

## LISTE DES ABREVIATIONS

|              |                                               |
|--------------|-----------------------------------------------|
| <b>Ac</b>    | : Anticorps                                   |
| <b>AChE</b>  | : Acétylcholinestérase                        |
| <b>ACP</b>   | : Anatomie et Cytologie Pathologiques         |
| <b>Ag</b>    | : Antigène                                    |
| <b>ASP</b>   | : Abdomen Sans Préparation                    |
| <b>CHU</b>   | : Centre Hospitalier Universitaire            |
| <b>DES</b>   | : Diplôme d'Etudes Spécialisées               |
| <b>EDN3</b>  | : Endothelin 3                                |
| <b>EDNRB</b> | : Endothelin B receptor                       |
| <b>GDNF</b>  | : Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor |
| <b>HE</b>    | : Hématoxyline Eosine                         |
| <b>HOGIP</b> | : Hôpital Général Idrissa POUYE               |
| <b>IHC</b>   | : Immunohistochimie                           |
| <b>MH</b>    | : Maladie de Hirschsprung                     |
| <b>NK</b>    | : Natural Killer                              |
| <b>NSE</b>   | : Neuron Specific Enolase                     |
| <b>PO</b>    | : Pièce Opératoire                            |
| <b>UCAD</b>  | : Université Cheikh Anta Diop                 |
| <b>VIP</b>   | : Vasoactif Intestinal Peptid                 |

## LISTE DES FIGURES

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1:</b> Image anatomique du colon.....                                       | 6  |
| <b>Figure 2:</b> Section longitudinale du rectum et du canal anal .....               | 9  |
| <b>Figure 3:</b> Image histologique de la paroi colique.....                          | 12 |
| <b>Figure 4:</b> Image histologique d'un filet nerveux.....                           | 13 |
| <b>Figure 5:</b> Première description physiopathologique de la MH .....               | 16 |
| <b>Figure 6:</b> Aspect macroscopique d'une pièce de résection colique pour MH ....   | 23 |
| <b>Figure 7:</b> Echantillonnage des pièces de résection.....                         | 24 |
| <b>Figure 8:</b> Image histologique d'un filet nerveux marqué par la calrétinine..... | 26 |
| <b>Figure 9:</b> Répartition des patients en fonction des tranches d'âge.....         | 38 |
| <b>Figure 10:</b> Image histologique d'un filet nerveux .....                         | 40 |
| <b>Figure 11:</b> Image histologique d'un filet nerveux .....                         | 41 |
| <b>Figure 12:</b> Image histologique d'un filet nerveux .....                         | 41 |

## LISTE DES TABLEAUX

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau I:</b> Répartition des patients en fonction du sexe .....                                                                   | 39 |
| <b>Tableau II:</b> Répartition des cas selon le type de prélèvement. ....                                                              | 39 |
| <b>Tableau III:</b> Comparaison des résultats HE et IHC à la calrétinine. ....                                                         | 42 |
| <b>Tableau IV:</b> Répartition des cas selon les formes.....                                                                           | 43 |
| <b>Tableau V:</b> Comparaison des patients atteints de MH en fonction de l'âge selon différents auteurs. ....                          | 45 |
| <b>Tableau VI:</b> Comparaison des patients atteints de MH en fonction du sexe selon différents auteurs.....                           | 46 |
| <b>Tableau VII:</b> Comparaison du type du prélèvement selon différents auteurs. .                                                     | 47 |
| <b>Tableau VIII:</b> Comparaison de la concordance /discordance entre IHC et HE et IHC à la calrétinine selon différents auteurs. .... | 51 |
| <b>Tableau IX:</b> Comparaison des topographique selon différents auteurs.....                                                         | 54 |

# TABLE DES MATIERES

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| INTRODUCTION .....                                  | 1  |
| PREMIERE PARTIE .....                               | 4  |
| I. HISTORIQUE .....                                 | 5  |
| II. RAPPEL.....                                     | 6  |
| 1. Anatomique .....                                 | 6  |
| 1.1. Côlon .....                                    | 6  |
| 1.1.1. Disposition générale.....                    | 6  |
| 1.1.2. Vascularisation .....                        | 7  |
| 1.1.3. Innervation .....                            | 7  |
| 1.2. Rectum.....                                    | 8  |
| 1.2.1. Disposition générale.....                    | 8  |
| 1.2.2. Principaux rapports et moyens de fixité..... | 9  |
| 1.2.3. Vascularisation .....                        | 10 |
| 1.2.4. Innervation.....                             | 10 |
| 2. Histologique .....                               | 10 |
| 2.1. Côlon .....                                    | 10 |
| 2.1.1. La muqueuse.....                             | 11 |
| 2.1.2. La musculaire-muqueuse.....                  | 11 |
| 2.1.3. La sous-muqueuse .....                       | 11 |
| 2.1.4. La musculuse .....                           | 11 |
| 2.1.5. La tunique externe .....                     | 13 |
| 2.2. Rectum.....                                    | 14 |
| 2.3. Canal anal .....                               | 14 |
| III. PHYSIOPATHOLOGIE PATHOGENESE .....             | 15 |
| IV. DIAGNOSTIC DE LA MH .....                       | 17 |
| 1. Diagnostic positif .....                         | 17 |

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| 1.1. Clinique .....                             | 17 |
| 1.2. Para clinique .....                        | 18 |
| 1.2.1. Imagerie.....                            | 18 |
| 1.2.2. Anatomie pathologique .....              | 19 |
| 2. Le diagnostic différentiel .....             | 28 |
| 3. Facteurs étiologiques .....                  | 29 |
| <b>DEUXIEME PARTIE</b> .....                    | 31 |
| I.OBJECTIFS .....                               | 32 |
| 1. Objectif général .....                       | 32 |
| 2. Objectifs spécifiques .....                  | 32 |
| II. MATERIELS ET METHODE .....                  | 32 |
| 1. Type d'étude.....                            | 32 |
| 2. Cadre et période d'étude .....               | 32 |
| 3. Matériel d'étude et paramètres étudiés ..... | 33 |
| 4. Méthodologie.....                            | 34 |
| 5. Critères d'inclusion .....                   | 37 |
| 6. Critères d'exclusion.....                    | 37 |
| III. RESULTATS .....                            | 38 |
| 1. Aspects épidémiologiques.....                | 38 |
| 1.1. Age .....                                  | 38 |
| 1.2. Sexe .....                                 | 39 |
| 2. Aspects anatomo-pathologiques :.....         | 39 |
| 2.1. Type de prélèvement : .....                | 39 |
| 2.2. Immuno-marquage à la calrétinine.....      | 40 |
| 2.3. Formes selon l'étendu .....                | 43 |
| IV. DISCUSSION .....                            | 44 |
| 1. Epidémiologie .....                          | 44 |
| 1.1. Age .....                                  | 44 |
| 1.2. Sexe .....                                 | 45 |

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| 2. Aspects anatomopathologiques .....      | 46 |
| 2.1. Type du prélèvement .....             | 46 |
| 2.2. Immuno-marquage à la calrétinine..... | 47 |
| 2.3. Formes selon l'étendu : .....         | 53 |
| <b>CONCLUSION</b> .....                    | 56 |
| <b>REFERENCES</b> .....                    | 61 |
| <b>ANNEXE</b>                              |    |

# INTRODUCTION

La maladie de Hirschsprung (MH) est une anomalie congénitale du système nerveux entérique caractérisée par un manque de cellules ganglionnaires au niveau du côlon ou une partie du côlon. Les troubles de la motilité dans le segment colique lésionnel conduisent généralement à une occlusion intestinale néonatale [1].

