



**HAL**  
open science

## **L'Hybridation in situ en fluorescence (FISH) dans les liquides de ponction en cytologie**

Solène Evrard, Julie Meilleroux, Dominique d'Aure, Céline Basset, Monique Courtade-Saïdi

### ► **To cite this version:**

Solène Evrard, Julie Meilleroux, Dominique d'Aure, Céline Basset, Monique Courtade-Saïdi. L'Hybridation in situ en fluorescence (FISH) dans les liquides de ponction en cytologie. 21ème journée du CHEC, Mar 2016, Toulouse, France. <hal-04940496>

**HAL Id: hal-04940496**

**<https://hal.science/hal-04940496v1>**

Submitted on 11 Feb 2025

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

# L'Hybridation in situ en fluorescence (FISH) dans les liquides de ponction en cytologie

Solène Evrard<sup>1</sup>, Julie Meilleroux<sup>2</sup>, Dominique D'Aure<sup>2</sup>, Céline Basset<sup>1</sup>, Monique Courtade-Saïdi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Histologie-Cytologie, Faculté de médecine de Rangueil, Toulouse; <sup>2</sup> Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Institut Universitaire du Cancer à Toulouse-Oncopole, Toulouse

## INTRODUCTION

- ✓ La cytologie des liquides de ponction (liquide d'ascite, LCR...) associée ou non à des techniques d'immunocytochimie permet le plus souvent le diagnostic de nombreuses pathologies tumorales.
- ✓ Toutefois, dans certains cas, l'analyse de réarrangement de certains gènes pourrait se révéler utile (diagnostic difficile, métastases avec même réarrangement que la tumeur primitive...)

## Intérêt de la FISH dans les liquides de ponction?

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

- ✓ **Liquides de ponction (liquide céphalo-rachidien ou liquide d'ascite):** réalisation de cytopspins (200 à 300 cellules dans 200 µl); centrifugation 8min à 700tours/min
- ✓ **Sonde FISH:** sondes ALK split (DAKO; réf Y5417), sondes c-MYC split (DAKO; réf Y5410)
- ✓ **Technique FISH:** Fixation dans une solution méthanol/ acide acétique (3v/1v) 30 min  
Pré-traitement : 2 min dans SSC 2X à 73° C; pepsine (DAKO) 10 min à 37° C; 2 lavages PBS 1X; post-fixation formaldéhyde 3,7% 5 min à TA; 2 lavages PBS 1X; déshydratation des lames (éthanol 70%, 80%, 90%, 100%)  
Hybridation: sur Hybridizer DAKO programme: 5 min à 82° C puis 18h à 37° C  
Lavages: 1 bain SSC 1X 5 min à 72° C, 1 bain SSC 1X 5min à TA  
Montage: déposer le DAPI (DAKO) et recouvrir d'une lamelle
- ✓ **Lecture** au microscope à fluorescence (Carl Zeiss, Göttingen, Germany) ou scanner de lame (Panoramic 250 FlashII, 3DHisTech, Sysmex, Villepinte, France) et visualisation par le logiciel Panoramic viewer (3DHisTech)

## RÉSULTATS

### Recherche d'un réarrangement du gène ALK par FISH

#### Liquide d'ascite

Homme né le 24/09/1960, non fumeur

Avril 2010: Apparition épanchement pleural  
Cytologie sur liquide pleural } Adénocarcinome mucosécrétant  
Biopsies pleurales G } d'origine bronchique primitive  
Absence de mutation des gènes EGFR et KRAS  
TTT: chimiothérapie (Taxol, Carboplatine, Avastin)

