

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Guealia Amel & Hadjouti Ahlem

Thème

*Etude in vitro de L'effet du bevacizumab et trastuzumab sur
la viabilité de la larve hydatique
Echinococcus granulosus*

Soutenu le : 04/ 07/ 2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mm. Hamid.S</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mm. Bouteldja.R</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mr.labdiri.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2018/2019

Table des matières

Remerciements	3
Dédicace	10
Liste des figures	11
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	11
Introduction	12

Chapitre I : L'échinococcose kyste

I. C'est quoi L'hydatidose.....	1
I.1 Définition.....	1
I.2 Taxonomie :.....	1
I.2.1 Echinococcus granulosus granulosus (G1).....	2
I.2.2 Echinococcus granulosus equinus (G4):.....	3
I.2.3 Echinococcus granulosus canadensis (G6–G8 et G10) et borealis :.....	3
II. Répartition géographique de kyste hydatide.....	3
II.1 A l'échelle mondiale :.....	3
III. Parasitologie du kyste hydatique:	4
III.1 Description morphologique	4
III.1.1 La forme adulte chez le chien	4
III.1.2 La forme ovulaire à l'extérieure	5
III.1.3 La larve chez l'hôte intermédiaire.....	5
IV. Anatomopathologie du kyste hydatique:	6
IV.1 La structure du kyste hydatique.....	6
IV.1.1 L'adventice :.....	6
IV.1.2 La membrane ou cuticule anhiste.....	6
IV.1.3 La membrane proligère ou membrane germinative	6
IV.1.4 Les vésicules proligères (300 à 800 µm).....	6
IV.1.5 Les vésicules filles endogènes.....	6
IV.1.6 Les vésicules filles exogènes.....	7
IV.1.7 Le liquide hydatique.....	7
IV.1.8 Le sable hydatique.....	7

V. Le cycle parasitaire.....	8
V.1 Le cycle naturel	9
VI. L'aspect clinique de l'échinococcose kystique.....	10
VI.1 Symptomatologie.....	10
VI.2 Diagnostic des échinococcoses.....	11
VI.2.1 Le diagnostic clinique et morphologique de l'hydatidose	11
VI.2.2 Diagnostic biologique	11
VI.3 Traitement d'échinococcose kystique/hydatidose (EK).....	11
VI.4 L'immunité	12
VI.5 Prophylaxie.....	12
II.2 Méthodes et techniques d'analyse	23
II.2.1 Le test de fertilité	26
Chapitre II: les anticancéreux	
I. Histopathologie de cancer	13
II. Le traitement anticancéreux	14
II.1 Les anticorps monoclonaux	14
II.1.1 Définition	14
II.1.2 Structure	14
II.1.3 Les différents types d'anticorps	15
II.2 Les anticorps monoclonaux en cancérologie.....	16
III. Cible thérapeutique	16
III.1 Facteur de croissance et récepteur au facteur de croissance.....	16
III.2 Anticorps monoclonaux ciblant les tumeurs solides	17
III.2.1 Trastuzumab : (Herceptin®)	17
III.2.1.1 Définition	17
III.2.1.2 Mécanisme d'action	17
III.2.2 Bevacizumab (Avastin®).....	19
III.2.2.1 Définition	19
III.2.2.2 Mécanisme d'action	19

