

Photo 1 : Cellules épithéliales cornéennes normales obtenues par impression chez un chat. MGG X 1000.

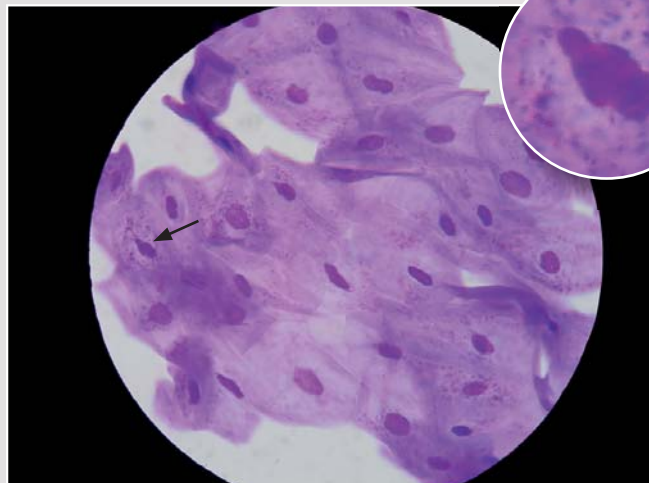


Photo 2 : Anomalies des cellules épithéliales cornéennes chez un chien atteint de kératite sèche chronique. On observe des cellules épithéliales avec un cytoplasme basophile, granuleux, des noyaux pycnotiques et une cellule avec une chromatine de type "snake like" (flèche). MGG X 1000.

Interprétation de la cytologie cornéenne : aspects normal et anormal

G. DE GEYER, DV, DESV en ophtalmologie, CES Opht Vet, CES Derm Vet, 35 avenue Patton 49000 Angers

OBJECTIFS PÉDAGOGIQUES

Savoir prélever les cellules cornéennes.

Savoir reconnaître, à la lecture d'un étalement cellulaire cornéen, les cellules épithéliales, leurs modifications, les cellules inflammatoires et les agents pathogènes.

La cytologie cornéenne est l'étude des cellules recueillies à la surface de la cornée. Elle peut donner la clé du diagnostic des kératites couramment rencontrées chez le Chien et le Chat.

La cytologie cornéenne permet, avant tout "en routine", de rechercher l'absence ou la présence de bactéries dans une lésion cornéenne (ENCADRÉ 1). Elle permet aussi de définir le type inflammatoire, notamment chez le Chat lors de suspicion de kératite éosinophilique.

Technique de prélèvement et préparation de la lame

Prélèvement

Après l'instillation d'un collyre anesthésique, le prélèvement se fait soit par exfoliation, soit par impression.

Encadré 1.

La cytologie cornéenne est l'étude des cellules recueillies à la surface de la cornée (épithélium ou stroma mis à nu lors d'un ulcère) par exfoliation ou empreinte, et colorées par coloration rapide.

Elle est particulièrement utile dans les ulcères avec infiltrat de la cornée.

Elle permet de détecter la présence ou l'absence de bactéries ou d'éléments mycosiques, de déterminer la présence de cellules inflammatoires (granulocytes neutrophiles, éosinophiles) et d'étudier les anomalies des cellules épithéliales dans les kératites épithéliales chroniques.

CRÉDITS DE FORMATION CONTINUE

La lecture de cet article ouvre droit à 0,05 CFC. La déclaration de lecture, individuelle et volontaire, est à effectuer auprès du CNVFCC (cf. sommaire).

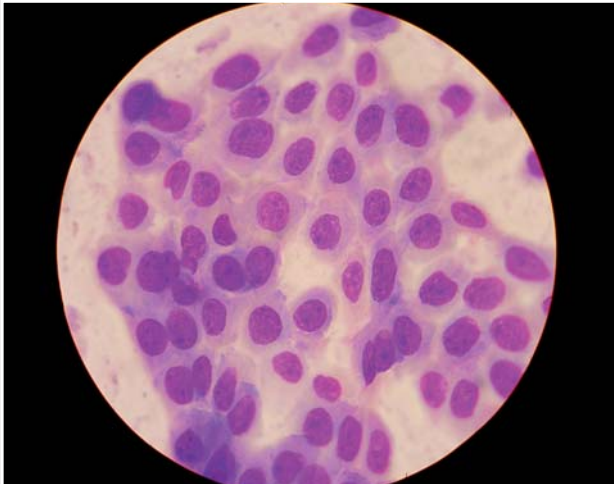


Photo 3 : Cellules cornéennes hyperplasiques rencontrées principalement autour des ulcères. MGG X 1000.