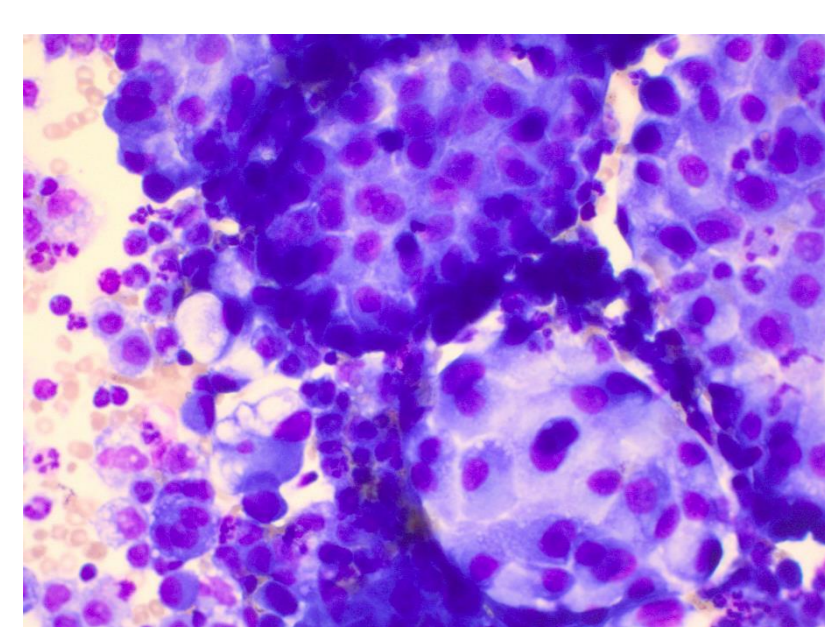
Janvier 2011: rémission, arrêt des traitements

Avril 2011: détection du réarrangement du gène ALK par IHC sur biopsies pleurales de 2010  
FISH non interprétable

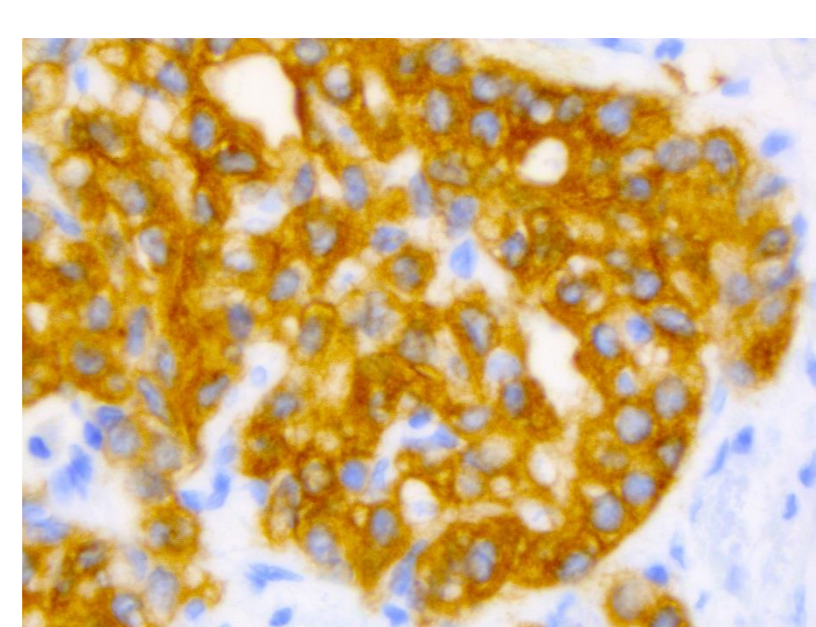
Septembre 2011: évolutivité des différentes cibles pleurales (scanner) → ttt par Crizotinib (ATU)

Février 2014: évolution au niveau péritonéal (scanner) sous crizotinib  
→ inclusion dans essai clinique ACCALIA G2L pour débiter un ttt par Alectinib  
mais nécessite le résultat du réarrangement du gène ALK par FISH

