

LES LIQUIDES D'EPANCHEMENT

L'ANALYSE BIOCHIMIQUE, MICROBIOLOGIQUE ET CYTOLOGIQUE EST INDISPENSABLE POUR AVANCER DANS LA DEMARCHE DIAGNOSTIQUE

RESUME

L'analyse des épanchements humains est un processus essentiel pour le diagnostic et le suivi de nombreuses pathologies. C'est le cas par exemple des cancers, où la détection de cellules malignes dans un d'épanchement peut conduire au diagnostic de métastases, d'importance diagnostique et pronostique évidente. Concernant la partie cytologique, les épanchements sont analysés au laboratoire de biologie médicale pour effectuer les numérations cellulaires et un examen morphologique des cellules. La biochimie et la bactériologie apportent avec certitude des informations capitales dans le diagnostic et la prise en charge des différentes pathologies.

Mots clés : épanchement ; diagnostic ; pathologies

DEFINITION D'UN LIQUIDE D'EPANCHEMENT.

Un épanchement se définit par la présence de liquide ou de gaz dans une cavité naturelle qui, à l'état normal, n'en contient pas. Les cavités concernées sont généralement la cavité péritonéale, la plèvre, le péricarde, les articulations, les bourses. On distingue classiquement les liquides pleuraux, péritonéaux, péricardiques, articulaires. Les épanchements sont parfois révélateurs d'une pathologie sous-jacente ou témoignent de l'évolution d'une pathologie déjà présente chez le patient.

1. PHYSIOPATHOLOGIE ET NOTION D'EXSUDAT ET TRANSSUDAT

Quelle que soit l'origine du liquide d'épanchement, la physiopathologie est proche. A l'état normal, il existe une lubrification des séreuses par sécrétion d'une faible quantité de liquide produite par le feuillet pariétal et réabsorbée par le feuillet viscéral. Un déséquilibre entre sécrétion et réabsorption provoque un épanchement. Ces liquides d'épanchements sont classés traditionnellement en deux catégories :

1.1 Les transsudats

Ils correspondent à une diminution de la résorption du liquide. Les causes sont mécaniques et diffèrent selon l'origine du liquide. Classiquement, on ne retrouve pas d'excès de protéines et la cellularité est faible.

1.2 Les exsudats

Ils apparaissent suite à une augmentation de la production du liquide. Ils sont le plus souvent secondaires à une prolifération tumorale ou à une inflammation ayant pour origine une infection, des troubles vasculaires aigus, ou certaines connectivités. Le taux de protéines est élevé, il peut y avoir présence de fibrinogène et on y retrouve de nombreuses cellules. De plus, chaque liquide possède des caractéristiques différentes en fonction de son origine.

2. LIQUIDE D'ASCITE

L'ascite est un épanchement liquidiens de la cavité péritonéale. On exclut généralement de cette définition les épanchements purulents (péritonites), les épanchements sanguins (hémopéritoines), et les épanchements bilieux (choléperitoines). La caractéristique exsudative ou transsudative de l'ascite dépend de la cause de l'épanchement : le transsudat est constitué suite à une hypertension portale, retrouvée dans les cas de cirrhose, d'affection cardiaque, ou de métastases hépatiques avec compression vasculaire provoquant un blocage mécanique. A l'inverse, la pression portale est normale dans le cas d'un exsudat. La cause est alors extérieure : carcinose péritonéale, infection, affection pancréatique, perforation intestinale...

2.1 Clinique et examen macroscopique

L'échographie est l'examen le plus sensible pour poser le diagnostic d'ascite. Le prélèvement du liquide se fait au lit du malade, au niveau de la fosse iliaque, au niveau du tiers externe de la ligne entre l'ombilic et l'épine iliaque antéro-supérieure. On peut l'effectuer sous contrôle échographique. Le liquide s'écoule naturellement, on le recueille traditionnellement sur **2 flacons dont 1 avec anticoagulant (EDTA ou citrate)**. Un **flacon d'hémoculture** peut être ensemencé directement au lit du patient pour culture bactérienne (si non, envoyer l'échantillon au laboratoire pour cette fin). Le premier examen est macroscopique : la couleur du liquide d'ascite oriente sur l'origine transsudative ou exsudative du liquide. **Les transsudats** correspondent à des liquides clairs, opalescents, chyleux, citrins. **Les exsudats** sont troubles ou rougeâtres, purulents, hémorragiques ou chyleux.

