

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

L'immunohistochimie en Algérie

Présenté par : Rania BOUBLA

Katia TEZKRATT

Soutenu le : 25/06/2018

Devant le jury composé de :

- | | |
|------------------------------------|--------------------------------|
| - Président : HACHEMI Amina | Maitre assistant A (ENSV) |
| - Promoteur : MIMOUNE Nora | Maitre de Conférences A (ENSV) |
| - Examineur 1 : BAAZIZI Ratiba | Maitre de conférences B (ENSV) |
| - Examineur 2 : ADDAD Salah Eddine | Docteur Vétérinaire |

Remerciements

Merci Allah de nous avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

A terme de ce travail, il nous est agréable d'exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciement à notre promotrice Dr. MIMOUNE N pour avoir accepté de diriger ce projet de fin d'étude.

Merci à Mme HACHEMI A pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire, remerciement respectueux.

Merci à Mme BAAZIZI R d'avoir acceptée d'examiner notre travail et de faire partie de jury, remerciement respectueux.

Merci à M ADDAD Salah Eddine d'avoir acceptée d'examiner notre travail et de faire partie de jury, remerciement respectueux.

Nos remerciements s'adressent également aux responsables de laboratoire de service d'anatomie pathologie de CHU Mustapha Bacha, Beni Messous, CPMC, sans oublier les responsable des laboratoires privés pour leur énorme aide sans laquelle ce travail n'aura pas eu lieu.

....Encore Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Particulièrement à mes chers parents pour leur soutien et leurs sacrifices le long de ma formation.

A ma mère, qui m'a encouragé pendant toutes mes études.

A mon père, qui est disponible pour nous et prêt à nous aider, je lui confirme mon profond respect.

*A mes frères : Sid Ali, Abderrahmane e, Rayen
et mes sœurs : Meriem, Amel, Dahbia.*

*A toute mes amies : Chanez, Lamis, Amel, Radia, Saliha, Zineb,
Mounia, Samiha, Siham, kamilia.*

A mon oncle Kamel pour son encouragement et son soutien.

A mes tante Warda et Farodja pour leur aide.

A tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin.

Katia

Dédicace

Je remercie dieu le plus puissant de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail et finir mon parcours universitaire.

Je dédie ce modeste travail particulièrement à mes parents, mon bonheur, que tous les mots d'amours ne les suffisent pas, qui m'ont soutenue au bout et qui font les mains et les pieds pour me rendre heureuse, que dieu vous garde pour nous.

Au sucre de ma vie, mon frère Youcef et ma chère copine Saadia que j'aime trop.

Sans oublier mes meilleurs collègues de groupe 3 surtout : Wissal, Azzedine, Kenza, Lila, Maroua, Saleh, et Amel, merci pour les meilleurs moments qu'on a partagé ensemble, je vous aime.

A mes amis de lycée : wissem, Safa, Youcef, Moncef, Saleh, Nouh que je garde les garde toujours dans mon cœur malgré la distance qui nous sépare.

A toute ma famille et personne que j'aime

Rania

Liste des abréviations

IHC : immunohistochimie

Ac-Ag : antigène –anticorps

PAL : Phosphatase alcaline

POD : La peroxydase de raifort

PAP : Peroxydase Anti Peroxydase

Fc : fragment cristallisable

APAAP : Alkaline Phosphatase Anti-Alkaline Phosphatase

LAB: Labelled Avidine Biotine

LSAB: Labelled Streptavidine Biotine

ABC: Avidin Biotin Complexe

TSA: Tyramine Signal Amplification

CARD: Catalysed Reporter Deposition

CSA: Catalysed Signal Amplification

TBA: Tyramine Based Amplified

NH₂: groupement amine

OH : groupement hydroxyle

PLA : Proximity Ligation Assay

ADN : acide désoxyribonucléique

°C : Degré Celsius

MO : microscope optique

pH : potentiel hydrogène

PBS : Tampon Phosphate Salin

II aire : secondaire

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

PCR : polymerase chain reaction

CPMC : centre Pierre et Marie Curie

CAC : centre anticancéreux

Liste des figures

Figure n° 1 : Réaction Ac-Ag d'immunohistochimie.....	2
Figure n°2 : Coloration d'immunohistochimie sous microscope.....	3
Figure n° 3 : Albert COONS.....	3
Figure n° 4 : Anticorps polyclonaux.....	6
Figure n° 5 : Anticorps monoclonaux.....	7
Figure n° 6 : Technique indirect de l'IHC	9
Figure n° 7 : Technique direct de l'IHC.....	9
Figure n° 8 : Différents systèmes d'amplification / révélation en immunohistochimie	14
Figure n°9 : Inclusion des fragments dans les cassettes.....	16
Figure n° 10 : Microtomie.....	16
Figure n°11 : Protocole standard de l'Hématéine éosine.....	18
Figure n° 12 : Le protocole de l'immunohistochimie.....	21
Figure n° 13 : Automate de l'IHC.....	23
Figure n° 14 : Microscope optique avec caméra numérique intégrée, service d'Anatomie Pathologique, CHU Douira, Alger.....	24
Figure n° 15 : la pratique de l'IHC.....	32
Figure n° 16 : le coût de l'IHC.....	32
Figure n°17 : Nombre de demande traitées par jour.....	35

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : étapes de la coloration d'Hématéine Eosine.....	17
Tableau n° 2 : score Her2 selon les recommandations de l'ASCO.....	25
Tableau n° 3 : Années d'introduction d'immunohistochimie.....	29
Tableau n° 4 : Les différents motifs de visite aux services.....	30
Tableau n° 5 : Les différentes tumeurs dominantes.....	31
Tableau n° 6 : le type de prélèvement reçu.....	33

Sommaire

Partie bibliographique

Introduction.....	1
I. Définition.....	2
❖ Historique	3
II. Les objectifs de l'IHC	4
III. La technique d'immunohistochimie.....	5
❖ Quelques rappels	5
•Antigène.....	5
•Anticorps.....	5
➤ Anticorps polyclonaux	5
▪ Avantage	6
▪ Inconvénient.....	6
➤ Anticorps monoclonaux.....	6
▪ Avantage	7
▪ Inconvénient	7
❖ Enzymes utilisées en immunohistochimie.....	7
❖ Les différents systèmes de révélation/ amplification	9
A- Les système non amplifiés.....	9
a. méthode directe.....	9
b. Technique indirecte.....	9
B- Les systèmes faiblement amplifiés	9
a. Technique Peroxydase Anti Peroxydase (PAP).....	10
b. Technique Alcaline Phosphatase Anti-Alcaline Phosphatase (APAAP).....	10
C. Les systèmes avidine-biotine ou streptavidine-biotine.....	10
a. Les techniques LAB et LSAB (Labelled Avidine Biotine et Labelled Streptavidine Biotine).....	11
b.La technique ABC (Avidin Biotin Complexe).....	11
D- Les systèmes avec polymères	11
E- Les systèmes à la tyramide.....	12
F- Le système duolink® ou la technologie PLA (Proximity Ligation Assay).....	13

❖ Préparation de tissu.....	14
1. La fixation	14
▪ Intérêt.....	14
▪ Rôle du fixateur.....	15
2. La déshydratation	15
▪ L'intérêt	15
3. Clarification	15
4. L'inclusion	15
5. Confection des coupes	16
6. Coloration des lames.....	17
❖ Etude immunohistochimique.....	18
➤ Déparaffinage.....	18
➤ Réhydratation.....	18
➤ Rinçage	19
➤ Démasquage antigénique.....	19
➤ Cerclage	19
◆ Réaction immunohistochimique.....	19
• Inhibition de la peroxidase endogène.....	19
• Equilibration de l'osmolarité	19
• Blocage de la fixation non spécifique des anticorps.....	19
• Induction d'Ac primaire	19
• Induction d'Ac secondaire	20
• Révélation de l'activité peroxydase.....	20
• Contre coloration	20
• Montage des lames	20
✕ L'AUTOMATE.....	21
– Avantage	22
– Inconvénients.....	22
♦ Systèmes ouverts et fermés.....	22
• Interprétation des résultats.....	24
IV. Les avantages et les inconvénients de l'IHC.....	25

Partie expérimentale

I. Objectif.....	28
II. Matériel et méthode	28
○ Description questionnaire.....	28
○ Exploitation de questionnaire.....	29

III.	Résultats et discussion	29
1.	Année d'introduction de l'IHC.....	29
2.	But d'utilisation d'IHC	30
3.	Motifs des demandes	30
4.	Types de tumeurs dominantes.....	30
5.	Utilisation de l'IHC par les filières médicales	31
6.	Critères de l'IHC.....	32
7.	Conditions d'acceptation de la demande.....	32
8.	Démarches suivies dès la réception des prélèvements.....	33
9.	Types de prélèvements reçus.....	33
10.	Systèmes d'amplification.....	34
11.	Condition nécessaire pour un meilleur résultat.....	34
12.	Rôle de l'IHC dans le traitement adapté	34
13.	Nombre de demande traitée par jour	35
14.	Difficultés de l'IHC.....	36
15.	Durée de traitement des prélèvements.....	36
16.	Disponibilité et l'avantage de l'automate	36
17.	Techniques associées à l'IHC.....	37
IV.	Conclusion et recommandation	37

Références bibliographiques

Annexe

Partie

Bibliographique

INTRODUCTION

L'anatomie pathologique a connu différentes techniques d'histopathologie qui sert à améliorer et faciliter le diagnostic et aider au pronostic et la thérapie de différentes maladies entre autres les tumeurs. Parmi ces techniques, en citant les méthodes de coloration de routine, cependant ces méthodes ont connu des limites et ne peuvent atteindre les résultats souhaités (**SIOU et DIAZ, 1989**).

Pour cette raison l'histologie s'est rapidement intéressés à la morphologie des cellules, et pour cela les chercheurs ont développé d'autres techniques et méthodes qui fournissent plus d'informations, et servent à avancer la recherche et améliorer les résultats surtout en cancérologie. Après insuffisances des méthodes classiques, des méthodes histochimiques modernes, et des méthodes physiques dans le domaine de la localisation et de la caractérisation des protéines, l'immunohistochimie apporte une solution très satisfaisante (**MARTOJA et RACADOT, [S.D]**).

L'immunohistochimie, qui est devenue une technique d'appoint indispensable en anatomie pathologie, surtout en médecine humaine et pour la filière de biologie. Hors qu'en médecine vétérinaire cette technique est considérée comme inconnue par la majorité des vétérinaires en Algérie. Sachant que l'IHC a connu une évolution dans le domaine de la médecine humaine et elle a pris une grande place dans les laboratoires algériens des hôpitaux et permet d'apporter de plus pour le diagnostic et le pronostic de certaines maladies surtout les maladies cancéreuses.

L'absence d'étude de cette technique en médecine vétérinaire est parmi l'un des raisons qui nous a laissé penser à développer ce thème. Notre travail va être consacré pour faire l'étude bibliographique de cette technique et réaliser une enquête pour voir son statut en Algérie en médecine humaine et surtout en médecine vétérinaire.

I. DEFINITION

L'immunohistochimie (IHC) tire son nom de la racine « immuno », en référence à l'anticorps utilisé dans la procédure, du mot « chimie » et du mot « histologie » qui évoque l'étude de tissus biologiques (**site internet (1)**). L'invention concerne une méthode de démonstration histochemique spécifique d'anticorps dans des cellules et des parties de cellules (**COONS et al, 1955**).