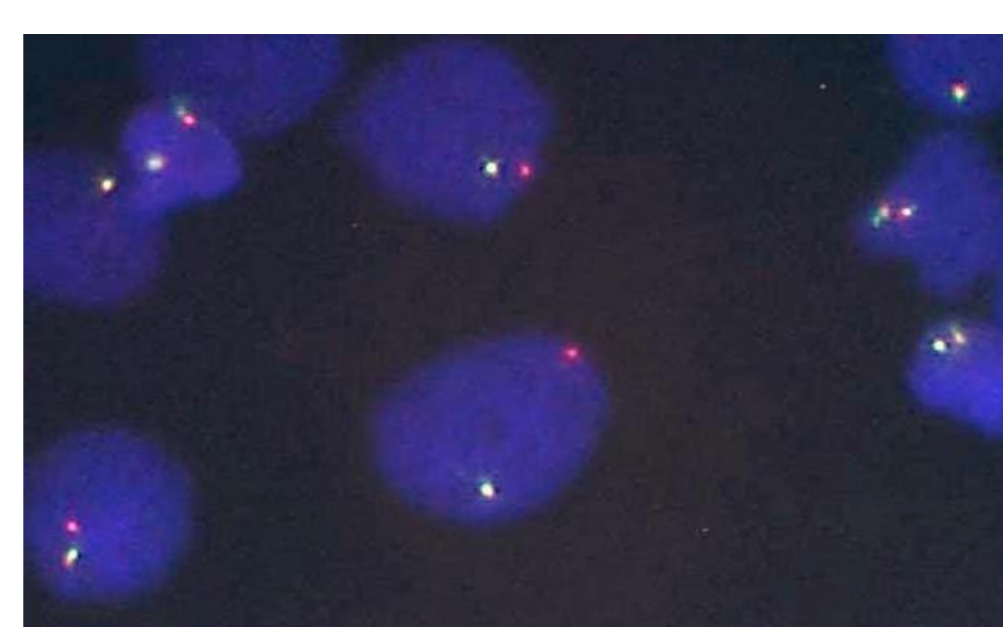
Liquide d'ascite:



MGG (X40)



ALK (IHC)



Réarrangement du gène ALK

Cytologie en faveur d'une localisation péritonéale de l'adénocarcinome broncho-pulmonaire connu chez ce patient.  
Présence d'un réarrangement du gène ALK détecté par FISH

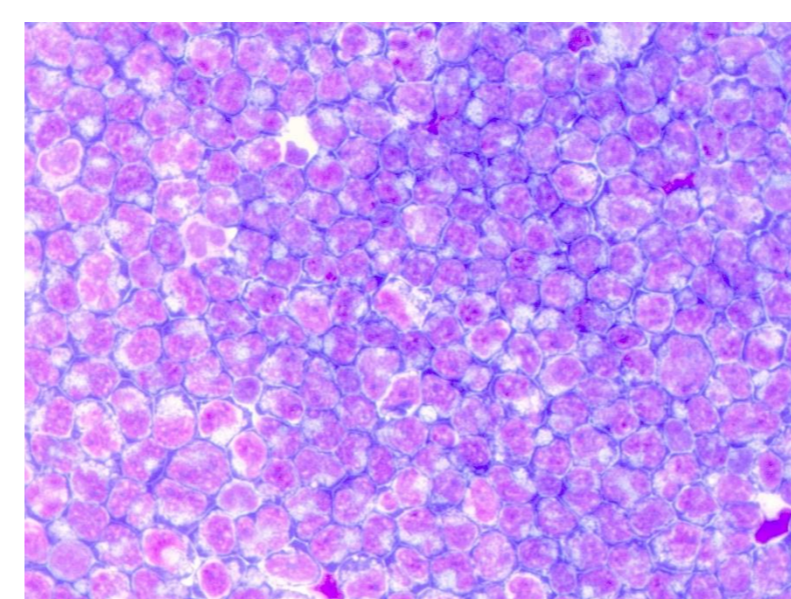
### Recherche d'un réarrangement du gène c-MYC par FISH