2.2 Cytologie et caractéristiques cytologiques des liquides d'ascites

2.2.1 Cellules mésothéliales

Ce sont les cellules qui tapissent en une couche monocellulaire l'intérieur de la cavité péritonéale. Elles sont identiques à celles retrouvées dans les liquides pleuraux (elles proviennent alors des séreuses pleurales). Les cellules desquamant du feuillet viscéral et sont les seules présentes à l'état normal dans le liquide avec quelques macrophages. Elles mesurent 5 à 7µm de diamètre au sein de l'épithélium et augmentent de volume une fois dans l'ascite pour mesurer souvent 15 à 25 µm de diamètre. Elles sont de formes arrondies et à bords nets. L'aspect des cellules mésothéliales se modifie suivant la cause de l'épanchement et le délai entre le prélèvement et l'analyse.

Les autres cellules pouvant être observées dans l'ascite sont toutes d'origine extérieures à la cavité. Elles passent dans le liquide à la suite d'un processus bénin ou malin : polynucléaires neutrophiles (PN), éosinophiles (PEo) et basophiles (PBa), lymphocytes, monocytes, plasmocytes, mastocytes, cellules lymphoïdes atypiques... Ces cellules ont un aspect semblable sur le frottis de liquides à celui retrouvé sur un frottis sanguin.

2.2.2 Caractéristiques cytologiques des liquides d'ascites

Une des possibilités de caractérisation des liquides est le classement par population cellulaire prédominante. On distingue :

➤ L'ascite à polynucléaires neutrophiles :

La présence de PN dans un liquide d'ascite est fortement évocatrice d'une infection du liquide. Chez un cirrhotique, une numération de PN supérieure à 250 cellules / mm³ impose la mise sous traitement antibiotique probabiliste (souvent une céphalosporine de 3ème génération) avant même l'identification du germe. On peut retrouver en outre cette cytologie après une irradiation, témoignant d'une inflammation.

➤ L'ascite à polynucléaires éosinophiles :

C'est une affection exceptionnelle, de prépondérance féminine. Les signes cliniques sont des douleurs abdominales associées à des troubles digestifs et une hyperéosinophilie sanguine est fréquemment associée. L'enquête étiologique est souvent négative. On notera en outre que les ponctions d'ascites itératives sont souvent responsables d'une augmentation des polynucléaires éosinophiles au fur et à mesure des ponctions.

➤ L'ascite à lymphocytes d'aspect banal :

Un liquide d'ascite avec plus de 70% de lymphocytes doit faire rechercher avant tout une tuberculose péritonéale. La tuberculose est

responsable de 2 à 6 % des ascites. Elle doit être explorée par culture de liquide d'ascite dans un milieu pour les mycobactéries.

➤ L'ascite à cellules lymphoïdes atypiques :

Le lymphome de Burkitt ainsi que d'autres lymphomes non Hodgkiens, notamment le lymphome B diffus à grandes cellules, peuvent diffuser dans la cavité péritonéale. Dans ce cas, les cellules lymphomateuses du liquide auront des caractéristiques proches des cellules lymphomateuses sanguines. On observera fréquemment de nombreuses mitoses dans le liquide.

➤ L'ascite à cellules mésothéliales :

Dans le cas d'une ascite d'origine transsudative, les cellules mésothéliales se détachent de la paroi péritonéale et flottent dans le liquide d'ascite. La chronicité des épanchements s'accompagne d'une vacuolisation des cellules mésothéliales qui prennent un aspect histioïde.

➤ L'ascite à cellules malignes métastatiques :

La présence de cellules malignes résulte de l'atteinte directe de la séreuse par voie lymphatique, par voie sanguine ou par simple propagation. La carcinose péritonéale est la deuxième grande cause d'ascite. Le cancer le plus fréquemment en cause dans les ascites péritonéales est l'adénocarcinome ovarien. La cytologie permet le diagnostic de la métastase dans environ 2/3 des cas seulement. La sensibilité de l'examen peut être augmentée en répétant trois jours de suite l'analyse.

2.3 Analyse biochimique et bactériologique

L'analyse biochimique du liquide d'ascite est demandée systématiquement : dosage des protéines et de l'albumine. Le dosage des protéines permet de classer le liquide en exsudat ou transsudat. Le calcul du gradient Albumine sérum / Albumine ascite oriente vers l'étiologie. Ce gradient est supérieur à 11 dans les cirrhoses ou lors d'une hypertension portale. Inférieur à 11, il indique plutôt une carcinose péritonéale, une tuberculose péritonéale, une atteinte pancréatique ou un syndrome néphrotique. Certaines analyses peuvent être demandées de manière moins usuelle : le dosage des triglycérides (supérieurs à 2,25 x 10⁻³ mol/L dans le cas d'une ascite chyleuse) ; le dosage de l'amylase (lors de suspicion d'ascite pancréatique, le rapport amylase ascite / amylase sérique est > 6). Actuellement le dosage de la lipase remplace le dosage de l'amylase.

