa « classique » est préférable en cytologie cancéreuse). Certaines colorations sont utilisées en fonction de la recherche du clinicien (Harris Schorr pour les corps de Lentz, Acide Périodique Schiff (PAS) pour les mucosubstances, Papanicolaou en cytologie cancéreuse, ...). Ces dernières doivent être propres et changées régulièrement (nombreux artéfacts avec l'ancienneté) et il est conseillé d'utiliser des colorants différents pour la dermatologie (multiples débris et agents microbiens) et pour la cytologie conventionnelle. Il faut éviter le contact avec les vapeurs de formol qui empêchent les colorants de se fixer. Les lames peuvent, enfin, être serties afin d'en assurer une meilleure conservation.

#### Les indications des prélèvements cytologiques sont schématiquement au nombre de quatre :

- **le diagnostic différentiel** des conjonctivites aiguës car à l'état chronique, les réactions inflammatoires perdent de leur spécificité, les inclusions se raréfient et les surinfections masquent les populations inflammatoires initiales. Le type et l'importance de ces premières cellules inflammatoires ainsi que l'aspect des cellules épithéliales « indigènes » (notamment lors d'insuffisance lacrymale quantitative) permet une approche étiologique de ces conjonctivites. Il est ainsi possible de distinguer des conjonctivites à infiltrats riches en polynucléaires neutrophiles (conjonctivites bactériennes, insuffisances lacrymales, surinfections précoces des infections virales), des conjonctivites à forte proportion de cellules lymphoplasmocytaires (phases initiales des maladies virales, chlamydiales, leishmaniose, affections dysimmunitaires, ...) et des conjonctivites à infiltrats riches en polynucléaires éosinophiles ou en mastocytes (conjonctivites allergiques, conjonctivites éosinophiliques félines).
- **le diagnostic de la conjonctivite éosinophilique féline** qui est une modalité réactionnelle de la conjonctive propre au chat.
- **la recherche d'inclusions intracellulaires** (corps de Lentz, corps réticulés des chlamydiales, leishmanies, mycoplasmes) représente un des principaux impératifs du cytologiste. Celles-ci constituent de précieux indices du passage microbien et sont généralement pathognomoniques d'une affection. L'avènement de techniques plus sensibles de détection de microorganismes (polymerase chain reaction) a actuellement rendu le frottis conjonctival plus secondaire dans cette indication. Le cytologiste débutant se méfiera des « fausses inclusions pathologiques » (pigments mélaniques, hernie chromatinienne, superposition cellulaire, processus de phagocytose physiologique, ...).
- **la détermination des tumeurs de la conjonctive** nécessite une formation et une habitude de lecture réservées aux cytologistes rompus aux pièges de la cytologie cancéreuse. Des pseudotumeurs sont parfois rencontrées.

Lors de cytologie cornéenne, les prélèvements sont également obtenus par raclage délicat (cytobrosse, lame de bistouri émoussée ou sa partie non tranchante), par empreinte par filtre millipore et plus rarement par ponction (lésion proliférative). Une anesthésie locale est toujours nécessaire. Une sédation peut être utile (cornée fragilisée, affection douloureuse et patient agité). Les indications de la cytologie cornéenne sont la recherche d'agents microbiens comme certaines bactéries (bactéries Gram - sous forme de bâtonnet comme *Pseudomonas sp.* lors de kératomalacie, même si l'examen bactériologique reste incontournable), des champignons (éléments mycéliens des kératomycoses en gardant à l'esprit les possibles faux négatifs en raison du tropisme de l'agent fongique pour l'endothélium, comme c'est le cas, par exemple, pour *Aspergillus* ou le « piègeage » de ces agents par les nombreux débris nécrotiques), des cellules du système immunitaire (kératites dysimmunitaires) ou de cellules tumorales (rare). L'aspect macroscopique des lésions cornéennes observées au biomicroscope est souvent univoque et l'examen cytologique apparaît ainsi moins pertinent que pour certaines indications décrites précédemment. Notons, néanmoins, la forte prévalence des kératites éosinophiliques dans l'espèce féline où la simple apposition d'une lame de microscope permet la visualisation de nombreuses cellules inflammatoires (lymphocytes, polynucléaires éosinophiles ou leurs granulations,...) et conforte immédiatement la suspicion clinique. Lors d'ulcères suspectés être d'origine immunitaire chez le chien, les éosi-

nophiles sont surtout détectés lors de l'examen histopathologique. La technique par empreinte par filtre millipore présente également l'avantage de fournir une approximation de l'architecture cellulaire et d'objectiver certains signes de « souffrance » cornéenne (ovalisation nucléaire, vacuolisation cytoplasmique, kératinisation, ...). Des cellules à mucus peuvent être observées lors de conjonctivalisation chez le chat (« symblépharon »).

La cytologie reste un outil précieux pour le clinicien. La réalisation des prélèvements nécessite une méthodologie rigoureuse et la connaissance des indications de cet examen complémentaire. L'examen histopathologique est, en revanche, plus précis notamment en matière de néoplasie (origine tumorale, grading tumoral, marges de résection, emboles vasculaires,...). Les deux techniques peuvent néanmoins apparaître complémentaires.

---

#### **Déclaration de conflits d'intérêt**

- Aucun conflit d'intérêt à déclarer.