Cette maladie affecte 1/5000 naissance, avec un sexe ratio de 4 garçons pour une fille [2].

Chez la majorité des patients, la MH se présente peu après la naissance par retard d'émission de méconium au cours des premières heures de vie [3]. Elle est diagnostiquée au cours de la période néonatale chez 91% des cas [4]; la majorité des patients subissent un traitement chirurgical au cours de la 1<sup>ère</sup> année de vie [1]. Elle peut être diagnostiquée à un âge tardif chez l'enfant et l'adolescent et exceptionnellement chez l'adulte.

L'index de suspicion de MH doit augmenter chez les patients qui présentent des malformations associées. La MH est isolée chez 70% des patients et, dans 30%, elle est associée à une anomalie chromosomique (12%) ou congénitale (18%). La trisomie 21 ou syndrome de Down constitue l'anomalie chromosomique la plus fréquemment observée en cas de MH [5].

Le diagnostic de la MH est basé sur des arguments cliniques et radiologiques (la radiographie de l'ASP, du lavement baryté, de la manométrie) mais seul l'examen histologique confirme le diagnostic.

En fonction de la longueur de la partie aganglionnaire, la MH est classée en variante courte où l'aganglionose se limite au côlon sigmoïde (80% des cas); variante longue quand l'aganglionose atteint voire dépasse la flexion splénique (17%), et finalement variante totale qui fait 3% des cas [6]. Il existe une variante rare connu par achalasie interne du sphincter anal, anciennement appelée MH « ultra courte » où l'aganglionose est limitée au sphincter anal [3].



Une évaluation appropriée de la présence des cellules ganglionnaires nécessite principalement un échantillonnage adéquat des tissus et une préparation minutieuse des échantillons. Il existe de nombreux rapports sur l'utilisation de divers anticorps dans les examens IHC pour un meilleur diagnostic de l'aganglionose. Un marqueur immuno-histochimique facilitera la détection des cellules ganglionnaires grâce à une coloration intensive, ainsi qu'une distinction de cellules ganglionnaires des autres composantes neuronales, et un faible taux d'artefacts [7].

Plusieurs études ont démontré l'apport de la calrétinine comme marqueur dans le diagnostic de MH. [8, 9]

En Afrique de l'ouest, le diagnostic de la MH repose essentiellement sur l'examen anatomo-pathologique d'une biopsie rectale profonde ramenant la sous muqueuse et la musculuse.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'apport de l'immuno-marquage à la calrétinine dans le diagnostic de la MH, d'une part et d'autre part de comparer ces résultats avec les résultats de l'examen morphologique standard.

Dans une première partie, nous ferons un rappel, puis décrirons les patients et méthodes d'étude, enfin présenterons nos résultats. Ces résultats seront commentés et comparés aux données rapportées par divers auteurs.

# **PREMIERE PARTIE**

## **I. HISTORIQUE [3, 10]**

La MH est une affection congénitale du côlon qui porte le nom de son découvreur Harald Hirschsprung. Le rapport de Hirschsprung date depuis 1887 où il a décrit le cas de 2 patients décédés suite à une constipation associée à une dilatation importante et une hypertrophie du côlon. A l'époque, Hirschsprung croyait à tort que c'était le segment qui était pathologique.

En 1949, plus d'un demi-siècle plus tard, Swenson et ses collègues sont arrivés à la conclusion que ce n'était pas la partie dilatée du côlon qui était pathologique, mais la partie la plus distale et la plus étroite du côlon. Ils ont estimé que l'extrême dilatation du côlon était causée par une obstruction inhérente à l'extrémité distale des intestins bloquant le passage des matières fécales. Soutenus par cette théorie, Swenson et Bill ont procédé à l'élimination du segment obstruant des intestins et ont obtenu des résultats étonnement bons. A peu près, au même moment où Swenson et ses collègues entreprenaient leurs expériences chirurgicales, la cause sous-jacente de la MH a été découverte par Whitehouse et Kernohan en comparant des échantillons de côlon de patients MH avec des échantillons de côlon de témoins non MH. Chez les patients MH, ils ont découvert une absence complète de cellules ganglionnaires dans les 2 plexus du système nerveux entérique, ainsi qu'une hypertrophie des faisceaux nerveux. Ces 2 découvertes ont révolutionné le diagnostic et le traitement de la MH et ont grandement amélioré la morbidité et la mortalité des patients qui souffrent de cette maladie auparavant mortelle. Peu de temps après que Swenson et Bill aient rendu de leur technique chirurgicale, d'autres techniques ont été développées, y compris celles de Rehbein, Duhamel et Soave.