Pour la bactériologie, un examen direct est effectué systématiquement ainsi qu'une mise en

culture sur milieu conventionnel ou flacon d'hémoculture.

D'autres analyses sont possibles, non réalisées en routine, comme par exemple le dosage du marqueur tumoral ACE pour le diagnostic de carcinose péritonéale. En cas de suspicion de pathologie néoplasique ou de cellules tumorales, le liquide d'ascite doit bénéficier d'une analyse anatomo-pathologique.

3. LIQUIDE PLEURAL

La plèvre est la membrane séreuse qui recouvre les poumons, la cage thoracique, le diaphragme et le médiastin. Les deux feuillets sont contigus et l'espace virtuel formé ainsi entre les deux est la cavité pleurale. Normalement, les deux feuillets ne sont séparés que par une quantité infime de fluide quasi virtuelle qui facilite les mouvements de glissement des deux membranes l'une contre l'autre. Le liquide pleural est produit par le feuillet pariétal puis est résorbé par le feuillet viscéral. Un déséquilibre entre la production et la résorption du liquide peut entraîner l'accumulation de fluide dans la cavité pleurale. Les causes les plus fréquentes d'épanchements pleuraux sont : l'insuffisance cardiaque congestive, les pneumopathies infectieuses, les néoplasies ou l'embolie pulmonaire.

3.1 Clinique et examen macroscopique

Lorsque l'épanchement pleural est unilatéral, il est le plus souvent dû à une pathologie pleurale ou pulmonaire, à la différence d'un épanchement bilatéral qui sera plutôt le témoin d'une atteinte systémique. Les examens systématiques à réaliser pour explorer un épanchement pleural comprennent une radiographie de thorax, et la réalisation d'une ponction pleurale pour analyse du liquide obtenu.

Macroscopiquement, le liquide pleural peut déjà informer sur l'origine de l'épanchement. Un liquide trouble évoque une infection. Un aspect blanc laiteux (chyothoraïx), un liquide uniformément sanguin (hémothoraïx), un épanchement sérohématifique orientent vers une cause néoplasique ou un traumatisme. En revanche, un liquide jaune citrin et clair ne préjuge pas de l'origine.

3.2 Cytologie et caractéristiques cytologiques des liquides pleuraux

La numération cellulaire globale est secondaire dans l'analyse des liquides pleuraux par rapport à la formule leucocytaire. Les cellules retrouvées dans un liquide pleural sont identiques aux cellules retrouvées dans les liquides d'ascites. Les cellules mésothéliales possèdent les mêmes caractéristiques morphologiques. En fonction du pourcentage des cellules rencontrées on distingue :

➤ Les pleurésies à polynucléaires neutrophiles :

Plus de 50 % de PN signent un phénomène aigu. Souvent, le pourcentage augmente jusqu'à 90%. Il s'agit de processus inflammatoires ou infectieux.

➤ Les pleurésies à polynucléaires éosinophiles :

Les PEo sont supérieurs à 10% ; cette valeur peut atteindre 90%. On les rencontre dans les maladies cancéreuses, allergiques, au décours d'une embolie pulmonaire, au décours d'un pneumothorax ou d'un traumatisme thoracique. Comme pour les liquides d'ascites, les ponctions itératives semblent être une cause d'augmentation des PEo mais cela reste controversé. L'origine de ces pleurésies à PEo reste souvent indéterminée.

➤ Les pleurésies lymphocytaires :

La formule est composée de plus de 50% de lymphocytes. Ces pleurésies évoquent fortement une tuberculose ou un lymphome. L'examen complémentaire de choix, dans le premier cas, est la biopsie pleurale. Un immunophénotypage est recommandé dans le second. On retrouve aussi des pleurésies lymphocytaires dans les pleurésies virales, ou dans les pleurésies secondaires aux pneumopathies à mycoplasme et chlamydiae. On doit aussi évoquer la possibilité d'un envahissement pleural d'hémopathie lymphoïde. Enfin, une lymphocytose pleurale peut être le témoin d'un épanchement chronique.

➤ Les pleurésies à prédominance de cellules mésothéliales :

C'est principalement le cas des transsudats ou des mésothéliomes. Dans le cas du mésothéliome, on notera que les cellules mésothéliales malignes sont majoritairement dystrophiques et souvent en amas. L'aspect des cellules est parfois déroutant et peut faire hésiter le diagnostic.