L'immunohistochimie est une méthode morphologique (**Pluot et al, 2006**). Elle combine des techniques anatomiques, immunologiques et biochimiques pour identifier « in situ » sur des coupes histologiques des composants tissulaires discrets par l'interaction d'antigènes cibles avec des anticorps spécifiques marqués avec un marqueur visible. (**COONS et al, 1942**).

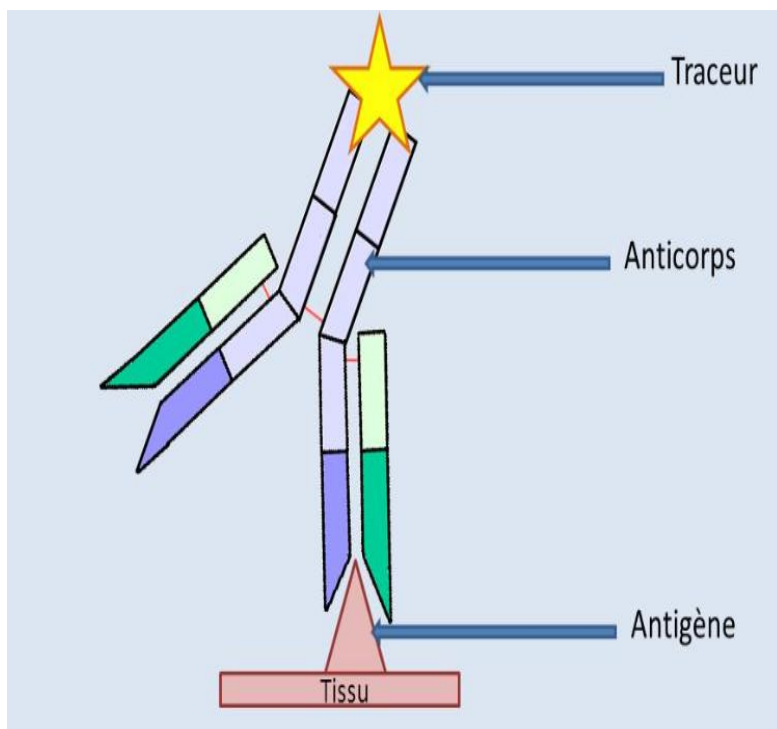


Figure n° 1 : Réaction Ac-Ag d'immunohistochimie (site internet (1))

La révélation de la réaction antigène –anticorps par une réaction enzymatique donnant un précipité de couleur (**Rouquette, 2015**).

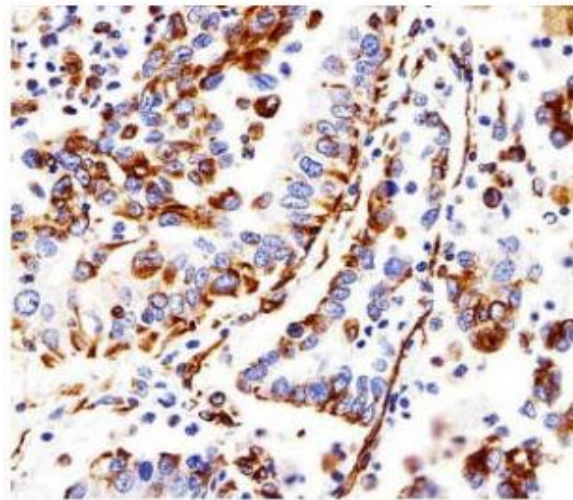


Figure n°2 : Coloration d'immunohistochimie sous microscope (**site internet (1)**)

❖ **Historique**

L'histoire des méthodes d'immunocoloration a commencé quand MARRACK a produit des réactifs contre le typhus et le choléra (micro-organismes), en utilisant une coloration rouge conjuguée à la tétrahydrobenzidine (**Matos et al, 2010**).

Le principe de l'IHC est connu depuis les années 1930, mais ce n'est qu'en 1942 que la première étude d'IHC a été rapportée. « Coons et al » en 1942 ont utilisé des anticorps marqués au FITC pour identifier les antigènes pneumococciques dans les tissus infectés (**VENTEO, 2011**), coloré à la fluorescéine, visualisé par la lumière ultraviolette (microscopie à fluorescence) (**Matos et al, 2010**), depuis cette année des améliorations ont été rapportés à cette technique, elle est devenue un outil de routine et essentiel dans les laboratoires de diagnostic et de la recherche (**Coons et al, 1942**).



Figure n° 3 : Albert COONS (site inernet1))

C'est en 1955 que COONS a augmenté la sensibilité des méthodes d'immunofluorescence en introduisant une seconde étape. La première étape consiste à incuber l'anticorps primaire, spécifique de l'antigène d'intérêt. Cet anticorps primaire n'est pas directement conjugué au marqueur mais il sera mis en évidence après liaison à un anticorps secondaire qui lui sera couplé à un marqueur. L'anticorps secondaire est dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce animale qui a donné les anticorps primaires **(VENTEO, 2011)**.

C'est en 1966 que NAKANE a introduit l'utilisation d'enzymes comme systèmes de révélation pour l'immunohistochimie en microscopie optique. Depuis les années 1970, de nombreux systèmes de détection utilisant ces enzymes couplées à des molécules amplificatrices apparaissent et permettent d'augmenter la sensibilité des techniques d'IHC. Deux enzymes sont couramment utilisées en IHC : la peroxydase de raifort et la phosphatase alcaline. À ce jour, une dizaine de systèmes d'amplification existent. La qualité des marquages obtenue va dépendre du système utilisé **(NAKANE et PIERCE, 1967)**.

II. Les objectifs de la technique

L'IHC a pour but d'apporter et d'améliorer les études effectuées.

L'immunohistochimie est une technique utilisée en histo et cytopathologie depuis plus de vingt ans, a permis de faire des progrès considérables dans le diagnostic morphologique, en particulier dans celui des maladies cancéreuses. Son but et son principe est de mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps **(GENTON, 2006)**.

C'est un outil important pour la recherche scientifique et également une technique complémentaire pour l'élucidation des diagnostics différentiels, qui ne peuvent être déterminés par l'analyse conventionnelle avec l'hématoxyline et l'éosine (**Matos et al, 2010**).

L'intérêt de cette technique est de repérer des antigènes (protéines le plus souvent) d'intérêt au niveau cellulaire ou extracellulaire à l'aide d'anticorps spécifiques. L'IHC est utilisé pour :

- ♦ Le diagnostic des maladies
- ♦ Le développement de médicaments et la recherche biologique.
- ♦ La détection de molécules ayant une importance pronostique et/ou thérapeutique (récepteurs hormonaux d'un cancer mammaire par exemple) (**GENTON, 2006**)

En utilisant des marqueurs tumoraux spécifiques, les médecins utilisent IHC pour :

- ♦ Diagnostiquer un cancer comme bénigne ou maligne,
- ♦ Déterminer le stade et le grade d'une tumeur.
- ♦ Identifier le type cellulaire et l'origine d'une métastase pour trouver le site de la tumeur primaire.

Et même en pathologie non tumorale, elle facilite l'étude des populations cellulaires et la reconnaissance des virus (**VOIGT et al, 1993**).

III. La technique d'immunohistochimie

❖ Quelques rappels :

- **Antigène**

Substance susceptible d'induire la formation d'anticorps lorsqu'elle est introduite dans un organisme. Il porte plusieurs déterminants antigéniques ou épitopes. Les épitopes d'un même antigène peuvent être tous identiques ou différents (**site internet(2)**).

- **Anticorps** (ou les immunoglobulines)

Sont des glycoprotéines secrétées en réaction à la présence d'antigènes doués d'une action d'anticorps (**Site internet (2)**).

Les anticorps sont fabriqués en injectant à plusieurs reprises un échantillon de l'antigène (protéine à détecter) à un animal (le plus souvent, lapin ou chèvre), et en recueillant ensuite le sérum riche en anticorps (**site internet(3)**).

➤ **Anticorps polyclonaux**

Les anticorps polyclonaux sont un mélange d'anticorps reconnaissant différents épitopes sur un antigène donné (**site internet(4)**).

S'obtiennent par immunisation d'un animal, produit par différents plasmocytes.

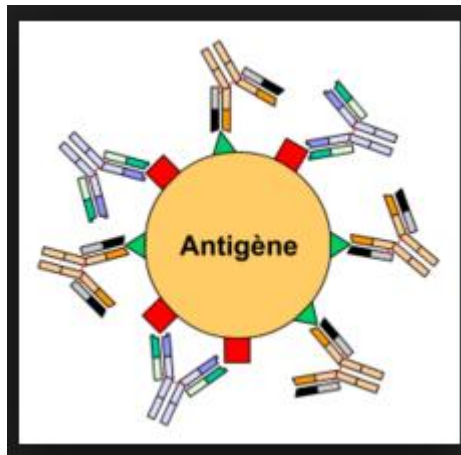


Figure n° 4: Anticorps polyclonaux (site internet(3)**).**

▪ **Avantage**

- Facilité de production.
- Peu coûteux.
- Bonne avidité (ils reconnaissent facilement antigènes) car plusieurs épitotes sont reconnus.

▪ **Inconvénients**

- Ils peuvent s'accrocher à des endroits où on ne les attendait pas (bruit de fond par «accrochage» non spécifique.
- Quantités limitées de sérum (**site internet(3)**).

➤ **Anticorps monoclonaux**

Sont des anticorps produits naturellement par une même lignée de lymphocytes B activé aux plasmocytes reconnaissant le même épitope d'antigène.

Afin de pouvoir être utilisé comme thérapie, ils sont produits grâce à une cellule issue de la fusion entre un lymphocyte B activé ou plasmocyte et une cellule cancéreuse (Myélome) appelée hybridome **site internet (**site internet(1)**)**.

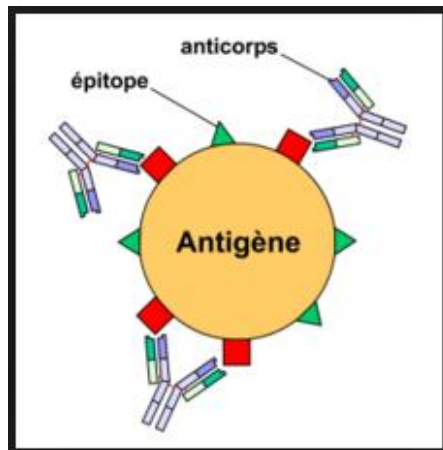


Figure n° 5 : Anticorps monoclonaux (site internet(3)).

- **Avantage**
 - Plus spécifique (grande spécificité d'épitope).
- **Inconvénient**
 - Manque d'avidité (ne reconnaît qu'un épitope de l'antigène) (**Pastoret, 1982**).

La spécificité des anticorps monoclonaux est supérieure à celle des sérums polyclonaux, mais leur sensibilité peut être inférieure (**LIBEAU et al, 1984**).

❖ **Enzymes utilisées en immunohistochimie**

C'est en 1966 que Nakane a introduit l'utilisation d'enzymes comme systèmes de révélation pour l'immunohistochimie (IHC) en microscopie optique.