#### Liquide céphalo-rachidien

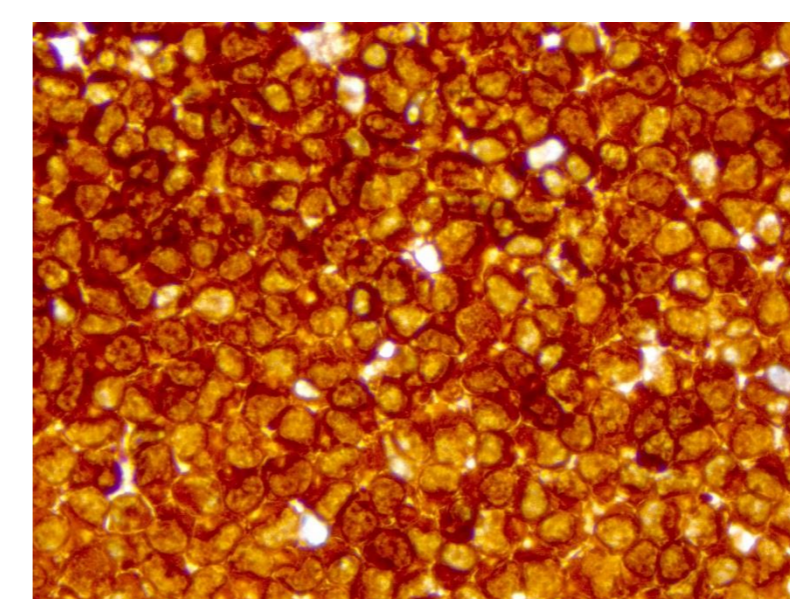
Femme de 64 ans, diagnostic d'un lymphome B diffus à grande cellules de phénotype non GC sus diaphragmatique avec adénopathies jugulo-carotidiennes en juin 2015 (CD20+, BCL2+, CD10-, présence d'un réarrangement du gène c-MYC). En cours de ttt par R-CHOP.

Janvier 2016: apparition de troubles neurologiques (dysarthrie avec paralysie faciale centrale G, troubles cognitifs, diplopie). IRM: lésions parenchymateuses multiples en hypersignal T2.

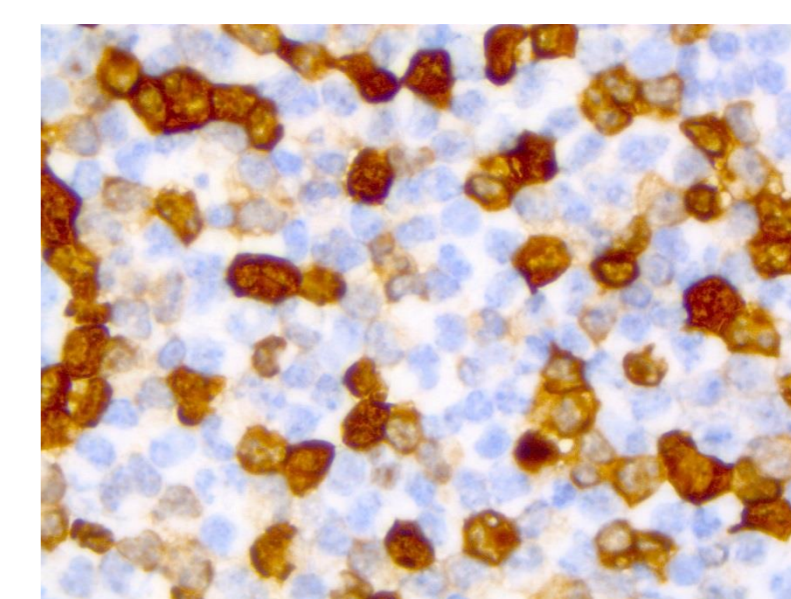
LCR: Numération : GR: 6/mm<sup>3</sup>, GB: 12000/mm<sup>3</sup>;  
Formule: 100% de cellules lymphomateuses



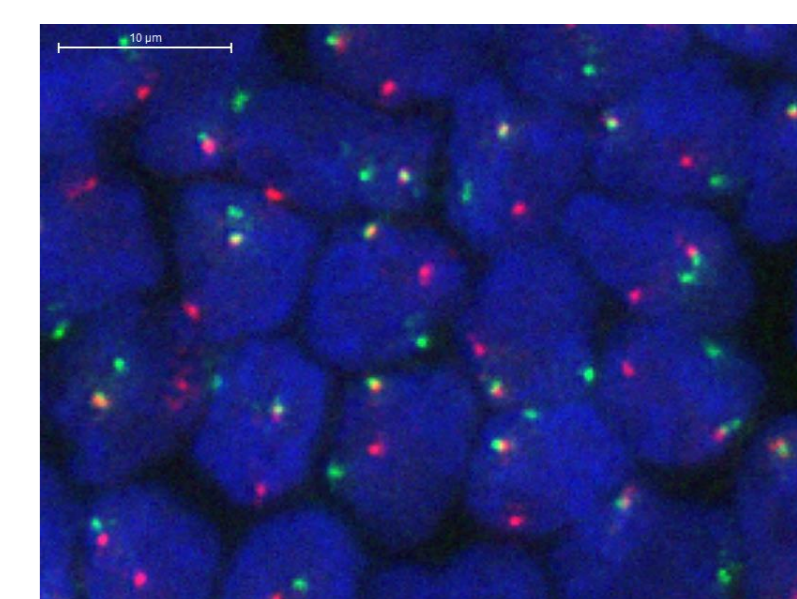
MGG (X63)