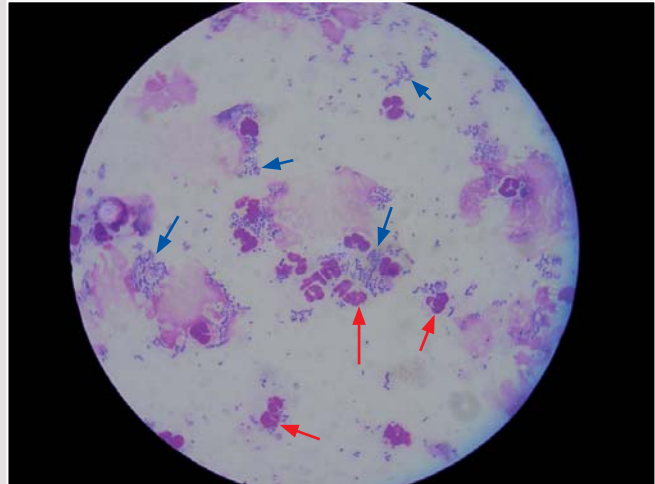


Photo 4 : Cytologie cornéenne, obtenue par exfoliation à la cytobrosse, montrant des granulocytes (flèches rouges) et des cocci extra- et intracellulaires (flèches bleues). MGG X 1000.

L'exfoliation s'effectue à l'aide d'une cytobrosse qui est utilisée par frottement sur la lésion cornéenne ou à l'aide de la partie non coupante d'une lame de bistouri stérile qui permet de gratter le stroma ulcéré lors de suspicion d'infection de la cornée.

L'empreinte s'effectue à l'aide d'un filtre cellulosique appliqué quelques secondes sans pression sur la cornée. La sensation d'un effet "post-it", lorsque le filtre est retiré, indique une bonne adhérence.

> Transfert du prélèvement sur lame

La cytobrosse est déroulée sur la lame, le produit de grattage est étalé de manière douce, le filtre est apposé 2 minutes pour le transfert des cellules.

Coloration

Une coloration rapide (RAL® ou Diff-Quik®) suffit, en routine, pour obtenir des informations. Mais les colorations de type Wright, Giemsa ou May-Grünwald-Giemsa sont les plus conseillées.

Population cellulaire cornéenne normale

La cornée des Carnivores domestiques est une structure constituée d'un épithélium stratifié, d'un stroma et d'un endothélium.

Dans les conditions normales, seules les cellules épithéliales superficielles sont

accessibles sous l'aspect de cellules polyédriques, jointives, claires et nucléées (rapport nucléo-cytoplasmique faible) (PHOTO 1).

Parfois, le mucus apparaît sous la forme de paquets granuleux translucides sur quelques cellules. Il n'y a ni cellule inflammatoire, ni bactérie [1,2].

Anomalies des cellules épithéliales

■ **Signes de souffrance épithéliale ou de métaplasie :** cellules non jointives, petites cellules, inclusions, pigments cytoplasmiques, cytoplasme basophile, aspect spumeux du cytoplasme, cellules binucléées, anisocytose, noyau pycnotique, ►►

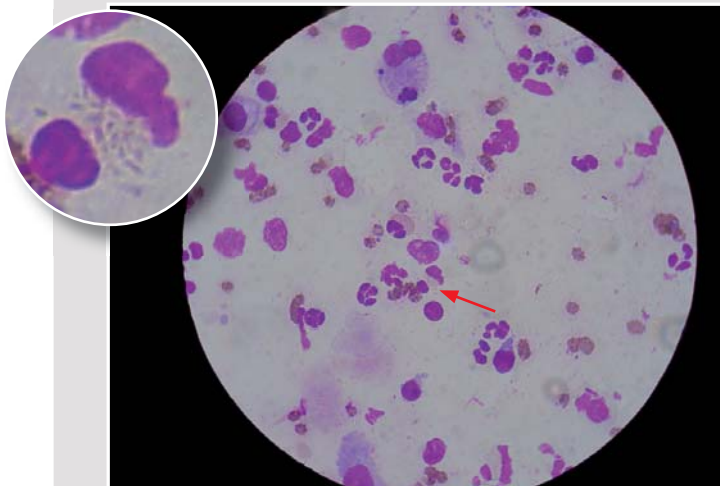


Photo 5 : Cytologie de kératite éosinophilique chez un chat montrant trois granulocytes éosinophiliques dont un en cours de dégranulation (au centre) (flèche). MGG X 1000.