## II. RAPPEL

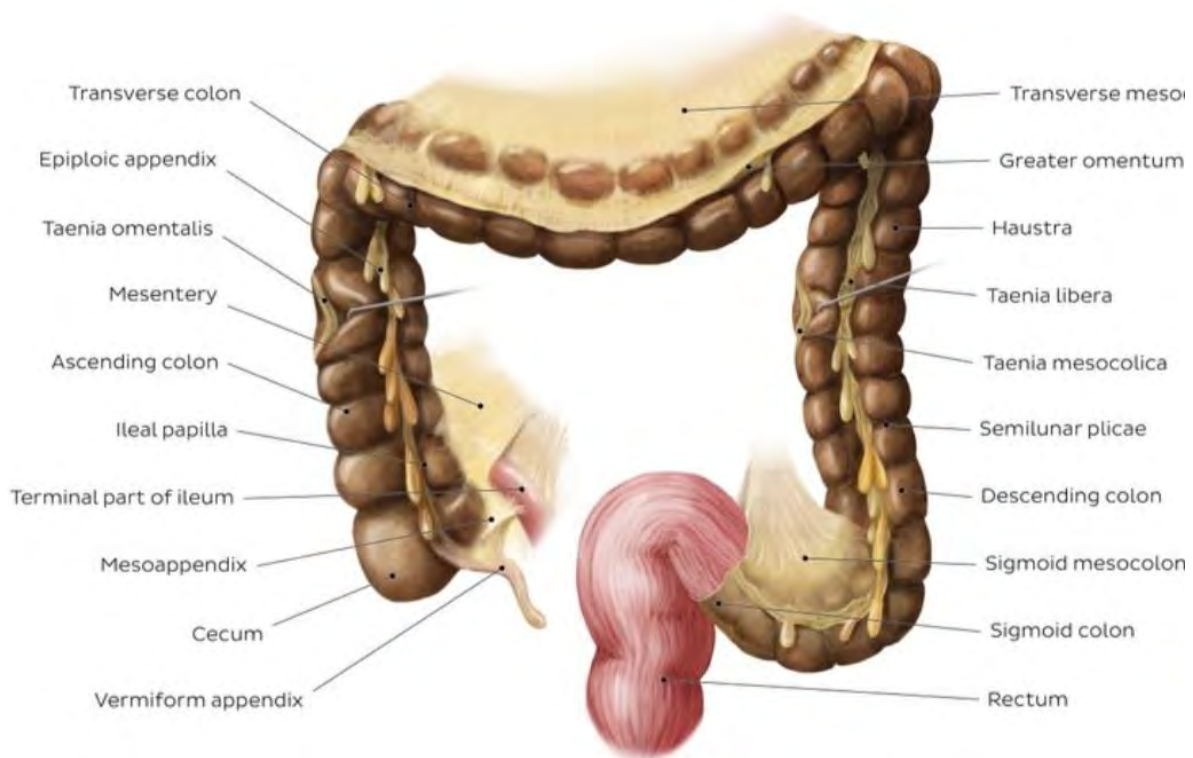
### 1. Anatomique [11, 12, 13, 14]

#### 1.1. Côlon

Le côlon (ou gros intestin) fait suite à l'intestin grêle et s'étend de l'angle iléocœcale au rectum.

##### 1.1.1. Disposition générale

Le côlon débute dans la fosse iliaque droite par un volumineux cul de sac : le caecum auquel est appendu l'appendice, puis il monte verticalement contre la fosse lombaire (côlon ascendant), puis se coude pour constituer le côlon transverse, après un nouveau coude, il redescend verticalement dans le flanc gauche (le côlon descendant). Ensuite il traverse obliquement le canal iliaque gauche constituant ainsi le côlon iliaque, auquel fait suite le côlon pelvien ou le côlon sigmoïde qui plonge dans le bassin, décrit une boucle devant le sacrum et se continue par le rectum (figure 1).



**Figure 1: Image anatomique du colon [15]**

### **1.1.2. Vascularisation**

Le côlon droit est vascularisé par les branches droites de l'artère mésentérique supérieure : l'artère colique supérieure droite et l'artère colique inférieure droite. Ces deux branches constantes, éventuellement associées à des branches inconstantes vont former une arcade bordante.

Le côlon gauche est vascularisé par les branches de l'artère mésentérique inférieure: les artères coliques supérieures gauches et coliques inférieures gauches et le tronc des artères sigmoïdiennes.

Vers le bas, la vascularisation colique est anastomosée avec les branches de l'artère hémorroïdale supérieure destinée au rectum.

Le côlon transverse, à son niveau existe une large voie d'anastomose entre les branches de l'artère mésentérique supérieure et l'artère mésentérique inférieure appelée : ARCADE DE RIOLAN

Les veines sont satellites des artères sauf la veine mésentérique inférieure qui décrit un trajet particulier : elle chemine d'abord à gauche de son artère, puis s'éloigne d'elle en dehors, et contourne l'angle duodénal pour former le tronc spléno-mésaraïque derrière le pancréas.

### **1.1.3. Innervation [15]**

Le gros intestin reçoit l'innervation de 2 sources principales : le système nerveux entérique et le système nerveux autonome.

Le 1<sup>er</sup> est spécifique du tractus gastro-intestinal. Il se compose de 2 plexus nerveux : le plexus myentérique de Meissner situé dans la sous muqueuse, et le plexus d'Auerbach situé entre les couches musculaires circulaires et longitudinales.

Le système nerveux entérique est responsable des contractions péristaltiques du colon, ainsi que des sécrétions muqueuses.

Le système nerveux autonome est le 2<sup>em</sup> contributeur majeur à l'innervation du colon.

L'innervation sympathique aux dérivés de l'intestin moyen provient des nerfs spinaux T5-T12 et se déplace vers les plexus cœliaque et mésentérique supérieur via les nerfs splanchniques. Tandis que l'innervation sympathique des structures de l'intestin postérieur provient des nerfs spinaux S1-S2 et se déplace vers les plexus aortiques, mésentériques inférieurs et hypogastriques via les nerfs splanchniques lombaires et sacrés.

Les nerfs sympathiques sont responsables du ralentissement de la motilité dans le colon et l'induction de contractions à la fois de la valve iléo-caecale et du sphincter anal interne.

L'innervation parasympathique des dérivés de l'intestin moyen se déplace via le nerf vague vers les plexus mésentériques et cœliaques supérieurs. Les structures de l'innervation postérieure reçoivent une innervation parasympathique des nerfs spinaux S2-S4 via les nerfs splanchniques pelviens. Ceux-ci se projettent ensuite vers le plexus nerveux hypogastrique.

L'innervation parasympathique est responsable de l'augmentation de la motilité dans le gros intestin, de la défécation et du relâchement du sphincter anal interne.

## **1.2. Rectum**

C'est une dilatation segmentaire terminale du tube digestif au-delà du côlon sigmoïde.

### **1.2.1. Disposition générale**

Le rectum fait suite au côlon ilio-pelvien et se termine par l'anus, il commence après la jonction recto -sigmoïdienne au regard du bord inférieur de la 3<sup>ème</sup> vertèbre sacrée, on lui distingue 2 segments :

- Un segment supérieur ou pelvien : contenu dans la cavité pelvienne.

- Un segment inférieur ou périnéal : appelé aussi canal anal et qui est compris dans l'épaisseur de la paroi inférieure du bassin (périnée).