Chapitre III : matériels et méthodes

I. Le matériel.....	20
I.1 Obtention de kyste hydatique	20
I.2 Le matériel utilisé pour les activités de terrain.....	21

I.3	Réactifs	21
II.	Techniques de préparation des coupes histologiques	23
II.1	Matériels	23
II.1.1	Matériel non biologique	23
II.1.1.1	Appareillage.....	23
II.1.1.2	Réactifs	23
II.1.1.3	Verrerie et accessoires	24
II.1.2	Matériel biologique	25
II.1.2.1	Le milieu de culture	25
II.1.2.2	Le kyste hydatique.....	25
II.2	Méthodes et techniques d'analyse	25
II.2.1	Le test de fertilité et de la viabilité des parasites du liquide hydatique.....	26
II.2.1.1	Examen de la fertilité des kystes hydatique.....	26
II.2.1.2	Test de viabilité des protoscolex	26
II.2.1.3	Etude microscopique des protoscolex	27
II.2.2	Histologie des kystes hydatiques.....	27
II.2.2.1	Le prélèvement	27
II.2.2.2	Mise e culture les fragments kystiques.....	27
II.2.2.3	La fixation des pièces dans le formaldéhyde 4%	29
II.2.2.4	Déshydratation et éclaircissement	29
II.2.2.5	Inclusion (Enrobage)	31
II.2.2.6	Confection des coupes	31
II.2.2.7	Étalement	32
II.2.2.8	Déparaffinages et hydratation.....	32
II.2.2.9	Coloration	32
II.2.2.10	Déshydratation	33
II.2.2.11	Montage des lames.....	33
II.2.2.12	Observation microscopique	34
1.5.1.1	Avastin® (500µM)	47
1.5.1.2	Herceptin® (106µM).....	47
1.5	Effet in vitro des anticancéreux (Herceptin® et Avastin®) sur les protoscolex observés sous microscope optique.....	48
1.6.1	Avastin® 500µM.....	48

Chapitre VI : résultat et discussion

1	Résultat	35
1.1	Analyse d'une pièce d'exérèse	35
1.2	Observation microscopique de fragments de kyste hydatique	35
1.3	Études Histologies du kyste hydatique de foie	35
1.3.1	Étude histologie de paroi de kyste hydatique non traité par les anticancéreux	35
1.3.2	Étude histologie de paroi de kyste hydatique traité par les anticancéreux	36
1.3.2.1	Avastin®	36
1.3.2.2	Herceptin®	37
1.3.3	Etude de l'effet <i>in vitro</i> d'avastin® sur l'integreté des fragments de membrane de kyste hydatique de foie	38
1.3.3.1	Avastin® à 10 µM	38
1.3.3.2	Avastin® à 20 uM	39
1.3.3.3	Avastin® à 30 µM	39
1.3.3.4	Avastin® à 40 µM	40
1.3.3.5	Avastin® à 50 µM	41
1.3.4	Etude de l'effet <i>in vitro</i> d'herceptin® sur l'intégrité des fragments de kyste hydatique de foie	42
1.3.4.1	Herceptin® à 10 uM	42
1.3.4.2	Herceptin® à 20 µM	42
1.3.4.3	Herceptin® à 30 µM	43
1.3.4.4	Herceptin® à 40 µM	43
1.3.4.5	Herceptin® à 50 µM	44
1.4	Examen de la fertilité des kystes hydatiques	45
1.5	Examen de la viabilité des protoscolex par coloration	46
1.5.1	Examen de la viabilité avec les anticancéreux	46
1.5.1.1	Avastin® (500µM)	47
1.5.1.2	Herceptin ® (106µM)	47
1.6	Effet <i>in vitro</i> des anticancéreux (Herceptin® et Avastin®) sur les protoscolex observés sous microscope optique	48
1.6.1	Avastin®500µM	48

1.6.2	Herceptin®106µM	49
1.7	L'effet des anticancéreux sur les vésicules.....	51
1.7.1	L'effet d'herceptin® sur les vésicules filles.....	51
1.7.2	L'effet d'avastin sur les vésicules filles	51
II.	Discussion.....	52

Conclusion

Annexes

Référence bibliographique

Résumé

Le kyste, qui correspond à une larve vésiculaire, va se développer lentement et produire des milliers de scolex par bourgeonnement interne de la membrane prolifère. Autour de la membrane externe ou ténia, se développe une coque fibreuse réactionnelle isolant le parasite du milieu environnant. Malgré une certaine efficacité du traitement médical par albendazole, l'ablation chirurgicale donne les meilleures chances de guérison. Le diagnostic repose essentiellement sur l'imagerie (échographie, scanner IRM) et la sérologie. L'examen des pièces d'exérèse vient confirmer le diagnostic (Robert et al., 1998).

La chimiothérapie anticancéreuse se divise en deux catégories : les molécules cytotoxiques qui inhibent le cycle cellulaire, et les thérapeutiques dites « ciblées » qui, par un mécanisme spécifique (anticorps monoclonaux...) bloquent la croissance cellulaire dans un certain nombre de sous populations tumorales (HAS et al., 2013). Cette deuxième catégorie prend une importance croissante dans la prise en charge des cancers. Dans ce contexte, ces médicaments ont été testés dans le cas de l'échinocoecose hydatique. Dans notre cadre d'études, les anticancéreux disponibles sont (bevacizumab et trastuzumab). Ces médicaments sont des anticorps monoclonaux humanisés qui sont dirigés successivement contre deux cibles thérapeutiques, le facteur de croissance endothélial vasculaire VEGF et le récepteur transmembranaire HER2.