➤ Les pleurésies à populations polymorphes :

On nomme ainsi les épanchements avec formule cytologique bigarrée : plusieurs types de cellules coexistent sans prédominance notable (lymphocytes, PN, cellules mésothéliales). Deux orientations sont possibles :

- **Epanchement bénin** : L'épanchement est dans ce cas le reflet aspécifique d'un processus inflammatoire.

- **Epanchement malin** : On note à l'examen microscopique la présence de cellules suspectes :

typiquement, elles ont un noyau irrégulier, déformé avec un ou plusieurs nucléoles, et une hétérogénéité chromatinienne. Elles sont parfois cohésives monomorphes. Il est important de savoir dépister ces cellules malignes afin d'orienter le clinicien sur une pathologie tumorale sous-jacente.

3.3 Analyses biochimiques et bactériologiques

Peu d'examens biochimiques sont utilisés en routine. Les protéines sont le reflet de l'augmentation de la perméabilité pleurale, alors que les LDH témoignent plutôt de son inflammation. Ces deux marqueurs, à l'aide des critères de Light de 1972, permettent de faire la distinction entre exsudat et transsudat. On pourra aussi calculer, tout comme dans les ascites, les gradients protéiques ou d'albumine, pour déterminer l'origine de l'épanchement. En 2^{ème} intention, on pourra réaliser un hématocrite, pour étayer un hémotorax, une mesure du pH ou de glucose pour le caractère infectieux, ou encore un dosage du cholestérol ou des triglycérides dans le cas d'un chylothorax.

En bactériologie, là encore, un examen direct peut être réalisé et l'ensemencement sur milieux adaptés ou de flacons d'hémocultures anaérobies et aérobies permet de préciser le diagnostic infectieux. En cas de suspicion d'infection tuberculeuse, les mises en cultures appropriées doivent être réalisées.

Comme pour les liquides d'ascite, en cas de suspicion d'atteinte maligne, une partie du prélèvement doit être envoyée pour analyse anatomo-pathologique.

4. LIQUIDE SYNOVIAL

Le liquide synovial (appelé aussi liquide articulaire) remplit l'espace des cavités des articulations afin de les lubrifier. Il est fabriqué par les cellules synoviales à partir d'un filtrat de plasma. L'analyse du liquide synovial est un examen clé de la démarche diagnostique. Trois analyses sont particulièrement effectuées : la cytologie, la bactériologie et la recherche des cristaux. La biochimie ne présente pas d'intérêt cependant, les protéines, le glucose et l'acide urique peuvent être dosés.

4.1 Clinique et examen macroscopique

La ponction est réalisée par un opérateur entraîné, à l'aide d'une aiguille fine. Le recueil se fait sur des tubes contenant un anticoagulant, les plus appropriés étant l'héparinate de sodium ou le citrate de sodium. Les autres anticoagulants peuvent créer des artefacts pouvant être confondus avec des cristaux. L'idéal est un examen extemporané du liquide, au mieux dans un délai maximum de 6h. Le premier examen établit l'aspect macroscopique : un liquide synovial normal est transparent, clair, très

visqueux et incoagulable. Plus le liquide est inflammatoire, moins il est visqueux, la viscosité étant dépendante de la concentration et du degré de polymérisation de l'acide hyaluronique sécrété par les cellules synoviales. Les leucocytes présents dans l'articulation sécrètent des enzymes qui dépolymérisent l'acide hyaluronique. L'aspect macroscopique se modifie en fonction de la pathologie : jaune paille ou jaune citrin dans le cas des arthropathies dégénératives, trouble et purulent dans les arthrites septiques. Les hémarthroses donnent des liquides synoviaux sanguins, non coagulables. On pourra chercher en outre des petites particules blanches, « en grains de riz », dans la polyarthrite rhumatoïde qui correspondent à des « agrégats » de fibrine et de débris synoviaux.

4.2 Cytologie et caractéristiques cytologiques

Le liquide synovial normal contient moins de 200 cellules par mm³. Il s'agit essentiellement de PN, de lymphocytes et de cellules du revêtement synovial ou **cellules synoviales**. Celles-ci constituent le revêtement de la membrane synoviale. Elles sont libérées en réaction à une stimulation (la ponction peut suffire à entraîner la présence de cellules synoviales dans le liquide). On distingue :

➤ Les épanchements synoviaux mécaniques :

Ils sont de couleur jaune pâle et assez visqueux, ont une cellularité inférieure à 2000 cellules par mm³. Ces épanchements ont une prédominance d'éléments mononucléés ; ils se rencontrent dans l'arthrose, les ostéonécroses aseptiques, les ostéochondrites disséquantes, les algodystrophies, l'ostéo-chondromatose synoviale.