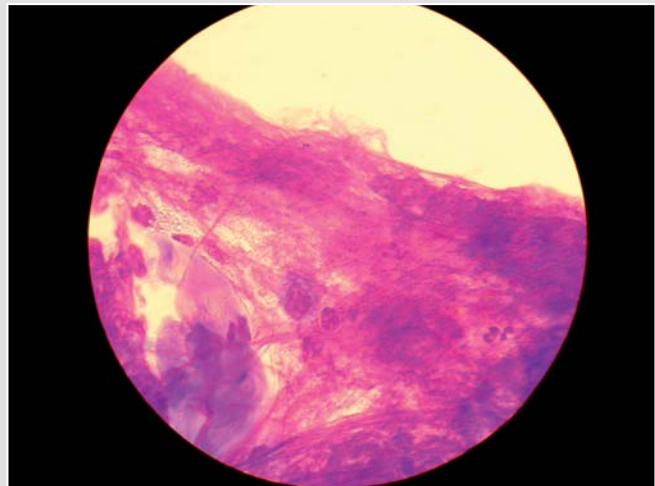


Photo 6 : Cytologie de kératite éosinophilique chez un chat montrant un tapis de granules orangés provenant d'éosinophiles dégranulés. MGG X 1000.

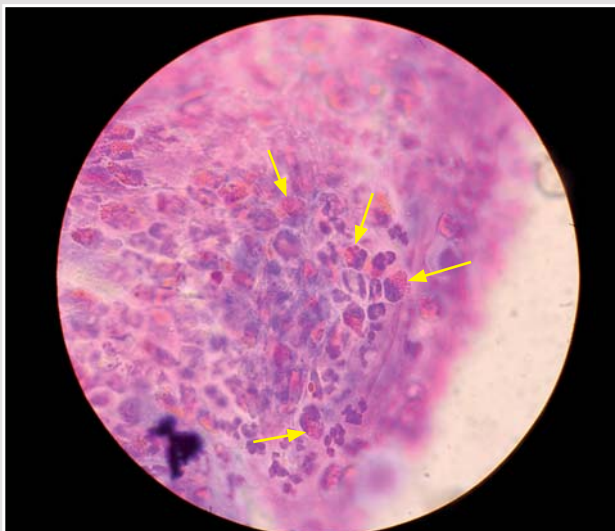


Photo 7 : Cytologie de kératite ulcéreuse avec éosinophiles chez un Bouledogue montrant de nombreux éosinophiles (flèches). MGG X 1000.

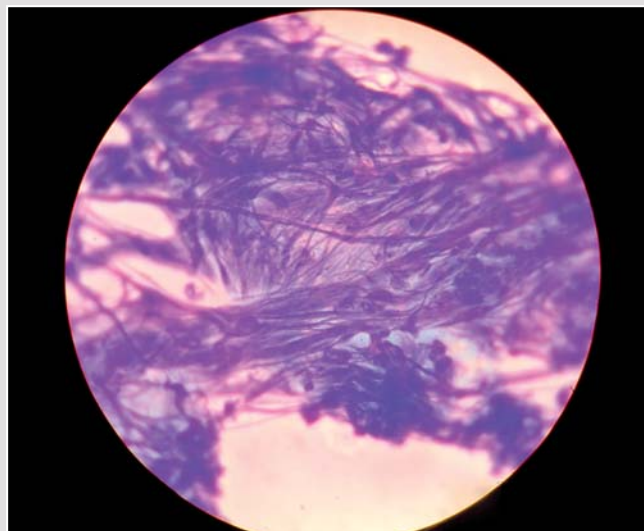


Photo 8 : Cytologie de kératite infectieuse obtenue par exfoliation de surface. On observe de la fibrine sans germe visible. MGG X 1000.

▶▶ chromatine de type "snake like", chromatine irrégulière, absence de noyau (PHOTO 2).