Depuis les années 1970, de nombreux systèmes de détection utilisant ces enzymes couplées à des molécules amplificatrices apparaissent et permettent d'augmenter la sensibilité des techniques d'IHC. A ce jour, une dizaine de systèmes d'amplification existent. La qualité des marquages obtenue va dépendre du système utilisé (**Ventéo, 2011**).

Les enzymes utilisées comme système de révélation en IHC, doivent catalyser des réactions difficilement réversibles. Elles doivent être stables, peu coûteuses, faciles à conjuguer, sans perte d'activité et présenter une activité facilement détectable. Le substrat de ces enzymes (chromogène)

est soluble et incolore. Il doit précipiter immédiatement sur place après avoir été modifié par l'enzyme. Cette attaque enzymatique le transforme en un produit coloré, insoluble qui ne doit pas diffuser dans le tissu (**Marius al, 2011**).

Deux enzymes sont couramment utilisées en IHC : La peroxydase de raifort (POD) et la phosphatase alcaline (PAL).

Cependant, ces enzymes peuvent être présentes de façon endogène dans certains tissus biologiques et donner un signal non spécifique lors de la révélation du complexe antigène-anticorps. Il est donc nécessaire de les inhiber durant la technique d'IHC (**site internet (5)**).

- **Les peroxydases** permettent la décomposition de l'eau oxygénée (substrat de l'enzyme). Cette activité enzymatique est présente dans toutes les hémoprotéines comme l'hémoglobine (hématies), la myoglobine (cellules musculaires), les cytochromes (polynucléaires, monocytes) et les catalases (foie et rein). L'inhibition de ces peroxydases endogènes se fait par une incubation des coupes dans un bain d'eau oxygénée avant la réaction d'IHC (**Paul, 1996**).

- **Les phosphatases alcalines (PAL) endogènes** : Existents dans les tissus biologiques sous deux isoformes, les PAL intestinales et non intestinales. La forme non intestinale est présente dans le foie, le rein, l'os, le placenta, les leucocytes. Cette isoforme est facilement inhibée par du levamisole. Les PAL intestinales résistent à cette substance.

La PAL exogène utilisée comme marqueur dans les systèmes de révélation en IHC est issue de l'intestin de veau et n'est donc pas inhibée par le levamisole. L'inhibition des PAL endogènes est réalisée par addition de levamisole (1µm) au chromogène au moment de l'étape de révélation des immunomarquages. Seules les PAL endogènes non intestinales seront inhibées. Pour bloquer la forme intestinale endogène, une solution d'acide acétique à 1% peut être utilisée, avec précaution car elle peut endommager certains antigènes. Ce blocage à l'acide acétique est réalisé avant la réaction d'immunohistochimie. La fixation au formol et le traitement (déshydratation, clarification et imprégnation) des échantillons peuvent également éliminer les PAL endogènes (**site internet (6)**).

D'autres enzymes peuvent être utilisées comme système de révélation, le glucose oxydase (enzyme végétale) et la galactosidase (dérivée de bactéries). Ces deux enzymes ont la propriété de ne pas être présentes dans les tissus animaux de façon endogène mais elles sont moins sensibles que la POD et la PAL. Leur utilisation doit être réservée pour la révélation d'antigènes moyennement ou

fortement exprimés. La POD reste l'enzyme la plus utilisée en IHC, elle est retrouvée dans de nombreux systèmes d'amplification (**Marius et al, 2011**).

❖ Les différents systèmes de révélation/ amplification

A- Les systèmes non amplifiés

a. méthode directe

C'est la technique la plus simple, la réaction se fait en une étape. Le marqueur est directement conjugué à l'anticorps d'intérêt, ce système est peu utilisé en microscopie optique. Les marqueurs utilisés sont essentiellement des fluorochromes. Cette technique est appliquée pour certains diagnostics en pathologie cutanée ou rénale (**site internet (6)**).

b. Technique indirecte

En deux étapes Le marqueur est couplé à l'anticorps secondaire. Les marqueurs peuvent être des enzymes, mais cette technique est régulièrement utilisée avec des fluorochromes. C'est en 1955 que Coons a augmenté la sensibilité des méthodes d'immunofluorescence en introduisant une seconde étape. La première étape consiste à incuber l'anticorps primaire, spécifique de l'antigène d'intérêt.

Cet anticorps primaire n'est pas directement conjugué au marqueur mais il sera mis en évidence après liaison à un anticorps secondaire qui lui sera couplé à un marqueur. L'anticorps secondaire est dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce animale qui a donné les anticorps primaires

(**Ventéo, 2011**).

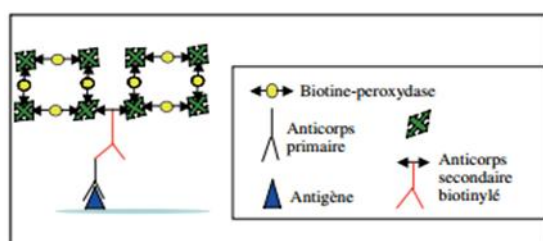


Figure n° 6 : Technique indirecte de l'IH

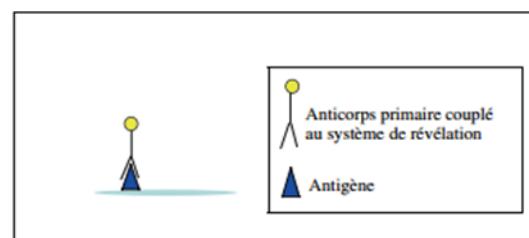


Figure n° 7 : Technique directe de l'IHC (**pluot et al, 2006**).

B- Les systèmes faiblement amplifiées

Technique PAP et APAAP : ces techniques se font en trois étapes

a. Technique Peroxydase Anti Peroxydase (PAP)

La technique PAP, développée par Sternberger, nécessite 3 anticorps différents (3). L'anticorps primaire spécifique de l'antigène à étudier est issu d'une espèce animale, lapin par exemple. L'anticorps secondaire est dirigé contre les immunoglobulines (Ig) de l'espèce animale de l'anticorps primaire (dans notre exemple anti-Ig de lapin), cet anticorps secondaire est issu d'une autre espèce animale par exemple : Chèvre, mouton, cheval, âne, etc.

Un anticorps tertiaire spécifiquement dirigé contre les peroxydases, provenant de la même espèce animale que l'anticorps primaire (dans notre exemple le lapin) va pouvoir se lier à l'anticorps secondaire qui est lui-même lié à l'anticorps primaire. Ce troisième anticorps est préalablement couplé à la peroxydase afin de former un complexe soluble, stable et cyclique, composé de deux molécules d'anticorps tertiaires combiné à trois molécules de peroxydase dont une qui est reconnue et liée par les deux anticorps tertiaires **(Sternberger, 1970)**.

b. Technique Alcaline Phosphatase Anti-Alcaline Phosphatase (APAAP)

Cette technique est basée sur le même principe que la technique PAP, l'enzyme est la phosphatase alcaline. Le complexe APAAP, correspondant aux anticorps tertiaires et à la phosphatase alcaline, n'est pas cyclique comme le complexe PAP. Il est plus facile à préparer en mettant les phosphatases alcalines en excès par rapport aux anticorps anti-phosphatase alcaline **(CORDELL and al, 1984)**.

Le complexe APAAP permet la liaison d'une quantité maximale de phosphatase alcaline sur l'anticorps tertiaire. L'amplification est légèrement plus faible que pour le système PAP, 3 peroxydases liées contre deux phosphatases par complexe. Pour augmenter la sensibilité de la technique APAAP, Masson recommande de réaliser une seconde application de l'anticorps secondaire après avoir mis une première fois le complexe APAAP, suivi d'une autre application du complexe APAAP **(Ventéo, 2011)**.

C. Les systèmes avidine-biotine ou streptavidine-biotine

Deux grandes techniques : LAB / LSAB et ABC qui nécessitent 3 étapes. L'avidine est une glycoprotéine extraite de l'albumine (blanc d'œuf), qui présente quatre sites de fixation pour une

vitamine de faible poids moléculaire : la biotine également appelée vitamine H. La biotine présente un seul site de fixation et une forte affinité de liaison non covalente pour l'avidine. La biotine et l'avidine peuvent être conjuguées à d'autres molécules comme des anticorps, des enzymes, des fluorochromes, et sont très utilisées dans différentes techniques d'IHC (**ALON, 1990**).

a. Les techniques LAB et LSAB (Labelled Avidine Biotine et Labelled Streptavidine Biotine)

L'anticorps secondaire est couplé à la biotine, il est dit biotinylé. La troisième étape correspond à l'incubation de l'avidine (ou streptavidine) couplée à des enzymes.

Un grand nombre de molécules de biotine peut être fixé sur l'anticorps et donc de nombreuses molécules d'avidine -enzyme pourront se fixer et amplifier le signal (**Marius and al, 2011**).

b. La technique ABC (Avidin Biotin Complexe)

La technique ABC est également une technique où l'anticorps secondaire est biotinylé. Le troisième réactif est un complexe d'avidine, biotine et peroxydase. Dans ce cas, l'enzyme est fixée à deux molécules de biotine. Les deux biotines ayant un seul site de fixation pour l'avidine, vont pouvoir se fixer à deux molécules distinctes d'avidine. Ces dernières ont quatre sites de fixation pour la biotine, elles n'auront qu'un seul site de bloquer et pourront donc fixer d'autres molécules de biotine qui elles-mêmes seront conjuguées au marqueur et à une autre biotine, et ainsi de suite, créant ainsi un énorme complexe d'amplification (**site internet(6)**).

D- Les systèmes avec polymères

Il s'agit d'une technique en deux étapes, incubation de l'anticorps primaire dirigé contre l'antigène d'intérêt, puis incubation de l'anticorps secondaire directement couplé au polymère sur lequel les marqueurs sont fixés. Il existe deux familles de polymères, les macropolymères et les micropolymères. (**Ventéo, 2011**).

Les macropolymères sont composés d'un squelette de dextran, molécule inerte, sur lequel des anticorps secondaires et des marqueurs sont fixés. Sur certains macropolymères une dizaine d'anticorps secondaires et 70 enzymes sont présentes par polymère.

Les micropolymères sont composés de petites molécules (acide acrylique et ses dérivés) capables de polymériser et d'emprisonner des enzymes et des anticorps sans augmenter énormément le poids et la taille du complexe, pour pouvoir pénétrer dans la cellule.

Ces micropolymères sont de plus petite taille que les macropolymères, ils pénètrent plus

facilement dans les cellules et donnent de meilleurs résultats **(Vara et al, 2006)**.

Cependant, Vyberg a observé des marquages non spécifiques dans le collagène, le muscle lisse et dans les noyaux pour les macropolymères **(Vyberg et al, 1998)**.

Pour les micropolymères, un marquage cytoplasmique non spécifique a également été reporté **(Vara et al, 2006)**.

La technique sonde-polymère est un autre système d'amplification en trois étapes. Après incubation de l'anticorps primaire, une sonde peptidique est incubée sur les coupes de tissus biologiques. Un anticorps couplé au polymère-peroxydase ira se fixer sur la sonde **(Vyberg et al, 1998)**.