➤ Les épanchements synoviaux inflammatoires :

Le liquide est d'une couleur plus marquée, jaune paille. Il est parfois purulent dans les arthrites septiques. La viscosité est basse. Le nombre de cellules est supérieur à 2000 cellules par mm³. Au niveau de la formule cellulaire, on retrouve plusieurs possibilités:

- **Prédominance de polynucléaires neutrophiles :** Un pourcentage de PN dépassant les 95% est fortement évocateur d'une arthrite bactérienne ou microcristalline. On notera que les PN avec inclusions (anciens « ragocytes » de la polyarthrite rhumatoïde ou « cellules LE » du lupus) ne sont pas spécifiques.

- **Prédominance de lymphocytes :** Une formule présentant plus de 70 % de lymphocytes témoigne le plus souvent d'une polyarthrite rhumatoïde, d'une

arthrite virale, d'un lupus érythémateux disséminé voire d'une arthrite tuberculeuse.

- Prédominance de monocytes : Une prédominance de monocytes est plutôt évocatrice d'une arthrite virale mais sans spécificité. De nombreux rhumatismes inflammatoires peuvent conduire à des épanchements monocytaire: polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé, sarcoïdose, rhumatisme psoriasique... La monocytose synoviale n'est donc pas spécifique.

- Prédominance de polynucléaires éosinophiles : Il est rare d'observer un épanchement riche en PEo (c'est-à-dire supérieur à 10%), excepté lors d'arthrite parasitaire, d'arthrite chez des sujets allergiques, dans la maladie de Lyme, ou après une arthrographie avec utilisation de produit de contraste. La cause reste souvent indéterminée.

➤ **Les épanchements synoviaux hémorragiques :**

Les liquides hémorragiques sont à différencier des liquides avec contamination sanguine par ponction traumatique ou perforation de vaisseaux apportant un peu de sang dans la seringue. Les vrais liquides hémorragiques peuvent être de causes multiples : épanchements post traumatiques, trouble de l'hémostase (hémophilie notamment, en principe à ne pas ponctionner), arthrite septique, hémangiomes synoviaux, synovites villonodulaires, arthrose avec ulcération de l'os sous chondral. L'aspect de ces liquides est évidemment sanguin.

➤ **Les épanchements synoviaux avec présence de cellules atypiques :**

La recherche de cellules néoplasiques est toujours indiquée. La présence de blastes s'observe parfois, surtout lors des leucémies aiguës de l'enfant avec atteinte articulaire. Exceptionnellement, des cellules néoplasiques provenant de tumeurs solides peuvent être observées. Une biopsie est indiquée dans ces cas.

4.3 Examens biochimiques et bactériologiques

La recherche de cristaux est très importante pour le diagnostic d'arthropathie microcristalline. Elle s'effectue au microscope ou en spectrométrie. On recherche notamment les cristaux d'urate monosodique dans la goutte, les cristaux de pyrophosphate de calcium dihydraté dans la chondrocalcinose ; les cristaux d'apatite et autres phosphates de calcium sont retrouvés dans les mise à nu de l'os sous chondral notamment. D'autres cristaux peuvent être retrouvés moins fréquemment (cristaux d'oxalate de calcium, de cholestérol, microcristaux de dérivés cortisoniques...). Le dosage des protéines et du glucose complète l'examen biochimique.

Le liquide synovial peut êtreensemencé sur milieux classiques ou en hémoculture. On adaptera les milieux si besoin pour la recherche de mycobactéries. On peut en outre effectuer une recherche de pathogènes à pousse difficile par des techniques de biologie moléculaire ; on pensera notamment à Chlamydia, au Gonocoque...

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Buffet C.** Conduite à tenir devant une ascite. EMC - Hépatologie. 2012;7(3):1-8.
- Grancher T, Jeanne G.** Biologie des liquides d'épanchement. Biomérieux; 2006.
- Kjeldsberg.** Chapter 5: Pleural et Pericardial Fluid. In: Kjeldsberg's Body Fluid Analysis. ASCP Press. 2015.
- Lesesve J-F.** Cyto-hématologie des liquides d'épanchement. Formation Biologie Prospective; 2016.
- Pastré J, Roussel S, Israël Biet D, Sanchez O.** Pleural effusion: diagnosis and management. Rev Med Interne. 2015;36(4):248-55.

Contact: Dr Ngouana Kammalac Thierry;

Tel: 6 99 74 92 47 / 6 76 16 33 53;

Email: ngouanathi@yahoo.com – laboratoiresion@yahoo.com