■ **Dépôts de surface** : dépôt granuleux de type muqueux généralisé à toutes les cellules.

■ **Granulations de surface et intercellulaire** : artefact de colorant, résidus de pommade ophtalmique.

■ **Signes d'hyperplasie épithéliale** : diminution de la taille des cellules et un rapport nucléo-cytoplasmique élevé

indiquant des cellules intermédiaires (PHOTO 3).

■ **Signes de conjonctivalisation chez le Chat** : cellules à fort rapport nucléoplasmique de type conjonctival hyperplasique et cellules à mucus.

■ **Signe de mélanisation** : pigments intracellulaires bruns (sécheresse oculaire du Chien, conjonctivalisation du Chat). Une mélanisation intense peut être le signe d'une iridocèle.

■ **Signe de tumeur (carcinome épider-**

moïde) : cellules avec cytoplasme basophile, à fort rapport nucléoplasmique avec anisocaryose, chromatique et nucléoles anormaux [1,2].

Les cellules inflammatoires

Les cellules inflammatoires sont principalement rencontrées dans les atteintes stromales, elles sont obtenues en surface du fait d'une migration dans le film lacrymal précornéen à partir des conjon-

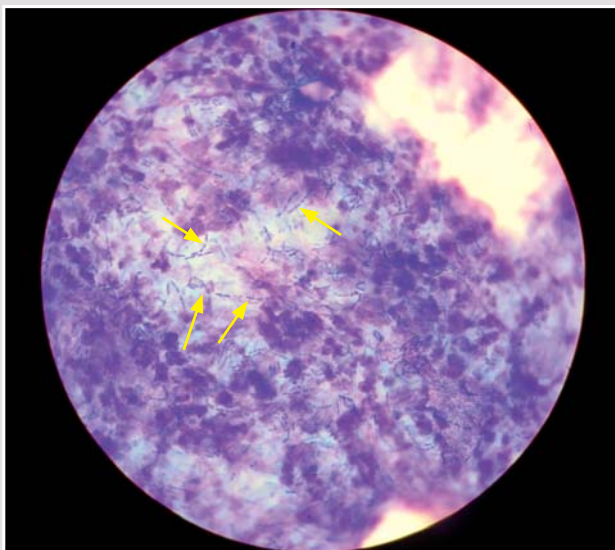


Photo 9 : Cytologie de kératite infectieuse (même cas que la Photo 8) obtenue par grattage de cornée. On observe une flore bactérienne abondante riche en bacilles (flèches). MGG X 1000.

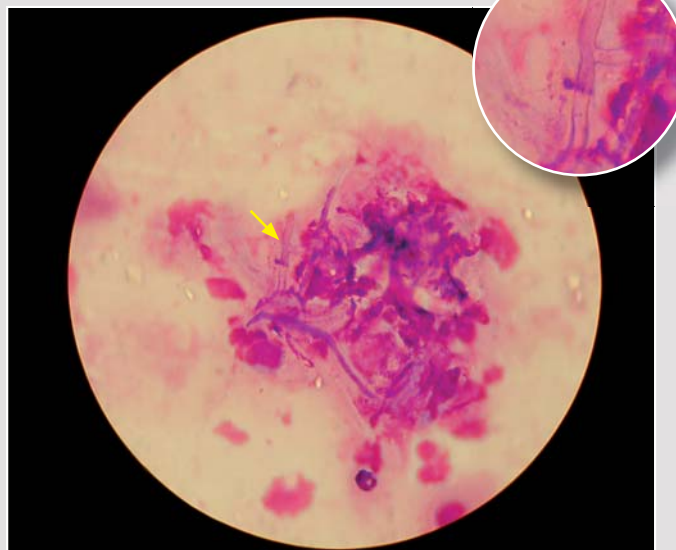


Photo 10 : Cytologie cornéenne d'un chien âgé atteint de kératite ulcéreuse, montrant des filaments mycéliens (flèche). La mise en culture a permis d'observer un *Aspergillus*. MGG X 1000.

tives, d'une exocytose épithéliale ou d'une perte épithéliale (ulcère) [1,2].

Les granulocytes neutrophiles (GN)

Ce sont les cellules inflammatoires les plus fréquentes, observées lors d'ulcère et des affections stromales, que celles-ci soient de nature infectieuse ou immunitaire (PHOTO 4).