E- Les systèmes à la tyramide

Egalement appelé TSA (Tyramine Signal Amplification), CARD (Catalysed Reporter Deposition), CSA (Catalysed Signal Amplification) et TBA (Tyramine Based Amplified). La clé de cette méthode de détection est un tout petit composé phénolique appelé tyramine, qui possède deux groupes réactifs et qui précipite après oxydation. La tyramine contient à une extrémité un groupement amine (NH₂), qui se lie au marqueur des systèmes de détection (biotine, fluorochrome, haptène) et à l'autre extrémité un groupement hydroxyle (OH). Quand le marqueur est couplé au groupement amine, la molécule s'appelle tyramide. En présence d'une peroxydase et d'eau oxygénée, la tyramide devient active. Son groupement hydroxyle est capable de se lier au premier groupement amine de toutes les protéines du tissu biologique et essentiellement à ceux de la tyrosine. Comme il y a un grand nombre de résidus de tyrosine autour de l'antigène, les molécules de tyramide activées vont pouvoir se lier autour de l'antigène. Les autres molécules de tyramide activées non liées au complexe antigène-anticorps, peuvent se lier entre elles et seront éliminées lors des lavages **(Burry et al, 2010)**.

F- Le système duolink® ou la technologie PLA (Proximity Ligation Assay)

Ce système met en évidence de façon spécifique une protéine ou permet d'étudier les relations entre deux protéines. Deux anticorps primaires issus d'espèces d'animaux différentes (par exemple souris et lapin) sont incubés sur les coupes tissulaires. Dans le cas de l'étude d'une protéine unique, les deux anticorps sont spécifiques à deux épitopes différents de la molécule d'intérêt. Pour l'étude

de la relation entre deux protéines, un anticorps est spécifique de la première protéine et l'autre anticorps de la deuxième protéine. Les anticorps secondaires sont spécifiques des immunoglobulines des deux espèces animales des anticorps primaires (anti-Ig de lapin et anti-Ig de souris). Ces anticorps secondaires sont couplés à un brin d'ADN de séquence unique. Un fragment d'ADN circulaire est ajouté. Les brins d'ADN des anticorps secondaires vont pouvoir s'hybrider sur l'ADN circulaire, si et seulement si, les deux anticorps sont proches l'un de l'autre (distance inférieure à 40nm). Une fois l'ADN hybridé, une ligase va lier les sondes ADN des anticorps secondaires avec l'ADN circulaire.

Une réaction d'amplification est ensuite réalisée par une polymérase. Le système est ensuite révélé par des sondes marquées (fluorochrome ou peroxydase). Cette technique est intéressante pour étudier les connexions entre deux protéines (**Brobeil et al, 2011**).

Cependant sa mise au point est complexe notamment dans le choix des anticorps primaires qui doivent avoir une affinité équivalente.

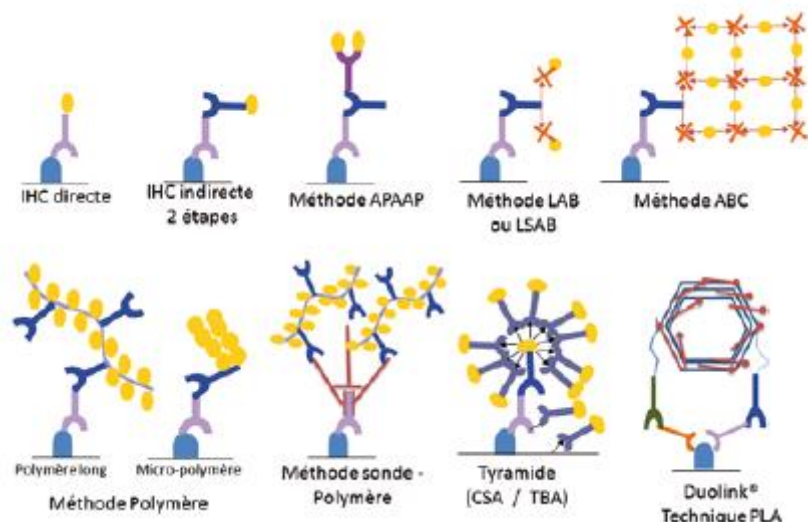


Figure n° 8 : Différents systèmes d'amplification / révélation en immunohistochimie (Ventéo, 2011)

❖ PRÉPARATION DU TISSU :

La préparation de l'échantillon de tissu revêt une importance capitale car toute manipulation inappropriée est susceptible d'altérer la structure du tissu, de réduire l'affinité de liaison de l'anticorps, voire d'empêcher totalement la liaison. L'objectif est de préserver le tissu proche de ses conditions de vie réelle tout en empêchant l'autolyse et la dégradation dues à une prolifération bactérienne ou fongique (**site internet(7)**).

On utilise des instruments bien tranchants, afin de ne pas écraser les tissus et donc d'éviter la formation d'artefacts (le Scalpel) **(site internet(1))**.

1. La fixation

En effet, le prélèvement des tissus provoque leur mort : les cellules déversent leurs enzymes, ce qui provoque une autodigestion du tissu. De plus, à l'air ambiant, les prélèvements peuvent être contaminés par des bactéries, ce qui entraîne une putréfaction des tissus **(site internet (8))**.

Les échantillons sont fixés dans du formol à 10%. La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer : quelques heures suffisent donc pour fixer les petits fragments **(Berrada, 2014)**.

▪ Intérêt :

- Immobilisation des constituants tissulaires/cellulaires
- Préviend l'autolyse cellulaire
- Préviend de la putréfaction bactérienne post-morte
- Assurer le durcissement des tissus

▪ Rôle du fixateur :

- Précipitation, polymérisation, coagulation des protéines
- Mise en place des liaisons covalentes
- Blocage des réactions enzymatiques **(site internet (9))**.

2. La déshydratation :

On passe les tissus dans des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99°, puis enfin 100°) pendant 2h de temps chacun.

L'intérêt :

Éliminer le fixateur **(Djouider et Doumandji, 2014)**.

3. Clarification

Les tissus ont tendance à s'éclaircir, cette étape est donc parfois appelée éclaircissement ou clarification.

L'intérêt de cette étape est de remplacer l'éthanol présent dans les tissus par le xylène, cet agent appartient à la famille des hydrocarbures et présente l'avantage d'être moins toxique que le toluène en plus d'être à la fois miscible à l'éthanol et la paraffine.

Les prélèvements sont introduits dans 3bains de xylène successif pendant 2 h chacun, à mesure que ce solvant remplace l'agent déshydratant, le tissu devient transparent (**Hould, 1984**).

4. L'inclusion

Pour que la lumière puisse passer à travers le tissu à examiner, celui-ci doit être très fin, or les tissus sont mous, il faut donc leur donner une consistance solide.

Le tissu est placé dans de la paraffine fondue (portée à 56/58°C), la chaleur provoque l'évaporation du solvant et sa dissolution dans la paraffine, les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine, puis la paraffine est placée dans de petits moules, à température ambiante, ce qui provoque son durcissement et donc la rigidification des fragments tissulaires prélevés (**site internet(8)**).



Figure n° 9 : Inclusion des fragments dans les cassettes (Barada, 2015)

5. Confection des coupes : La microtomie

On isole ensuite des coupes dans le bloc de paraffine, on utilise pour cela un microtome, qui fait avancer le bloc sur un rasoir, le bloc avance d'environ 2 à 3 μm à chaque fois (en MO classique, les coupes mesurent environ 5 μm).

L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire. Etalement et collage des coupes sur des lames de verre.

On chauffe sur une plaque chauffante la paraffine et ainsi la paraffine colle à la lame (**site internet(1)**).



Figure n° 10 : Microtomie (Barada, 2015)

6. Coloration des lames

Les tissus de l'organisme ne sont pas spontanément colorés, ce qui rend les observations difficiles. Les colorants utilisés en histologie sont plus ou moins sélectifs ; la plupart sont des composants acides ou basiques en milieu aqueux qui forment des sels avec les radicaux ionisés des tissus. Des composants acides sont utilisés pour les zones tissulaires basophiles, et des composants basiques sont utilisés pour les zones tissulaires acidophiles (**Site internet(8)**).

La coloration trichromique la plus utilisée est HES : hémateïne/éosine/safran. L'hémateïne est une substance plutôt basique, qui colore les noyaux en violet donc colore les acides nucléiques. L'éosine est une substance plutôt acide, qui colore plutôt les cytoplasmes (en rose) donc colore les protéines. Enfin, le safran colore les fibres de collagène en jaune.

C'est une coloration de routine permettant l'identification des caractères histologiques des tissus (**Lakri et Tayeb, 2015**).

Tableau n° 1 : étapes de la coloration d'Hématéine Eosine (site internet (1))

Réactifs	Durée
Hématoxyline de Harris	4 minutes
Lavage à l'eau sous faible débit	5 minutes
Acide-alcool (HCL 1% dans éthanol 95%) (décoloration)	1-5 bains (nombre de fois nécessaires pour décolorer au degré requis)
Lavage à l'eau sous faible débit	8 minutes
Lavage à l'ammoniaque	2 minutes
Lavage à l'eau sous faible débit	5 minutes
Éosine	2 minutes

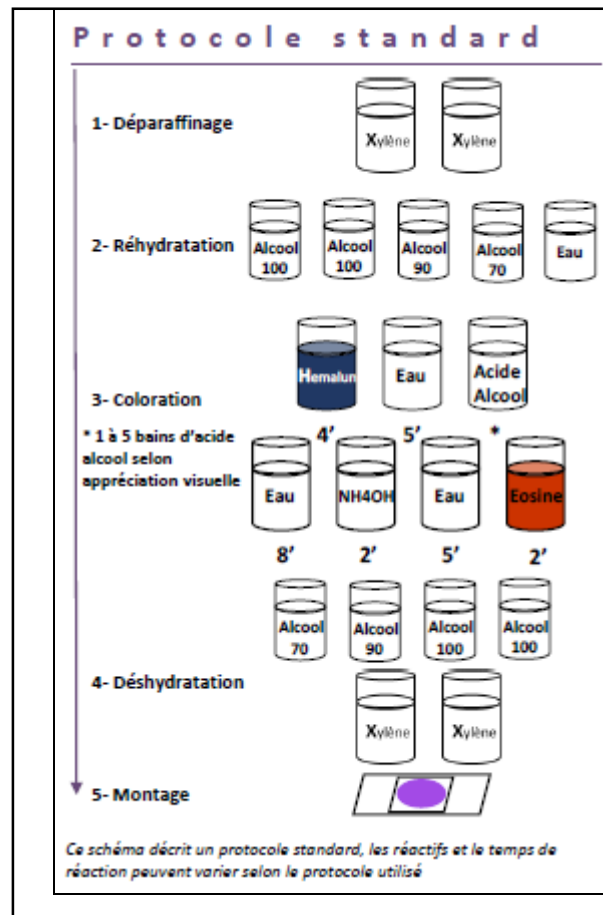


Figure n° 11 : Protocole standard de l'Hématéine éosine (site internet (1))

❖ Etude immunohistochimique

➤ Déparaffinage

Cette étape consiste à enlever la paraffine de la coupe tissulaire pour que les colorants puissent pénétrer le tissu et le colorer. Pour cela les lames sont mises dans l'étuve à 70°C pendant une heure, puis plongés dans 4 bacs de xylène et 4 bacs de l'alcool à raison de 5 min pour chaque bain, enfin l'opération se termine par un rinçage à l'eau courante **(Djouider et Doumandji, 2014)**.

➤ Réhydratation

Dans 3 bains d'alcool se mélange avec l'eau et le toluène, on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (de 100° à 70°, voire 50/40°) 3min dans chacun des deux premiers et 2 min dans le dernier **(Djouider et Doumandji, 2014)**.