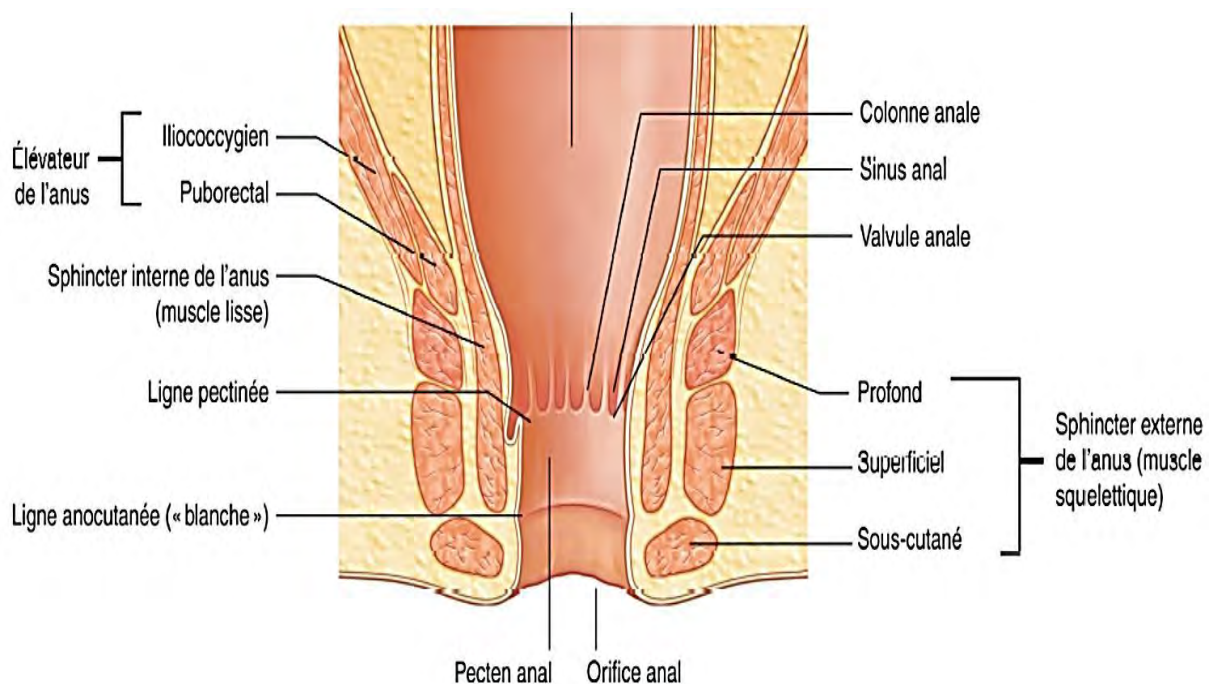
### 1.2.2. Principaux rapports et moyens de fixité

#### - Le rectum pelvien

Il est rétro-péritonéal, entouré d'une gaine fibro-séreuse. Ses rapports sont, en arrière la charnière sacro-coccygienne. En avant, la vessie chez l'homme, l'utérus et le vagin chez la femme. Latéralement, le rectum répond au côlon pelvien et aux anses du grêle et chez la femme l'ovaire et le pavillon de la trompe.

#### - Le rectum périnéal ou canal anal

Entouré par un manchon musculo-aponévrotique, constitué de haut en bas par l'aponévrose pelvienne, le releveur de l'anus et le sphincter externe de l'anus (figure 2). Il est en rapport en avant avec le centre tendineux du périnée et les muscles du périnée qui s'en détache, plus en avant on trouve l'urètre, les glandes de Cowper, le bulbe chez l'homme et le vagin chez la femme. Latéralement et en arrière, on trouve l'espace ischio-rectal et son contenu.



**Figure 2: Section longitudinale du rectum et du canal anal [11]**

### **1.2.3. Vascularisation**

Les artères du rectum sont :

- Les artères hémorroïdales supérieures, branches de la mésentérique inférieure.
- Les artères hémorroïdales moyennes, branches de l'hypogastrique.
- Les artères hémorroïdales inférieures, branches de la honteuse interne.
- L'artère sacrée moyenne donne au rectum quelques rameaux très grêles qui se détachent au niveau des deux derniers trous sacrés.

Les veines suivent à peu près le même trajet que les artères, on décrit :

- Les veines hémorroïdales supérieures qui se jettent dans la veine porte par la petite veine mésentérique.
- Les veines hémorroïdales moyennes et inférieures se drainent vers la veine cave inférieure par les veines iliaques internes.

### **1.2.4. Innervation**

L'innervation sympathique est portée par le plexus mésentérique inférieur, l'innervation parasympathique par les nerfs splanchniques pelviens et le plexus hypogastrique inférieur.

## **2. Histologique [16]**

### **2.1. Côlon**

Comme dans le reste du tube digestif, le côlon présente une muqueuse, une sous-muqueuse, une musculature principalement circulaire (interne), avec une couche longitudinale (externe) formant une bande continue sauf au niveau du rectum (Figure 3).



### **2.1.1. La muqueuse**

Comporte un épithélium de revêtement et un tissu conjonctif sous-jacent portant le nom de chorion. L'épithélium de revêtement est à majorité fait de cellules caliciformes et s'invagine dans la muqueuse en cryptes de Lieberkühn. Le chorion est riche en tissu lymphoïde (lymphocytes diffus et follicules lymphoïdes débordant vers la musculaire-muqueuse).

La muqueuse observée au moyen grossissement, présente des glandes tubuleuses droites serrées, dont la base repose sur la musculaire muqueuse. Elles sont soutenues par un chorion parsemé de leucocytes mononucléés.

Au fort grossissement, l'épithélium est formé de cellules entérocytaires et caliciformes. Ces dernières, abondantes, augmentent en nombre vers le rectum. Le mucus (faiblement coloré), devient plus abondant protégeant la muqueuse, des résidus de plus en plus déshydratés.

### **2.1.2. La musculaire-muqueuse**

Elle est constituée d'une mince couche de tissu musculaire lisse ; elle est absente au niveau du canal anal.