La présence de GN au niveau des ulcères simples ou compliqués est due à un phénomène réactionnel normal. Leur présence n'oriente donc pas vers une affection particulière et notamment infectieuse. Ils sont plus significatifs lorsqu'ils sont dégénérés ou dans le cytoplasme de cellules épithéliales. Il est alors recommandé de rechercher des éléments infectieux soit par cytologie, soit par technique d'amplification génique (PCR), soit par mise en culture.

Les lymphocytes, les plasmocytes et les mastocytes

Ils sont rarement rencontrés en cytologie de la cornée même lors de la kératite superficielle chronique dite du Berger allemand car cette maladie est rarement ulcéreuse.

Les granulocytes éosinophiles

Ils sont rencontrés principalement chez le Chat lors de kératite ou de kératoconjunctivite éosinophilique. Les cellules se présentent sous la forme de cellules à noyau bilobé et à cytoplasme rempli de granules allongés orangés (PHOTO 5).

La dégranulation des éosinophiles rend parfois l'identification de ces derniers difficile ou conduit même à l'aspect d'un tapis de granule orangé extracellulaires, en l'absence de cellule inflammatoire (PHOTO 6).

Chez le Chien, on observe très rarement des éosinophiles cornéens dans un contexte de kératite chronique ulcéreuse avec granulation (PHOTO 7).

Les éléments infectieux

Les infections peuvent être virales, bactériennes ou mycosiques.

Bien que la littérature indique parfois la possibilité d'identifier une infection herpétique de la cornée chez le Chat (modi-

fication de la chromatine), il n'est pas possible en pratique de diagnostiquer une infection herpétique par la cytologie. En revanche, le prélèvement cytologique peut servir de substrat pour une recherche par PCR [1,2].

■ *La présence de bactéries* dans le prélèvement cornéen en présence d'un ulcère est significative. Ces bactéries peuvent être des cocci, des bacilles ou des mycoplasmes. Les bacilles sont particulièrement intéressants à rechercher du fait du risque de lyse cornéenne secondaire à l'action des *Pseudomonas*.

■ *L'absence de bactéries* dans un prélèvement de cornée avec ulcère atteignant le stroma moyen et, avec un infiltrat, ne permet pas d'écarter une cause bactérienne.

La cytologie de surface d'une kératite bactérienne indique parfois des GN et de la fibrine sans bactérie visible (PHOTO 8). Une recherche par grattage cornéen est alors indispensable (PHOTO 9).

L'examen cytologique doit alors être attentif car les bactéries sont parfois peu nombreuses ou cachées dans des débris nécrotiques ou sous la forme de bacilles très fins, notamment chez le Chat.

Les bactéries ne doivent pas être confondues avec des grains de pigments cytoplasmiques ou des grains artefactuels de colorants.

En cas d'infection stromale caractérisée et si une analyse peut être faite rapidement (ensemencement sur boîte de Pétri en clinique ou au laboratoire vétérinaire à proximité), une mise en culture en aérobie et en anaérobie est conseillée.

■ *Les champignons visibles en cytologie* se présentent sous la forme de spore, de levures rondes (*Cladosporium*) ou de mycéliums (*Aspergillus* ou *Fusarium*) (PHOTO 10).

Les champignons sont significatifs si les formes mises en évidence sont nombreuses et régulièrement réparties sur la lame.

Une recherche d'éléments infectieux est particulièrement intéressante dans les cas de kératite sèche, sous les corps étrangers végétaux enchâssés dans le stroma et en périphérie d'un séquestre cornéen lorsque celui-ci est accompagné d'infiltrat. □

MÉMO

- Une cytologie d'une lésion cornéenne ulcérée et infiltrée s'effectue à l'aide d'une cytobrosse ou par grattage avec la partie non coupante d'une lame de bistouri.
- Les cellules épithéliales normales sont polygonales, jointives, claires et nucléées.
- L'intérêt de la cytologie de cornée est principalement la recherche de bactéries.

>>> À LIRE...

1. Prasse KW et Winston SM. The eyes and associated structures. In : Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, eds, Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. Second ed. St Louis : Mosby ; 1999 : 68-82.
2. Taylor JA. The ear and eye. In : Baker R, Lumsden JH, eds, Color atlas of cytology of the dog and cat. St Louis : Mosby ; 2000 : 263-75.

Conflits d'intérêts : néant