➤ **Rinçage**

Un control qualité peut être effectué en relation avec l'opacité du fragment, les parties des tissus n'ayant pas subi une bonne réhydratation apparaissent translucide par rapport au reste qui paraît opaque (**Hould, 1984**).

➤ **Démasquage antigénique**

Afin de restaurer l'antigénicité de certains des épitopes et enlever l'excès du formol, nous avons utilisé la technique de démasquage antigénique classique à l'aide d'un four à micro-ondes. En fait, 02 passages (de 40 mn chacun) avec une température de 95°C et 98°C, respectivement, sont effectués avec des pH différents (pH 9 et 6, respectivement). Puis, les lames sont refroidies pendant 30 minutes à température ambiante et rincées à l'eau distillée (**Mimoune, 2016**).

L'intérêt de cette étape est de rompre les liaisons moléculaires créées par le fixateur et donc de restaurer les déterminants antigéniques qui ont été masqués par la fixation au formol (**Haouideche et Isikioune, 2014**).

➤ **Cerclage** des coupes au stylo DakoPen (Dako SA, Trappes, France) (**Mimoune, 2016**).

❖ **Réaction immunohistochimique**

• **Inhibition de la peroxidase endogène**

L'activité peroxydase endogène est inhibée pour faciliter la pénétration de l'Ac par incubation des coupes dans une solution de méthanol à 1% de peroxyde d'hydrogène (30 Volumes) pendant 30 minutes. Ce mélange a été préparé au moment de l'utilisation (**Mimoune, 2016**).

• **Equilibration de l'osmolarité**

Dans du Tampon Phosphate Salin (PBS) dilué au 1/10ème avec 0.2 g de lait écrémé en poudre à dilution instantanée avec deux gouttes de Tween 20 par litre (P7949, Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France) (**Mimoune, 2016**).

• **Blocage de la fixation non spécifique des anticorps**

Sérum normal de chèvre dilué au 1/5ème dans du PBS dilué au 1/10ème pendant 20 minutes (**Mimoune, 2016**).

•Induction d'Ac primaire

Ajouter 100 µl contenant l'Ac sur chacune des zones sélectionnées, dans un endroit sombre, pendant 40 minutes. Passage des lames dans 3 bacs contenant du PBS, et laisser agir pendant 5 minutes dans les deux derniers bacs (**Haouideche et Isikioune, 2014**).

•Induction d'Ac secondaire

Ajouter l'Ac II aire commun pour toutes les lames et laisser agir, dans un endroit sombre pendant 30 min .Rincer trois fois pendant 5 minutes dans du PBS (**Mimoune, 2016**).

• Révélation de l'activité peroxydase

Par application du chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride pendant 15 à 20 minutes (M-4293, Sigma-Aldrich, France). Puis, on rince à l'eau courante. Ce chromogène est oxydé par la peroxydase et donne un précipité brun insoluble dans l'eau et les solvants organiques (**Mimoune, 2016**).

•Contre coloration

Immerger les lames, durant 2 à 3 minutes, dans l'hématoxyline de Mayer, puis, les rincer à l'eau courante pendant 5 minutes. Ensuite, les plonger dans un bain d'eau ammoniacuée pour donner une coloration bleu aux tissus. Enfin, déshydrater et éclaircir (**Site internet(10)**).

•Montage des lames

Les lames ont été déshydratées dans des bains d'alcool de concentrations croissantes pendant 2 min pour chaque bain. Par la suite elles ont été lavées dans 2 bains de xylène pendant 2min chacun, ce qui provoque une décoloration des cytoplasmes et des tissus conjonctifs .Ensuite les lames ont été montées en utilisant un milieu aqueux Faramount (**Haouideche et Isikioune, 2014**).

A noter que dans le but de démontrer si le marquage positif observé est spécifique, différents contrôles négatifs sont réalisés pour chaque prélèvement en remplaçant l'anticorps primaire par le sérum normal de souris ou de lapin (les contrôles négatifs sont fournis par DAKO, Danemark) (**Mimoune, 2016**).

Résumé du protocole



Déparaffinage



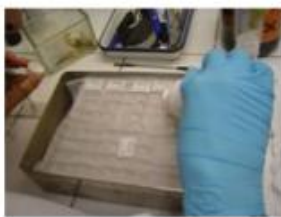
Démasquage



Crayon hydrophobe



Anticorps primaire puis
AC secondaire biotinylé



Streptavidine-
peroxydase



Substrat + DAB



Hématoxyline



Montage des lames

Figure n° 12 : Le protocole de l'immunohistochimie (site internet (3))

❖ L'AUTOMATE

La demande croissante en immunohistochimie pour le diagnostic clinique, en combinaison avec la pénurie actuelle de personnel dans le laboratoire d'histologie, a apporté un besoin d'automatisation en immunohistochimie.

Immunocoloration, cependant, était un processus manuel et complexe avec de nombreuses étapes, généralement confiée uniquement au personnel le plus concentré et le plus qualifié.

Pour assurer la qualité, la reproductibilité et la vitesse en augmentant le volume, il y avait un besoin d'automatisation qui nécessiterait des machines qui pourraient reproduire tous les étapes manuelles effectuées dans IHC, y compris tout l'acquisition de bloc de tissu et l'étiquetage de la lame à la coloration et contrôle de qualité ainsi que d'inclure des solutions d'images numériques qui aide à la livraison et à l'interprétation des diapositives. Tirer le bon bloc de tissu reste la tâche d'un humain, mais la technologie a progressé pour répondre à la plupart des étapes manuelles.

Le premier poste de travail robotisé d'IHC, était introduit dans les années 1980 par Brigati (**Jeffrey et Prichard, 2014**).

– **Avantage :**

- Les instruments offrent une surveillance des processus pour des erreurs avec des alarmes pour des événements tels que inappropriés, températures, volumes de réactifs inadéquats, ou même incorrectement réactifs sélectionnés identifiés grâce au suivi du code-barres.
- Les instruments sont moins exigeants, et ce travail peut être partagé par plus de membres du personnel.
- Les systèmes peuvent également utiliser un logiciel informatisé capable de suivre le stock de réactifs et les dates d'expiration, aidé à la gestion de l'inventaire des réactifs.

Chacun de ces avantages diminuent les exigences imposées au personnel (**Jeffrey et Prichard, 2014**).

– **Inconvénients :**

- Personnel d'IHC à l'aire de la coloration manuelle a passé des heures sans fin d'essai et erreur tentant d'optimiser les protocoles manuels, devenant très bien informé sur les processus de coloration d'IHC. L'automatisation sépare le personnel du processus de coloration grâce à la mécanisation, ce qui augmente la probabilité que la personne qui dirige l'instrumentation IHC pourrait avoir connaissance insuffisante pour le dépannage de la coloration traiter quand une tache est sous optimale.

Tout laboratoire effectuer IHC a besoin de personnel qui supervise la section IHC d'avoir des connaissances spécialisées qui suffisent à assurer le bon fonctionnement des dosages (**Jeffrey et Prichard, 2014**).

◆ **systèmes ouverts et fermés**

Les plates-formes automatisées varient dans leur flexibilité pour les variables autorisés à chacune des étapes du protocole de coloration. Cela a entraîné la conception et la description de systèmes automatisés comme ouvert ou fermé. Les systèmes ouverts automatisés sont souvent préférés dans les milieux de recherche (**Jeffrey et Prichard, 2014**).



Figure n° 13 : Automate de l'IHC (site internet(11)).

Un système de détection est ensuite utilisé pour identifier le lieu de la réaction (antigène-anticorps), ce système de détection utilise des molécules marquées qui peuvent être visualisé soit par :

- **Microscope à lumière blanche** : en utilisant des enzymes.
- **Microscope à fluorescence** : fluorochrome (Audouin et Bain, 2009)

Après l'obtention des lames, la lecture se fait à l'aide d'un microscope connecté à un appareil photo numérique. L'appareil photo numérique (Leica EC3, Singapore) doté d'une haute résolution 3.1 mégapixels et d'un zoom optique 0.55x, monté sur un microscope optique conventionnel (Leica Microsystems, DM 1000, Suisse). L'EC3 se connecte facilement à tous les ordinateurs munis d'un port USB2, ce qui permet le réglage et la mise au point d'images sur l'écran d'ordinateur. Brièvement, les surfaces nucléaires positives (le produit de réaction brun) ont été mesurées et exprimées par rapport (%) à la surface totale des noyaux de cellules (brun + bleu hématoxyline).



Figure n° 14 : Microscope optique avec caméra numérique intégrée
Service d'Anatomie Pathologique, CHU Douira, Alger (Mimoune, 2016)

- **Interprétation des résultats**

La lecture des lames traitées par l'IHC se fait par :

1. Pourcentage (Cas de kystes folliculaires chez la vache)

A partir des lames traitées par l'IHC, on note :

- Une distribution cellulaire du marquage (cytoplasmique et/ou nucléaire),
- Une proportion de cellules marquées (estimation semi-quantitative) :

Marquage ++ => > 10% mais <50% cellules positives ;

Marquage +++ => 50% cellules positives mais < 90% cellules positives ;

Marquage ++++ => 90% cellules positives ;

Marquage - => aucune cellule positive (**Mimoune, 2016**).

2. Score (Cas de cancer de sein)

Le score est déterminé selon les recommandations de l'ASCO (Wolff et al ,2007), variant du score 0 au score 3+. Pour les tumeurs ayant un score 2+, considéré douteux, une étude complémentaire par FISH (hybridation in situ par fluorescence) est nécessaire (**Barrada, 2014**).

Tableau n° 2 : score Her2 selon les recommandations de l'ASCO.

Score	Marquage	Interprétations
0	Absence de marquage ou marquage membranaire intéressant moins de 10% des cellules infiltrantes	Négatif
1+	Faible marquage membranaire intéressant plus de 10% des cellules	Négatif
2+	Marquage membranaire complet, faible à modéré, intéressant >10% de cellules ou moins de <30% avec un marquage membranaire intense et complet	Cas douteux
3+	Marquage membranaire intense de >30% des cellules	Positif

IV. Avantages et inconvénients de la technique

❖ Avantages de l'IHC

- IHC est une technique histologique utile pour préciser le type histologique d'un cancer, elle est :
 - Disponible dans le laboratoire de pathologie.
 - Accessible et de faible coût.
- IHC est une méthode complémentaire. Elle vient en aide au diagnostic. Les tumeurs bien différenciées sont faciles à identifier mais si elles ne sont pas différenciées, on doit utiliser des méthodes complémentaires. **(Site internet (12))**.
- Elle est très utile, qu'il s'agisse de maladies rares ou beaucoup plus fréquentes **(Pluot et al, 2006)**.
- En pathologie ophtalmologique, les champs d'application de l'immunohistochimie sont très étendus. En pathologie virale, l'immunohistochimie permet :
 - Des diagnostics utiles rapides en cytologie et en histopathologie
 - Des investigations tournées vers la recherche pathogénique conjointement à l'hybridation in situ et aux techniques PCR.
- En cytologie, l'immunohistochimie peut s'appliquer aux techniques de raclage ou d'empreintes conjonctivales permettant des immunomarquages, qui peuvent être complétés par

l'hybridation in situ et la PCR in situ. C'est dans les maladies virales que l'immunohistochimie a apporté les résultats les plus importants en cytologie et au niveau des tissus **(Ducasse et al, 2004)**.