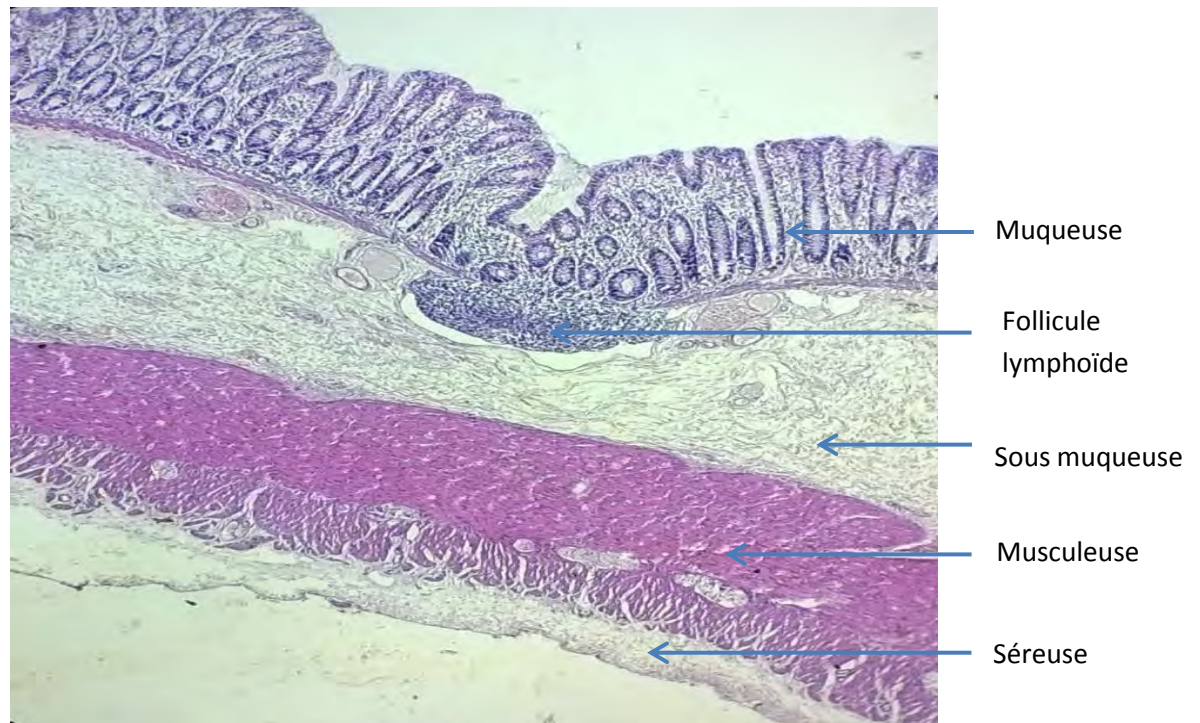
### **2.1.3. La sous-muqueuse**

Elle est constituée de tissu conjonctif et contient le plexus nerveux de Meissner (ou « plexus sous-muqueux de Meissner ») ainsi que des vaisseaux sanguins et lymphatiques pour la muqueuse [17].

### **2.1.4. La musculeuse**

Elle a une disposition générale en deux couches de tissu musculaire lisse : circulaire interne et longitudinale externe, avec toutefois des discontinuités de cette couche longitudinale externe qui forme en fait des bandelettes antérieure et postérieure (tænia coli) reliées par de fins faisceaux musculaires longitudinaux. Au cours de l'examen coloscopique, on peut observer dans la cavité sous forme

de plis de contraction transversaux, l'activité physiologique de la musculature circulaire. Entre ces deux couches se situe le plexus nerveux d'Auerbach.



Aspect histologique d'une paroi colique avec 4 tuniques : muqueuse, sous-muqueuse, musculaire avec ses 2 couches et séreuse (HE x 40).

**Figure 3: Image histologique de la paroi colique. (Labo anapath UCAD).**

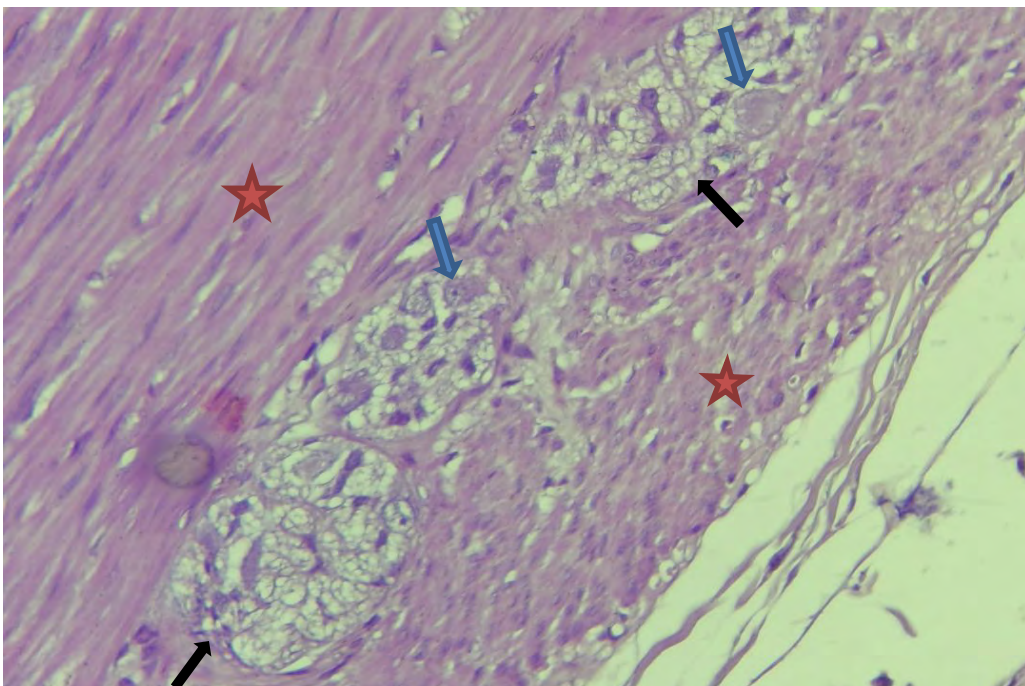
Dans le plexus entérique normal, on distingue trois couches [17]:

- Un plexus myentérique, ou plexus d'Auerbach, entre la couche musculaire circulaire et la couche musculaire longitudinale.
- Un plexus sous muqueux profond de Henlé, situé dans la couche musculaire circulaire interne.
- Un plexus sous muqueux superficiel de Meissner, parallèle, à côté de la musculature muqueuse.

Les plexus sont représentés par des cellules nerveuses soutenues par des cellules de Schwann.

De petits groupes de cellules ganglionnaires peuvent être ainsi visualisés à des jonctions de fibres nerveuses. Les cellules ganglionnaires normales mesurent de 15 à 40  $\mu\text{m}$ , ont une forme polygonale, avec un cytoplasme abondant et un noyau ovale ou rond de 10 à 15  $\mu\text{m}$  contenant un nucléole proéminent (Figure 4).

Ainsi, un plexus myentérique peut contenir d'une à 19 cellules ganglionnaires, un plexus sous muqueux d'une à 5 cellules ganglionnaires [18].



Aspect histologique d'un filet nerveux (flèche noir) comportant des cellules ganglionnaires (flèche bleue) entouré de tissu musculaire lisse (étoiles) (**HE x 400**).

**Figure 4: Image histologique d'un filet nerveux (Labo anapath HOGIP).**

### 2.1.5. La tunique externe

Cette tunique externe est une séreuse volontiers infiltrée de tissu adipeux. Elle présente toutefois par endroits des adhérences qui réalisent des zones adventitielles.

## **2.2. Rectum**

Le rectum est la portion dilatée, terminale du côlon. Sa muqueuse est similaire à celle du reste du côlon, avec une abondance encore plus prononcée de cellules à mucus. Sa jonction avec l'anus est marquée par le passage abrupt à une muqueuse de type malpighien pluristratifié non kératinisé. Cette dernière passe progressivement vers un revêtement cutané avec ses annexes.

## **2.3. Canal anal**

Partie terminale du tube digestif, le canal anal fait suite au rectum; sa longueur est courte : 3 à 4 cm et il assure par ses sphincters la continence des matières fécales. A la partie moyenne du canal, le bord libre des 6 à 8 valvules (semi-lunaires et transversales) de Morgagni forment une ligne appelée « ligne pectinée ». A partir de la ligne pectinée, on peut distinguer deux zones successives : en haut, la partie rectale et ensuite la partie terminale externe.