Donc l'objectif de notre travail est :

L'élaboration de la stratégie thérapeutique antiparasitaire in vitro par l'utilisation de deux anticancéreux (Avastin® et Herceptin®) à différentes concentrations et la surveillance de l'intégrité de la couche téniale et régularité la structure parasitaire.

Résumé

L'échinococcose granulosus, est une infection zoonotique causée par l'espèce Cestode du genre Echinococcus, avec un traitement limité. Donc Il est urgent de développer un nouvel agent anti-hydatique. Le Traitement avec les deux anticancéreux ont montré une irrégularisation de la structure des protoscolex et une distorsion structurelle de deux couches laminaire et germinative du métacestode d'E.granulosus. Notre travail a porté les effets antiparasitaires de deux anticancéreux herceptin® et Avastin® à différents concentrations sur l'intégrité de la membrane et les parasites du métacestode d'E. granulosus in vitro. Nous avons constaté selon les résultats des études histopathologiques que les anticancéreux de 10 jusqu'à 50 uM ont un effet dégénératif sur l'intégrité de la membrane hydatique et une altération et destruction les parasites (protoscolex) in vitro, et qui ont affecté de manière significative et efficace sur la larve d'Echinococcus granulosus. Ce travail révèle que les anticancéreux sont un nouveau candidat potentiel prometteur médicament pour le traitement de l'échinococcose granulosus.

Mots clefs : échinococcose, zoonotique, E.granulosus, herceptin®, Avastin®, métacestode, protoscolex.

Abstract

Echinococcosis granulosus is a zoonotic infection caused by the Cestode species of the genus Echinococcus, with limited treatment. So it is urgent to develop a new anti-hydatid agent. Treatment with both anti-cancer agents showed an irregularity of the protoscolex structure and a structural distortion of two laminar and germinal layers of the E. granulosus metacestode. Our work carried the antiparasitic effects of two anticancer agents, herceptin® and Avastin®, and at different concentrations on the membrane integrity and the parasites of the E metacestode. granulosus in vitro. We have found from histopathological studies that anticancer drugs of up to 50 µM have a degenerative effect on the hydatid membrane integrity and an alteration and destruction of parasites (protoscolex) in vitro which have significantly affected and effective on Echinococcus larvae. This work reveals that anticancer drugs are a promising new candidate drug candidate for the treatment of echinococcosis.

Key words: echinococcosis, zoonotic, E.granulosus, herceptin®, Avastin®, metacestode, protoscolex.

ملخص

داء المشوكات الحبيبية هو عدوى حيوانية المنشأ ناتجة عن أنواع الكستود من جنس المشوكة ، مع علاج محدود. لذلك من الملح تطوير عامل مضاد للهيدروجين جديد. أظهرت المعاملة مع كل من العوامل المضادة للسرطان وجود انتظام في بنية البروتوسكليس والتشويه الهيكلي لطبقتين صفائحي و جرثومي من الدودة الشريطية. نفذ عملنا التأثيرات المضادة للطفيلتين لعاملين مضادين للسرطان هما ارسبتان و افستان ، بتركيزات مختلفة على سلامة الغشاء وطفيلي الدودة الشريطية. المحببة في المختبر. لقد وجدنا من دراسات التشريح المرضي أن العقاقير المضادة للسرطان التي تصل إلى 50 ميكرومتر لها تأثير تنكسي على سلامة الغشاء الهيداري وتغيير وتدمير الطفيليات (البروتوسكليكس) في المختبر ، والتي كبيرة وفعالة على يرقة المشوكات الحبيبية. يكشف هذا العمل أن الأدوية المضادة للسرطان هي دواء مرشح جديد واعد لعلاج داء المكورات العنقودية الحبيبية

كلمات المفتاحية: المشوكات, الحيوانية المنشأ, ارسبتان, افستان , يرقات الدودة الشريطية, المكورات العنقودية الحبيبية