- En pathologie oncologique, l'immunohistochimie est indispensable au diagnostic positif et au diagnostic différentiel et de plus en plus à la détermination de paramètres utiles au pronostic, afin de concourir à la mise en œuvre d'une stratégie thérapeutique adaptée **(Pluot et al, 2006)**.
- Cette technique a pour la localisation ultrastructurale de l'antigène, qui offre tellement pour le biologiste cellulaire **(NAKANE et PIERCE, 1967)**.
- Le rôle prédictif de l'IHC est plus récent mais montre une augmentation parallèle à la recherche de thérapie anti-tumorales ciblées spécifiques **(Cahn et al, 2006)**.
- L'IHC aide à reconnaître les différentes composantes de ces tumeurs complexes et préciser leur extension locorégionale. Les index immunohistochimiques de prolifération sont utiles au pronostic **(Ducasse et al, 2004)**.
- L'immunohistochimie permet au pathologiste de préciser son diagnostic au maximum, ce qui à son tour, donne au clinicien la possibilité de choisir le traitement optimal pour son patient **(Genton, 2006)**.

❖ Inconvénients de la technique

- La principale difficulté de l'IHC est de disposer d'un bon anticorps spécifique et pouvant atteindre son épitope sur coupe histologique.
- Parmi les lacunes de la technique, qui sont certes peu nombreux, sont un manque de permanence des préparations qui nécessitent un fluorescent microscope pour leur observation et un masquage de la fluorescence spécifique par la nature fluorescence des tissus. Ce dernier peut être gênant dans les tissus riches en tissu élastique, par exemple. Pour la localisation ultrastructurale des

antigènes tissulaires, ferritine ou métaux lourds ont été utilisés car la fluorescéine manque d'opacité électronique (**NAKANE and PIERCE, 1967**).

- Ces techniques pour la localisation ultrastructurale de l'antigène, qui offrent tellement pour le biologiste cellulaire, ne sont pas utilisées largement en raison de difficultés techniques inhérentes.
- En raison de la grande taille moléculaire de la ferritine, l'anticorps marqué à la ferritine pénètre mal les tissus et l'anticorps méta-marqué lourd a fourni une augmentation insuffisante du contraste aux sites de réactions antigène-anticorps utiles (**NAKANE et PIERCE, 1967**).
- L'immunohistochimie ne peut être utilisée sans précaution particulière, et elle nécessite parfois d'être associée impérativement à des méthodes de biologie moléculaire (**Pluot et al, 2004**).
- Les limitations de la technique sont d'ordre purement pratique, d'où l'importance cruciale d'une formation adéquate des techniciens dans la manipulation et l'utilisation des anticorps d'une part, et d'une expérience minimale du pathologiste dans l'interprétation des images d'autre part (**Genton, 2006**).
- Dans certains cas, elle doit être associée à des méthodes de biologie moléculaire. Même si les automates apportent une standardisation très utile dans le déroulement des différentes étapes techniques.
- Les limites restent représentées par une méthodologie rigoureuse depuis la réception du prélèvement jusqu'à l'interprétation des préparations. Une bonne communication entre ophtalmologistes et anatomopathologistes est le meilleur garant des résultats (**Cahn et al, 2004**).

Partie Pratique

I. Objectif

Le but de notre travail était d'enquêter sur l'utilisation de la technique et voir son statut en Algérie en médecine humaine et surtout en médecine vétérinaire.

II. Matériel et Méthode

Cette enquête a été réalisée à partir d'un questionnaire, destiné aux hôpitaux et laboratoires privées dans la willaya d'Alger de mois de Mars à mois d'Avril 2018.

Le choix des hôpitaux et les laboratoires est selon la disponibilité de la technique d'immunohistochimie.

Parmi les hôpitaux choisis :

- ◆ **Hôpital Mustapha Bacha** ou centre hospitalo-universitaire Mustapha Bacha d'Alger fondé en 1854 dans la commune de Mustapha (devenu Sidi Mohamed) est le plus grand hôpital en Algérie (Site internet(13)).
- ◆ **CPMC** : centre Pierre et Marie Curie est un établissement de santé publique Algérois situé à Sidi Mhamed (Alger) spécialisé en cancérologie, le 16 novembre 1959 est inauguré comme le premier établissement de santé en Algérie destiné à la prise en charge de la pathologie cancéreuse appeler CAC (centre anticancéreux). La dénomination de CPMC fait référence à deux grandes figures de science médical Pierre et marie Curie en hommage de leurs travaux et découvertes (site internet(14)).
- ◆ **Hôpital Issad Hassani** : CHU situé sur la commune de Beni Messous dans la Willaya d'Alger (site internet(15)).

Deux autres questionnaires étaient déposés au niveau de deux laboratoires d'Anatomie pathologique privé d'Alger.

❖ Description questionnaire

Un simple questionnaire était distribué au niveau des services d'Anatomie pathologique des

CHU et les laboratoires privés qui basent essentiellement sur :

- L'Année d'introduction de l'IHC au niveau des laboratoires d'Anatomie pathologique.
- Le but de l'utilisation et les motifs de demande.
- Les filières qui utilisent cette technique et sa disponibilité.
- Le type d'échantillon reçu.
- Les avantages et les inconvénients de la technique.

❖ L'exploitation de questionnaire

Après l'obtention des questionnaires distribués, nous les avons classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités (cités précédemment). Les résultats ont été traités par l'Excel.

Une copie de ce questionnaire est présentée dans l'annexe.

III. Résultats et discussion

Cinq questionnaires distribués aux institutions médicales, ont été récupérés. Toutefois, nous avons remarqué dans quelques-uns des réponses vides.

1. Année d'introduction de l'IHC

Le tableau ci-dessous montre les différentes années d'introduction de l'IHC au niveau des structures visitées.

Tableau n° 3 : Années d'introduction d'immunohistochimie

Structure	Année
CPMC	1980
CHU Beni Messous	2004
Laboratoire privé 1	2008
Laboratoire privé 2	2011

D'après le tableau 3, on a constaté que l'IHC était mise en place pour la première fois en Algérie au niveau de CPMC en 1980, c'est après 20 à 24 ans que les autres structures ont commencé à utiliser cette technique. En référence à la bibliographie, l'IHC est utilisée pour la première fois dans le monde en 1942 (Coons et al, 1942).

2. But d'utilisation d'IHC

D'après les responsables des structures qu'on a visitées, le but de l'utilisation de l'IHC est de diagnostiquer et typer des tumeurs.

Ces résultats sont en accord avec celles apportées par la littérature (Pluot et al, 2006).

3. Motifs des demandes

Selon les différents anatomopathologistes les motifs de visite et d'envoi des demandes à leurs services sont variés. Le tableau ci-dessous montre les différents motifs des demandes reçus.

Le tableau n° 4 : Les différents motifs de visite aux services

Les CHU	Les laboratoires privés
- Tumeurs de sein - Kystes - Tumeur de foie - Tumeur d'appareil génital - Tumeur de cerveau - Tumeur de colon - Tumeur d'estomac	- Tumeur de sein - Les kystes

D'après le tableau, on a constaté que les tumeurs traitées par les labos privés sont basés beaucoup plus sur : les kystes ; les tumeurs de seins.

Par contre les hôpitaux tels que CPMC et Mustapha traitent en plus des tumeurs citées précédemment d'autres tumeurs : Appareil génital, foie, cerveau, colon, estomac etc.

4. Types de tumeurs dominantes

Le tableau suivant présente les types des tumeurs dominantes traitées au niveau des structures visitées.

Tableau n° 5 : Les différentes tumeurs dominantes

Structure médicale	Laboratoire privé 1	Laboratoire privé 2	CPMC
Tumeur dominante traitée	Sein Colon	Sein Col utérin	Sein

D'après les résultats de tableau 3, une dominance de cancer de sein par rapport aux autres types de tumeurs traités par cette technique ce qui convient avec celles apportés par Sahraoui et al (2016) qui confirme que le cancer de sein est le plus fréquent en Tunisie et dans le monde entier.

En parallèle le laboratoire privé (1) mentionne en plus de cancer de sein le cancer de colon sachant que ce dernier est le troisième cancer le plus fréquent dans le monde, c'est également la deuxième cause de décès par le cancer en France (site internet(17)).

Hors que le laboratoire privé (2) a mentionné en plus une codominance de tumeur de col utérin, ce dernier est classé en deuxième place dans le monde avec une diminution de nombre de cas annuel détecté grâce à l'extension de dépistage par frottis (Site internet(18)).

5. Utilisation de l'IHC par les filières médicales

Les résultats obtenus montrent que les demandes traitées sont de la part des médecins humains beaucoup plus que les biologistes et les vétérinaires.

Parmi les cinq résultats obtenus, un seul laboratoire privé était contacté par un vétérinaire pour diagnostiquer des tumeurs chez les petites espèces, en parallèle, on a fait des recherches sur

l'utilisation de l'IHC en médecine vétérinaire en Algérie où on a trouvé un docteur vétérinaire qui l'a utilisé pendant sa recherche, Mimoune (2016) a étudié par l'IHC les kystes ovariens chez la vache.

Par contre, une disponibilité de l'IHC dans le service d'Anatomie pathologique dans des facultés de médecine vétérinaire telle que la faculté de Liège (Site internet(18)).

6. Critères de l'IHC

Les Anatomopathologistes se mettent tous d'accords sur la disponibilité de la technique mais pas sur son coût et sur sa pratique, les figures ci-dessous montrent les résultats obtenus.

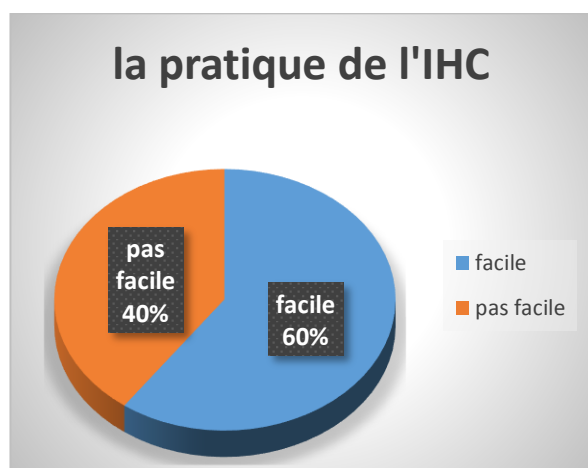


Figure n° 15 : la pratique de l'IHC

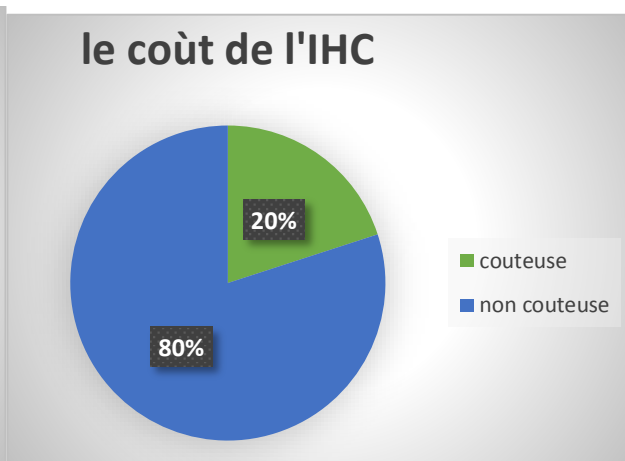


Figure n° 16 : le coût de l'IHC

D'après les résultats de la figure 1, la majorité des responsables voient que l'IHC est une technique facile, ce résultat est en accord avec celui apporté par la littérature (site internet).