### **➤ La zone rectale**

Au-dessus de la ligne pectinée se fait la transition entre la muqueuse rectale et la muqueuse anale : les glandes de Lieberkühn se raréfient, les cellules épithéliales deviennent cubiques puis font place à un épithélium malpighien (non kératinisé). La musculaire-muqueuse (suite de la musculaire-muqueuse du rectale) se termine progressivement sur la ligne pectinée ; ses faisceaux résiduels forment des soulèvements ou replis verticaux nommés « colonnes rectales de Morgagni».

### **➤ La zone externe :**

Située sous la zone pectinée, elle-même est divisée en deux parties :

- La zone ano-cutanée dite « lisse », constituée d'un épithélium malpighien mince.
- La zone cutanée ou « marge anale », pigmentée, kératinisée, avec des annexes pilosébacés.

### **3. La calrétinine :**

C'est une protéine de liaison au calcium servant diverses fonctions cellulaires, notamment le ciblage des messages et le maintiens du calcium intra cellulaire. Elle est impliquée dans des processus tels que l'arrêt cellulaire et l'apoptose. La calrétinine fonctionne comme un modulateur de l'excitabilité neuronale et peut jouer un rôle protecteur dans la survie des cellules nerveuses lors de perturbation de l'homéostasie de calcium. Il est abondamment exprimé dans des sous-ensembles des neurones du cerveau et de la moelle épinière en particulier la rétine et les ganglions sensoriels, mais également dans le mésothélium, les glandes sudoripares eccrines, les cellules de Sertoli, les cellules du stroma ovarien et les cellules corticales surrénaliennes. La calrétinine est un marqueur utile pour différencier le mésothélium (en particulier type épithéliale) et l'adénocarcinome mértastatique aux membranes séreuses. C'est également un marqueur diagnostique pour la MH et certains cancers ovariens et testiculaires.

La calrétinine était également détectée dans certains adénocarcinomes pulmonaires [18].

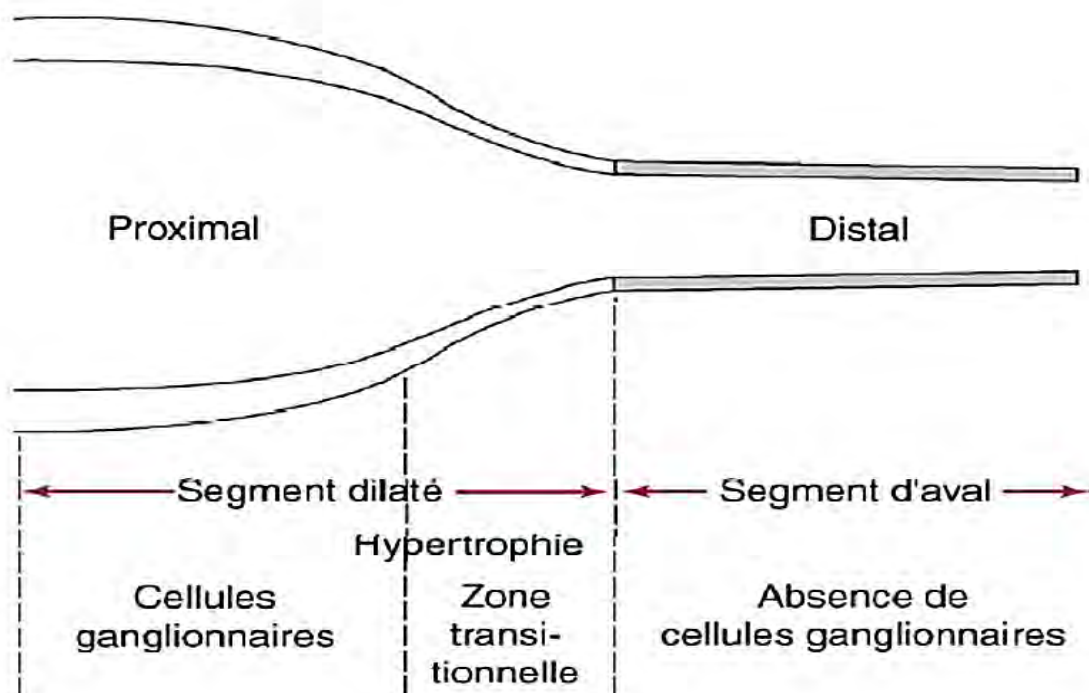
### **III. PATHOGENESE**

L'aspect descriptif est celui d'un segment colique proximal dilaté avec une progressive ou abrupte transition à un calibre normal. La zone de transition est souvent décrite en forme de cône (figure 5). Le segment proximal augmente en diamètre mais aussi en longueur. Le degré d'hypertrophie ou de dilatation dépend de la durée et du degré d'obstruction, indépendamment de l'âge du patient au moment de l'intervention [19].

Okamoto et Ueda ont examiné des embryons humains après coloration argentique et ont ainsi démontré qu'il existait une migration des neuroblastes de la crête céphalique neurale entre la sixième et la huitième semaine de gestation dans le sens cranio-caudal, partant de l'œsophage [20].

La migration des neuroblastes jusqu'au côlon distal et au rectum avec la formation des cellules ganglionnaires dans les plexus myentériques est terminée à la douzième semaine de gestation. La survie, la prolifération et la différenciation des cellules sont sous la dépendance de signaux moléculaires par l'intermédiaire de récepteurs membranaires : la protéine RET et un de ses ligands, le Glial cell line derived neurotrophic factor (GDNF).

Il se produit une interruption de la différenciation des cellules des plexus myentériques chez les patients atteints de la maladie de Hirschsprung et ce à un stade précoce de la gestation. Cela explique qu'il existe une atteinte continue et que le diagnostic est toujours affirmé par une biopsie rectale. La longueur du côlon ainsi atteint varie comme on a pu le voir de la forme « classique » recto-sigmoïdienne à la forme totale, en passant par une forme plus courte rectale [17].



**Figure 5: Première description schématique de la MH [19]**

## IV. DIAGNOSTIC DE LA MH

### 1. Diagnostic positif

#### 1.1. Clinique [21, 22, 23]

Actuellement, la plupart des cas de maladie de Hirschsprung sont diagnostiqués dans les premiers mois de vie.

- Dans la période néonatale

Il s'agit le plus souvent d'un garçon né à terme de poids normal, chez lequel un retard d'élimination méconiale de 24 à 48 heures et qui présente des signes digestifs discrets : problèmes d'alimentation, distension abdominale, avec épreuve à la sonde positive. Dans les formes plus sévères, deux tableaux dominent la symptomatologie : occlusion intestinale basse ou entérocolite.