BCL2 +



MIB1



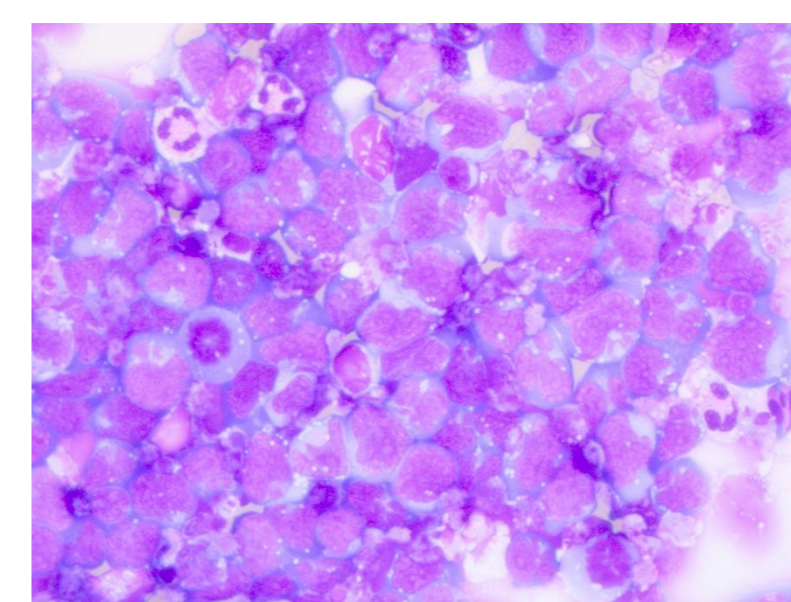
Réarrangement du gène c-MYC

Cytologie en faveur d'une localisation méningée du lymphome B diffus à grandes cellules connu chez cette patiente avec un réarrangement du gène c-MYC.

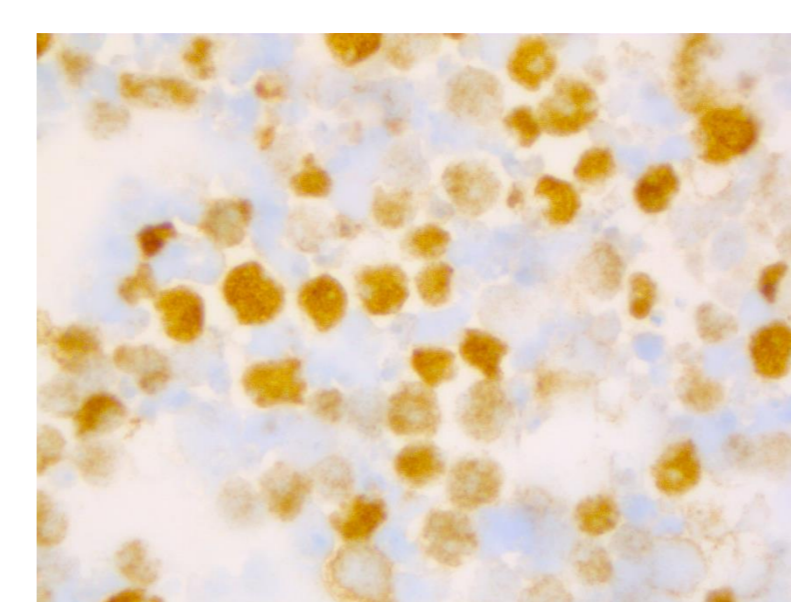
#### Liquide d'ascite

Enfant de 5 ans, consultation pour abdomen distendu et douloureux. Nombreuses masses abdominales visibles au scanner.