Selon la figure 2, 80% des résultats obtenus confirme que l'IHC est une technique non couteuse, et cela concorde avec de Dagenais (2008) (Haouideche et Isikioune, 2014)

7. Conditions d'acceptation de la demande

Une variabilité des réponses par rapport aux conditions nécessaires à l'acceptation des demandes à traiter entre :

- Acceptation seulement des malades de service (CPMC)
- Disponibilité des anticorps (laboratoire privé)
- La majorité se met d'accord sur l'absence des conditions particulières

8. Démarches suivies dès la réception des prélèvements

Les démarches suivies dès la réception des échantillons sont celles de la technique standard :

- L'enregistrement des prélèvements
- L'examen macroscopique
- Fixation-inclusion-coupe
- L'Hématoxyline éosine
- L'IHC si nécessaire

Les résultats obtenus sont conformément à celles apporté par la bibliographie (Haouideche et Isikioune, 2014).

9. Types de prélèvements reçus

Le tableau suivant montre les différents types de prélèvement reçus par les structures visitées

Tableau n° 6 : le type de prélèvement reçu

Structure	Les laboratoires privés	Les CHU
Type de prélèvement	Biopsie	Biopsie Pièces chirurgicale Examen extemporané

D'après le tableau n° 4, on a constaté que les laboratoires privés reçoivent que des échantillons

de biopsie hors que les CHU reçoivent en plus des biopsies des pièces chirurgicales et ils font des examens extemporanés.

Remarque : Examen extemporané est un examen anatomopathologique réalisé le plus souvent au cours d'une intervention chirurgicale dans le but de fournir un résultat au moins de 30 min).

10. Systèmes d'amplification

Les différents systèmes d'amplification utilisés par les structures visitées sont :

- ♦ Streptovidine
- ♦ LAB (Labelled Avidine Biotine)

D'autres auteurs ont cité d'autres systèmes en plus comme :

- ♦ ABC (Avidin Biotin Complexe)
- ♦ APAAP (Alkaline Phosphatase Anti-Alkaline Phosphatase)
- ♦ PAP (Peroxydase Anti Peroxydase) (Ventéo, 2011).

11. Condition nécessaire pour un meilleur résultat

L'ensemble des responsables des laboratoires visités voient qu'une meilleure interprétation des résultats nécessite le respect de :

- Protocoles de la technique.
- Délai de chaque étape.
- Date de péremption des réactifs.

Selon notre enquête la majorité des responsables estiment un taux d'erreur de 0%, rejoignant ce qui a été apporté par Cahn et al (2004).

12. Rôle de l'IHC dans le traitement adapté

L'ensemble des responsables ont confirmé que après les résultats d'IHC, le traitement adapté a permis d'améliorer le pronostic et soulager les patients.

Ce résultat obtenue est en accord avec celui de Cahn et al (2006) et selon d'autre auteur, l'IHC est indispensable au diagnostic différentiel et de plus en plus à la détermination de paramètre utile au pronostic (Pluot et al, 2006).

13. Nombre de demande traitée par jour

La figure n° 12 ci-dessous montre le nombre de demande traitée par jour au niveau des différentes structures visitées.

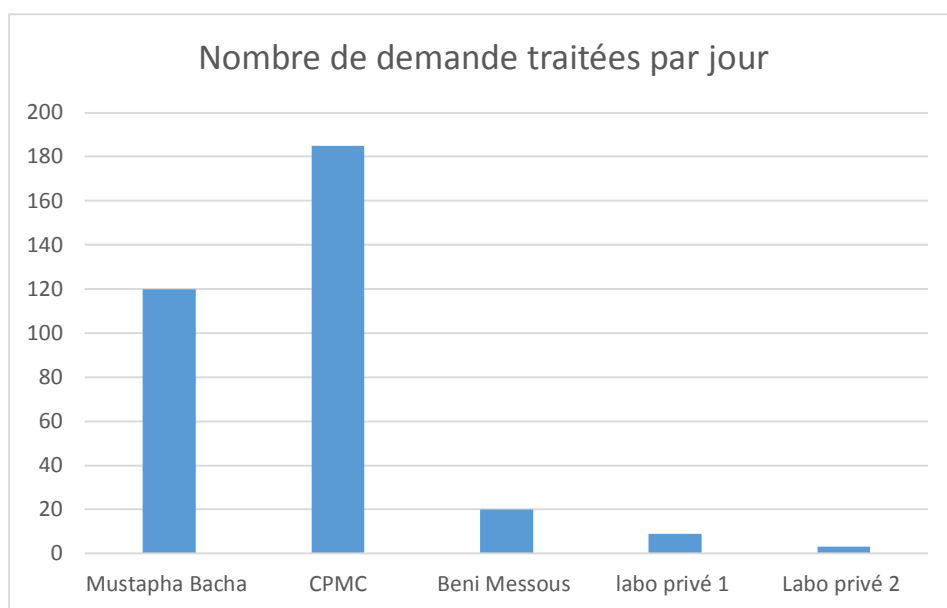


Figure n° 17 : Nombre de demande traitées par jour

Les résultats obtenus montrent que les CHU reçoivent le grand nombre de demandes pour les traiter par jour par rapport aux laboratoires privés.

On peut accorder cette divergence des résultats à l'importance de ces CHU au niveau national d'une part et d'autre part à la diversité des prélèvements reçus (Biopsie, pièce chirurgicale, examen extemporané).

14. Difficultés de l'IHC

La majorité des responsables ont rapporté la présence de difficultés lors de manipulation de l'IHC qui se résument dans les points suivants :

- Manque de matériel
- Toxicité des produits

- Les capacités cancérogènes des produits utilisés

Certains auteurs sont en accord que les difficultés d'IHC sont purement pratiques (Genton, 2006).

15. Durée de traitement des prélèvements

D'après notre étude, la durée de la remise des résultats depuis la réception des différents prélèvements par les structures visitées varie entre 7 jours et 10 jours au maximum dans tous les cas.

Vue l'importance et la gravité de la maladie, il est nécessaire de minimiser le temps de la remise des résultats.

16. Disponibilité et l'avantage de l'automate

Notre enquête confirme la disponibilité de l'automate au niveau de l'ensemble des structures visitées et ses avantages cités par les différents responsables sont :

- Efficacité.
- Rapidité.
- Exactitude.
- Protection du personnel.

Les avantages de l'automate cités précédemment conviennent avec ceux apportés par Jeffrey et Prichard (2014).

Remarque

La présence de deux types d'automates au niveau des laboratoires d'anatomie pathologie qu'on a visités (Hôpital Mustapha Bacha) :

- **Automate à circuit ouvert** : Son avantage est la possibilité d'ajouter des lames à fur et à mesure que certains lames sont en cours.
- **Automate à circuit fermé** : Son inconvénient est l'impossibilité d'ajouter des lames après un démarrage de la procédure de la technique

17. Techniques associées à l'IHC

Conformément avec ce qui a été apporté par la littérature (Pluot et al, 2006) les deux techniques qui peuvent être associées à l'IHC sont :

- PCR
- Hybridation in Situ

IV. Conclusion et recommandation

L'IHC est une technique moderne, sert à détecter des antigènes à l'aide des anticorps marqués sur des coupes histologiques. Elle permet une progression considérable dans l'étude de la cancérologie et apporte des données précieuses, dont certaines sont actuellement indispensables. Elle aide le clinicien à adopter un traitement adéquat.

Elle est très utilisée en Anatomie pathologique en Algérie surtout en médecine humaine et même en biologie. Par ailleurs, un manque de connaissance de cette technique par la majorité des vétérinaires et l'absence de sa disponibilité dans les laboratoires d'anatomie pathologie de la médecine vétérinaire en Algérie pose un problème.

Sauf une minorité de vétérinaires ont pu utiliser cette technique pendant leurs travaux :

Mimoune (2016).

Par contre, d'autres universités mondiales de filière vétérinaire marquent la disponibilité de cette technique dans leurs laboratoires tels que l'université de Liège.

La mal connaissance de cette technique est due à l'absence de l'étude de cette dernière dans le cursus universitaire vétérinaire en Algérie d'où la nécessité d'intégration d'immunohistochimie dans le programme de la médecine vétérinaire.

Références bibliographiques

ALON R., BAYER E.A., WILCHEK M.: streptavidine contains a ryD sequence, which mimics the rGD receptor domain of fibronectin. *Biochem. Biophys. res. Commun.*, 1990, 170, 1236-1241 **(02/03/2018)**.

AVANTAGES, INCONVENIENTS ET OPTIMISATION. *Rev. Fr. Histotechnol.*, 2011, **24**, n°1, p. 114 à 127 **(19/02/2018)**.

BERRADA GHITA, 2015 : Immunohistochimie en pathologie cancéreuse, rapport de projet de fin d'étude ; Université Sidi Mohamed Ben Abdallah**(17/08/2017)** .

BOUHADEF ET AL, 2006 ; LAKARI ET CHAHRAZED, 2015 : Expression du gèneMDM2 dans les différents types de sarcomes révélée par l'immunohistochimie Pfe de master, Faculté de biologie Houari Boumediene **(28/02/2018)**.

BOUHADEF. A, ASSELAH.F, BOUDRICHE. A, CHAOUL.N, BENSERAI.Z, KADDOURI-SLIMANI & collaborateurs : Cytopathologie de dépistage des précurseurs et du cancer du col de l'Utérus., Mars2006 **(11/03/2018)** .

BURRY R.W.: A practical guide for biomedical research. Springer, New york, 2010 **(14/03/2018)**.

COONS A.H., LEDUC E.H., CONNOLLY J.M., 1955: Studies on antibody production.

Coons, A.A., et al. 1942 : Immunohistochemistry (IHC) vs. Immunocytochemistry (ICC) ; *J Immunol* 45, 159-170 **(20/02/2018)**.

CORDELL J.L., FALINI B., ERBER W.N., GHOSH A.K., ABDULAZIZ Z., MAC DONALD S., PULFORD K.A.F., STEIN H, MASON D.Y.: Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J. Histochem. Cytochem.* 1984, 32, 219222 **(17/03/2018)** .

CY GENTON, 2006 : L'immunohistochimie : Son principe, ses applications et ses limites. *Clinics in Mother and Child Health* Vol. 3(1) 2006: 477-481 **(06/02/2018)**.

DJOUIDER. A, DOUMANDJI. Z ; 2014: Mise en évidence de l'expression de EGFR par immunohistochimie et détection des mutations activatrices par PCR en temps réel dans le cancer bronchopulmonaire,PFE,Université des science et de de la technologie Houari Boumédiène **(01/03/2018)**

HAOUIDECHE. R, ISIKIOUNE. R; 2013: Apport des techniques immunohistochimique et d'hybridation in situ (CISH) dans l'évaluation du statut HER2 dans le cancer du sein, PFE,Université des science et de de la technologie Houari Boumédiène biologie Houari **(03/01/2018)** .