**« Toute entérocolite chez un nouveau-né à terme, doit faire suspecter une maladie de hirschsprung jusqu'à preuve du contraire ».**

- Chez le nourrisson et le jeune enfant

Le tableau est le plus souvent celui d'une constipation avec des épisodes obstructifs ou de diarrhée. Le ballonnement abdominal est progressif, l'hypotrophie fréquente. L'abdomen distendu est météorisé, les fécalomes sont parfois palpables et le toucher rectal trouve une ampoule rectale vide. Les complications à type d'occlusion, de péritonite ou d'entérocolite sont moins fréquentes que dans la période néonatale.

- Chez le grand enfant ou l'adulte

Le diagnostic est devenu exceptionnel avec tableau typique du constipé chronique, anorexique, hypotrophique, à gros ventre et jambes maigres. Les fécalomes sont palpables, l'ampoule rectale reste vide.

Quel que soit l'âge et le mode de présentation, le diagnostic d'une maladie de Hirschsprung repose sur les résultats de trois explorations : la radiologie, la manométrie rectale, la biopsie avec étude immuno histochimique.

## **1.2. Para clinique**

### **1.2.1. Imagerie**

- Radiographie de l'abdomen sans préparation [24]

L'ASP retrouve la distension colique avec une absence d'aération rectale évocatrice du diagnostic. La dilatation peut remonter sur l'ensemble du grêle lorsque l'occlusion se complète et en l'absence de prise en charge. Il peut aussi retrouver, au stade de complication, soit un pneumopéritoine, témoin d'une perforation le plus souvent diastatique du cæcum, soit une pneumatose intestinale (liseré clair entre les parois digestives), voire à un stade plus avancé une pneumatose portale témoin d'une entérocolite aiguë sévère. Les touchers rectaux répétés, les montées de sonde, les massages abdominaux doivent améliorer les clichés standards, en montrant une diminution de la dilatation digestive sous peine de devoir rapidement dériver l'enfant.

- Lavement baryté [3, 25, 26]

Une autre technique utilisée dans le diagnostic de la MH est le lavement de contraste. Cette technique consiste à injecter un lavement baryté suivi d'une radiographie abdominale. Un lavement de contraste effectué chez un patient MH montre généralement un segment colique distal contracté, une zone de transition et un segment distendu dans la direction caudale en raison d'une obstruction. Malheureusement, cette image caractéristique n'est pas vue chez tous les patients MH. Par exemple, un lavement de contraste effectué chez un patient atteint d'une MH dans sa variante totale ou sa variante ultracourte ne montre pas la zone de transition et la différence de calibre colique, ce qui conduirait à un résultat de test faux négatif. Le lavement de contraste a donc perdu de sa fiabilité en tant que technique de diagnostic de la MH, car sa précision s'est avérée inférieure à la manométrie anorectale et à la biopsie rectale avec une sensibilité de 76% et une spécificité de 97%. La précision dépend également



grandement de l'expertise du radiologue. Par exemple, une injection forcée du produit de contraste distend le côlon et diminue la précision de l'interprétation.

- La rectomanométrie [27, 28, 29, 30]

La manométrie anorectale peut être utilisée pour examiner la physiologie anorectale, y compris la présence du réflexe inhibiteur rectoanal. L'absence de ce réflexe est une caractéristique distinctive de la MH. La procédure de manométrie anorectale consiste à insérer un cathéter, équipé de capteurs de pression et d'un petit ballon de dilatation à son extrémité, dans le canal anal du patient. Le ballon est placé dans le rectum et légèrement gonflé pour simuler les selles et stimuler la paroi rectale. Lorsque le ballon rectal est gonflé, les capteurs de pression au niveau du canal anal doivent mesurer une diminution de la pression du sphincter anal interne, également connu sous le nom de réflexe inhibiteur rectoanal. Plusieurs études ont démontré la valeur de la manométrie anorectale en tant qu'outil de dépistage de la MH, en particulier en raison de son caractère non invasif et de ses risques minimes ou nuls. Peu de chirurgiens pédiatriques utilisent encore la manométrie anorectale pour diagnostiquer la MH. La majorité opte pour des biopsies par aspiration rectale pour le diagnostic.

### **1.2.2. Anatomie pathologique**

- ✓ Types de prélèvement [31, 32]

- Biopsies

Il existe 2 types de biopsies : la biopsie à la pince de Noblett (faite sans anesthésie) qui est une biopsie par aspiration comportant souvent muqueuse, sous-muqueuse, ou musculaire muqueuse ; et la biopsie chirurgicale (faite sous anesthésie générale ou locorégionale comportant la muqueuse, la sous-muqueuse et la musculature (ramenant les plexus nerveux de Meissner et d'Auerbach)).

De façon normale, la zone du sphincter anal contient peu ou pas de cellules ganglionnaires.

Parallèlement, à côté de cette pauvreté en cellules ganglionnaires dans cette région est constatée une hyperplasie des filets nerveux. C'est pour cette raison qu'il convient de réaliser la biopsie rectale diagnostique bien au-dessus de la ligne pectinée (2 cm chez le nouveau-né ou nourrisson et 3 cm chez l'enfant). De plus, les biopsies peuvent être d'interprétation difficile chez le nouveau-né, car les cellules des plexus myentériques sont souvent immatures à ce stade, d'où la nécessité d'avoir des anatomopathologistes spécialisés en pédiatrie et souvent confrontés à ce diagnostic. Les colorations spécifiques enzymo-histochimiques (acétyl- cholinestérase) mettent en évidence une hyperplasie des filets nerveux qui remontent jusqu'à l'apex des villosités. Les colorations standards confirment l'absence de cellule ganglionnaire dans la sous muqueuse et la musculature. Seule la biopsie rectale permet d'affirmer la maladie de Hirschsprung. C'est l'association d'une absence de cellule ganglionnaire avec une hyperplasie des filets nerveux qui témoigne de la maladie.

- Examen extemporané [33, 34]

L'examen extemporané sur coupes en congélation a pour but de vérifier la normalité de la paroi digestive soit au niveau de la stomie si l'intervention est en 2 temps, soit au niveau de la zone d'abaissement en cas de rétablissement de la continuité, que celui-ci soit faite en un ou deux temps. Il permet d'observer, quelle que soit leur taille, les plexus dépourvus de cellules ganglionnaires, à condition d'une bonne technique avec examen de plusieurs sections (sur trois lames, idéalement), et d'une bonne connaissance de l'aspect des cellules ganglionnaires. La zone transitionnelle microscopique se caractérise par une insuffisance du nombre de cellules ganglionnaires et une hyperplasie schwannienne. Elle mesure quelques millimètres à plusieurs centimètres, et rend difficile l'interprétation des biopsies peropératoires. Les plexus associés à des cellules ganglionnaires occupent un pourcentage variable de la circonférence de

la musculature, et il existe souvent un asynchronisme entre l'aspect des plexus dans la sous-muqueuse (dépourvus de cellules ganglionnaires) et dans la musculature (présence de plexus associés à des cellules ganglionnaires sur tout ou partie de la circonférence). La présence d'au moins 5 à 8 cellules ganglionnaires à l'examen extemporané est seule significative dans ce contexte. En pratique, si l'examen extemporané :

- met en évidence à la fois des plexus associés à des cellules ganglionnaires et des plexus qui en sont dépourvus, il conclut à un aspect de zone transitionnelle.
- ne met en évidence que des plexus associés à des cellules neuronales, il ne permet pas de trancher entre zone normale et zone transitionnelle.