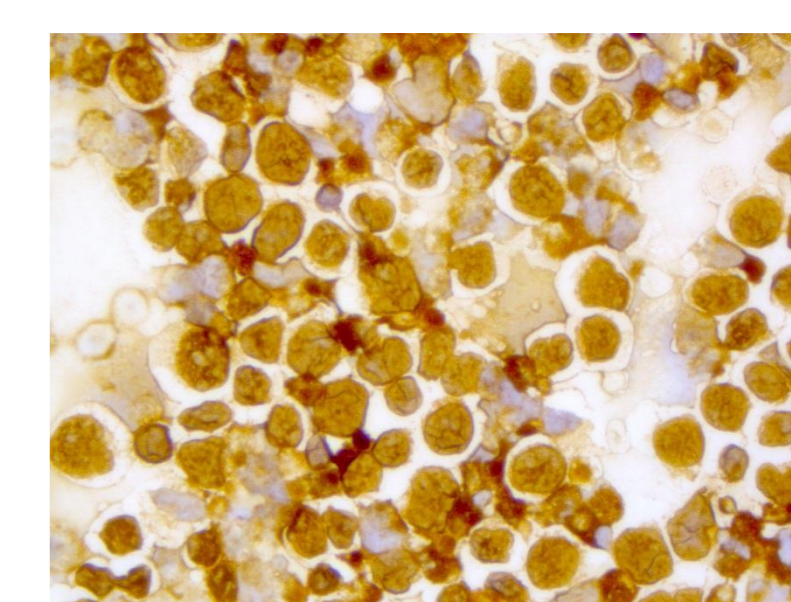
Liquide d'ascite: Numération : GR: 20000/mm<sup>3</sup>, GB: 70000/mm<sup>3</sup>



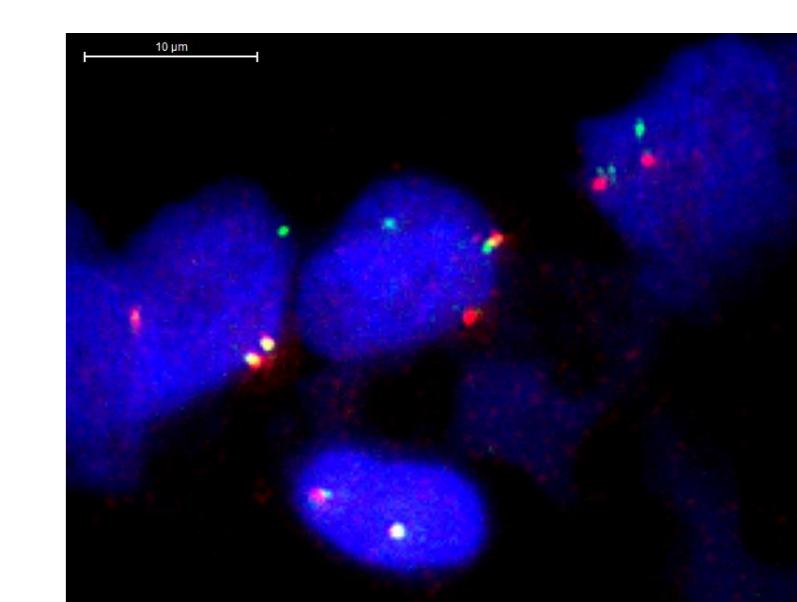
MGG (X63)



BCL6 +



MIB1



Réarrangement du gène c-MYC

Aspect cytologique et immunocytochimique en faveur d'un lymphome de Burkitt.  
Présence d'un réarrangement du gène c-MYC détecté par FISH

## CONCLUSION

- ✓ La technique FISH est réalisable sur des spots de cytopspins réalisés à partir de prélèvements cytologiques.
- ✓ L'intérêt est double:
  - aide au diagnostic de certaines tumeurs ou métastases (réarrangement identique entre tumeur primitive et métastases, ICC non contributive, prélèvement peu abondant...)
  - intérêt théranostique (tumeur primitive difficile d'accès mais nécessité de connaître si certains gènes sont réarrangés pour accéder à des thérapies ciblées plus efficaces)

## Remerciements



Contact: solene.evrard@univ-tlse3.fr