HOULD, 1984 ; LAKARI ET CHAHRAZED ; 2015 : Expression du gèneMDM2 dans les différents types de sarcomes révélée par l'immunohistochimie Pfe de master, Faculté de biologie Houari Boumédiène **(10/03/2018)**.

I: a method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. Exp. Med.* 1955, 102, 49-60 **(10/02/2018)**.

JEFFREY W. PRICHARD, DO: *Arch Pathol Lab Med*—Vol 138, December 2014 Overview of Automated Immunohistochemistry—Prichard **(10/03/2018)**.

LAKARI. Y, TAYEB. C ; 2015 : Expression du gène MDM2 dans les différents types de

sarcomes révélée par l'immunohistochimie, PFE de master ; Université des sciences et de de la technologie Houari Boumédiène biologie Houari (10/10/2017) .

MARTOJA et RACADOT, [S.D] : Tissus animaux ; Encyclopædia Universalis (13/03/2018).

Matos LL¹, Trufelli DC, de Matos MG, da Silva Pinhal MA., 2010 : Immunohistochemistry as an important tool in biomarkers detection and clinical practice (03/03/2018).

Mimoune. N 2016 : Etude des kystes ovariens chez la vache en Algérie. Thèse de doctorat d'état soutenue publiquement à l'institut vétérinaire Saad Dahlab Blida1 (03/03/2018) .

PASTORET1982: Histologie and immunohistochemistry of bronchus associated lymphoid tissue (BALT) in the rat. In the vivo immunology. Histophysiology of the lymphoid System (eds Neiuwenhuis, P., van den Broek, A.A., Hanna, M.G.), pp.491-497. Plenum Press, New York/ London (09/03/2018).

PAUL K. NAKANE and G. BARRY PIERCE, JR. 1967 : enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. The journal of cell biology "volume 33, 1967 (21/02/2018).

Pluot. M, Cahn. V, Ducasse. A, 2006 : immunohistochimie en anatomie pathologique ophtalmique : intérêt et limites. J. Fr. Ophtalmol., 29,8 : 946-956 (02/02/2018).

Rouquette, 2015 : L'immunohistochimie la FISH et autres ISH pour Cours du GOLF Strasbourg Novembre 2015 Dr I Rouquette (16/03/2018).

SIOU. G et DIAZ. J 1989 : coloration tétrachromique pour l'examen du pancréas endocrine (10/03/2018)

STERNBERGER L.A., HARDY P.H., CUCULIS I.J., MAYER H.G.: The unlabeled antibody – enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-anti- horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J Histochem Cytochem. 1970, 18(5), 315-333 (13/03/2018).

VENTEO. L, 2011 : Les différents systèmes d'amplification en immunohistochimie :

VOIGT. J, SELVES.J, DELSOL. G, 1993: Immunohistochemistry in gastrointestinal pathology. Service d'Anatomie Pathologique, C.H.U Purpan, F-31059 Toulouse Cedex (France) ; Volume 23 - N ~ 4 – 1993 (15/05/2018).

VYBERG M, NIELSEN S.: Dextran Polymer Conjugate Two-step Visualization system for Immunohistochemistry: A Comparison of EnVision+ with Two Three-step Avidin-Biotin Techniques. Appl. Immunohistochem, 1998, 6, 3-10 (03/03/2018) .

ZINEB TAHARI, 2008 : Etude histopathologique et immunohistochimique des cancers mammaires, Projet de Fin d'Etude Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella (01/03/2018) .

Les sites d'internet :

Site internet1 : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Immunohistochimie> (03/03/2018)

Site internet2 : <https://www.letemps.ch/sites/default/files/media/2014/02/18/2.1.2863377880.pdf>
(02/03/2018)

Site internet3 : <http://www.chups.jussieu.fr/> (05/09/2017)

Site internet4 : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Anticorps> (14/03/2018)

Site internet5 : <http://crn2m.univ-mrs.fr/?lang=fr> (05/01/2018)

Site internet6 : <https://www.academia.edu/> (08/04/2018)

Site internet7 : <https://www.anticorps-enligne.fr/resources/17/1216/immunohistochimie-ihc/>
(07/03/2018)

Site internet8 : <http://www.poly-prepas.com/> (03/10/2017)

Site internet9 : <http://fac.umc.edu.dz/> (03/06/2017)

Site internet10 : http://users.skynet.be/Champignons_passion/Hemalun.pdf (03/11/2017)

Site internet 11 :

<https://int.search.tb.ask.com/search/GGmain.ihtml?searchfor=%3A+http%3A%2F%2Fwww.medicalexpo.com%2Fprod%2Fbiogenex-laboratories%2Fproduct-67808-429955.html&enableSearch=true&rdrct=no&st=sb&tpr=omni&p2=%5EBXM%5Exdm018%5ES24519%5Edz&ptb=E2D95A3C-1494-47E4-968C-332028851A8B&n=783ab0f5&si=%22%22>

(03/10/2017)

Site internet12 : <https://carabinsnicois.fr/phpbb/> (03/08/2017)

Site internet13 : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Sidi_M%27Hamed_\(Alger\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Sidi_M%27Hamed_(Alger)) (23/03/2018)

Site internet14 : https://fr.wikipedia.org/wiki/Centre_Pierre-et-Marie-Curie (13/03/2018)

Site internet15 : <http://www.alger-city.com/ville/sante/chu-issad-hassani-a-beni-messous>
(03/02/2018)

Site internet16 : http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/cancer_colon.htm
(04/04/2018)

Site internet17 : <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/contents/131-cancer-du-col-de-l-uterus-causes-symptomes-et-traitement> (15/03/2018)

Site internet18 : http://www.fmv.uliege.be/cms/c_5000/fr/accueil (03/02/2018)

Annexe



Questionnaire sur la technique de l'immunohistochimie en Algérie

En vue de faire une enquête sur la technique de l'immunohistochimie en Algérie, dans le cadre de réaliser un PFE, priez-vous Mme/Mlle/Mr de répondre à ces questions svp.

Nom de l'hôpital / le laboratoire :

1. En quelle année la technique de l'immunohistochimie a été introduite au niveau de votre laboratoire ?

—

2. Pourquoi vous l'avez utilisée ?

—

3. Quels sont les motifs de visite et d'envoi à ce service ?

—

4. Quelles sont les tumeurs dominantes traitées par votre laboratoire ?

—

5. Quelles sont les filières qui vous demandent une étude immunohistochimique ?

—

6. Comment est cette technique :

➤ disponible dans les laboratoires ? ☐ Oui ☐ non

➤ Couteuse ? ☐ Oui ☐ non

➤ Facile ?

☐ Oui ☐ non

7. Quelles sont les conditions nécessaires pour l'acceptation des demandes ?

—

8. Quelles sont les démarches suivies dès la réception des prélèvements ?

—

9. Quels sont les types de prélèvement reçu par votre laboratoire ?

—

10. Quels sont les systèmes d'amplification utilisés au niveau de votre laboratoire ?

—

11. Quelles sont les conditions nécessaires pour un meilleur résultat ?

—

12. Est-ce que les résultats obtenus par l'IHC permettent d'adapter un traitement et soulager les patients ?

☐ Oui ☐ non

13. Combien de demande traitez-vous par jour ?

—

14. quelles sont les difficultés de l'IHC ?

—

15. De combien estimez-vous la durée entre la réception des prélèvements et la remise de résultat ?

—

16. Est-ce que l'automate est disponible dans votre laboratoire ? ☐ Oui ☐ non

Quel est son avantage ?

—

17. Ya-il des techniques qui peuvent être associées à l'IHC pour compléter l'étude des prélèvements reçus ? ☐ Oui ☐ non

Si oui, lesquelles ?

—

Merci pour votre aide

Résumé

L'objectif de ce présent travail était de faire une enquête sur la technique de l'immunohistochimie (IHC) en Algérie afin de connaître son statut en médecine humaine et médecine vétérinaire.

Cette enquête a été réalisée à partir d'un questionnaire destiné aux hôpitaux et laboratoires privés de Wilaya d'Alger.

D'après les résultats, l'immunohistochimie est une technique introduite en Algérie pour la première fois en 1980 au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique de centre Pierre et Marie Curie (CPMC). Cette technique est très demandée par les médecins pour diagnostiquer les tumeurs, surtout le cancer de sein. Les services d'anatomie pathologique reçoivent différents prélèvements : biopsie, pièces chirurgicales et au niveau des hôpitaux, ils font des examens extemporanés. Le nombre de lames traitées peut atteindre 185 lames par jour.

Encore, il y a une disponibilité de l'automate qui offre plusieurs avantages comme la rapidité et un taux d'erreur de 0%. L'IHC permet au clinicien d'adapter le meilleur traitement et améliorer le pronostic. La durée de la remise des résultats de l'IHC est entre 7 à 10 jours avec une possibilité de compléter l'analyse des prélèvements par la PCR et l'hybridation in situ.

Bien que l'IHC soit très utilisé en médecine humaine mais elle est peu utilisée en médecine vétérinaire en Algérie.

ملخص

الهدف من العمل الحالي هو إجراء تحقيق حول تقنية الكيمياء المناعية في الجزائر من أجل معرفة مجالات استخدامها في الطب البشري والطب البيطري. تم إجراء هذا الاستبيان على مستوى المستشفيات والمختبرات الخاصة في ولاية الجزائر. وفقاً للنتائج تم استخدام التقنية لأول مرة عام 1980 في مختبر علم التشريح المرضي لمركز بيبير وماري كوري. هذه التقنية مطلوبة بشكل كبير من قبل الأطباء لتشخيص الأورام وخاصة سرطان الثدي. تتلقى أقسام التشريح المرضي عينات مختلفة: الخزعة، الأجزاء الجراحية يمكن أن تقوم المستشفيات بإجراء فحوصات سريعة. يمكن أن يصل عدد الشرائح المعالجة إلى 185 شريحة في اليوم. توفر جهاز وحدة التحكم في المخبر يتيح العديد من المزايا مثل السرعة ومعدل خطأ يقدر بـ 0%. تتيح هذه التقنية للطبيب تكهن أفضل علاج وتتراوح مدة تقديم النتائج ما بين 7 إلى 10 أيام مع إمكانية استكمال تحليل العينات بواسطة تقنيتي التهجين في الموقع وتفاعل البلمرة المتسلسل. على الرغم من استخدام هذه التقنية على نطاق واسع في الطب البشري إلا أنها قليلة الاستخدام في الطب البيطري.

Summary

The objective of this present work was to investigate the immunohistochemistry (IHC) technique in Algeria in order to know its status in human and veterinary medicine. This survey was conducted from a questionnaire intended for hospitals and private laboratories of Wilaya of Algiers. According to the results, IHC is a technique introduced in Algeria for the first time in 1980 at the pathology anatomy laboratory of Pierre and Marie Curie Center (CPMC).

This technique is in great demand by doctors to diagnose tumors, especially breast cancer. Departments of pathological anatomy receive various samples: biopsy, surgical parts and at the hospital level, they perform extemporaneous examinations. The number of treated slides can reach 185 slides per day. Again, there is an availability of the controller that offers several advantages such as speed and an error rate of 0%. IHC allows the clinician to adapt the best treatment and improve the prognosis. The duration of the submission of the IHC results is between 7 to 10 days with the possibility of completing the analysis of the samples by PCR and in situ hybridization. Although IHC is widely used in human medicine, it is little used in veterinary medicine in Algeria.