Dans les deux hypothèses, il est prudent d'étendre la résection de quelques centimètres en amont. Des variantes rapides de la coloration AChE [35] et de l'immunomarquage pour la synaptophysine [36] ont été proposées extemporanément pour tenter de mieux préciser l'état de l'innervation intrinsèque. L'examen peropératoire de plusieurs fragments au même niveau, voire de toute la circonférence pourrait permettre de mieux différencier la zone transitionnelle du tube digestif normalement innervé. Dans les aganglionoses étendues, les plexus sont très hypoplasiques, voire absents, et l'examen de l'appendice met en évidence l'absence de cellules ganglionnaires. L'aganglionose appendiculaire peut, exceptionnellement, révéler une maladie de Hirschsprung étendue. L'examen de l'appendice peut être utile pour guider le geste chirurgical mais l'interprétation est difficile, car, d'une part, même chez le sujet normal, les plexus appendiculaires peuvent être très peu nombreux, et, d'autre part, une aganglionose appendiculaire peut être segmentaire.

- Pièce opératoire [17]

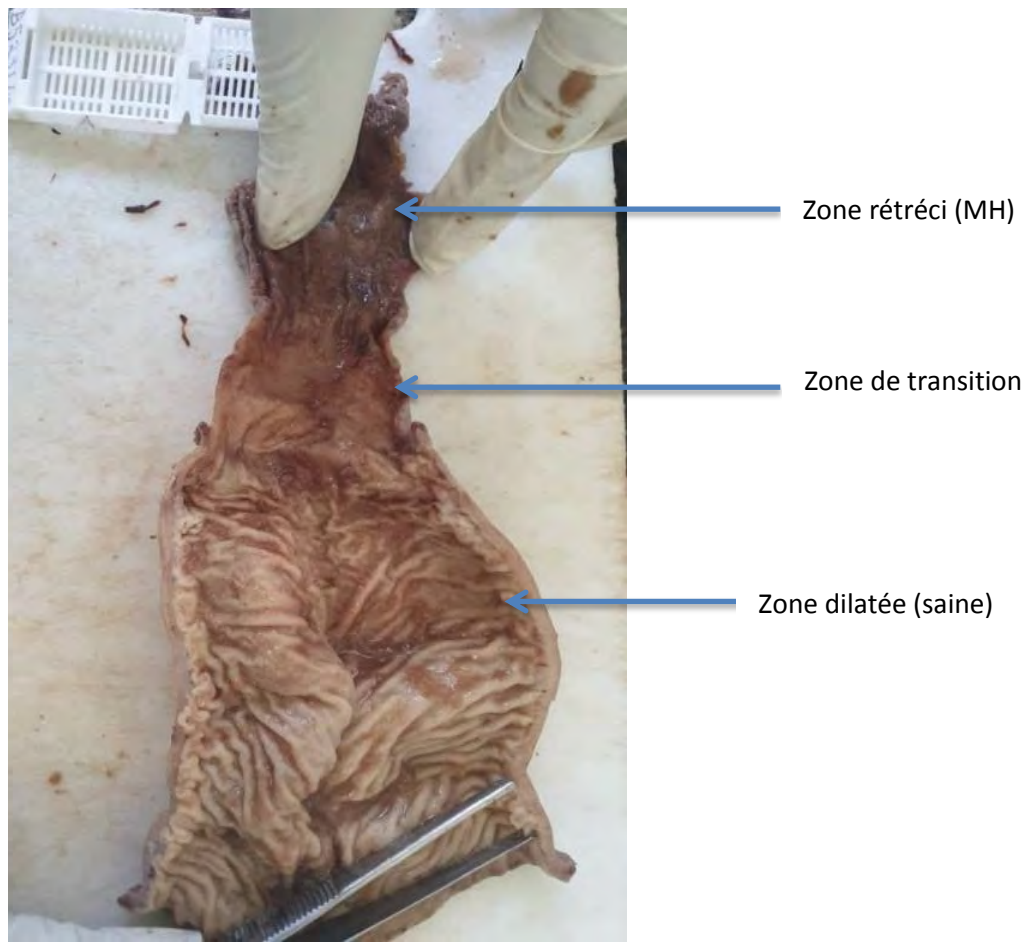
Le traitement de la MH est chirurgical à ce jour, et consiste, quel que soit la technique utilisée, à réséquer le segment aganglionnaire et rétablir la continuité intestinale.

La colectomie partielle voire totale constitue un prélèvement fréquemment envoyé aux laboratoires d'ACP pour rechercher la MH. Cette pièce de résection doit répondre à des impératifs très précis :

- Résection de la totalité du segment colique malade.
  - Abaissement d'un segment colique sain, normalement vascularisé, innervé et sans tension.
  - Respect de l'appareil sphinctérien et de l'innervation génito-urinaire.
- ✓ Techniques anatomo-pathologiques
- Examen macroscopique : [37]

L'examen macroscopique est sous la responsabilité médicale et s'effectue en plusieurs étapes. Quand il s'agit d'un prélèvement biopsique, l'examen macroscopique consiste à compter et mesurer les fragments biopsiques puis les inclure en totalité dans des cassettes identifiées.

En cas de PO (figure 6), le pathologiste doit :



**Figure 6: Aspect macroscopique d'une pièce de résection colique pour MH (Labo anapath UCAD).**

- Orienter le prélèvement reçu
- Observer à l'œil nu
- Prendre les dimensions
- Ouvrir la pièce à l'aide des ciseaux en la coupant sur sa longueur
- Décrire l'aspect observé : un temps capital dans l'examen macroscopique ; Il faut s'intéresser, lors de l'observation, aux plis muqueux et rechercher des lésions ulcératives ou bourgeonnantes...
- Echantillonner en effectuant des coupes sagittales au niveau des marges de résection puis des tranches étagées et orientées tous les 1cm
- Placer le matériel prélevé dans des cassettes identifiées de façon lisible (figure 7). L'ensemble des cassettes est regroupé dans le fixateur.



**Figure 7: Echantillonnage des pièces de résection (Labo anapath HOGIP)**

- Noter sur une feuille de travail les dimensions, la description macroscopique ainsi que l'identification et le nombre de cassettes utilisées. Ces informations figureront dans le compte rendu médical.

- Fixation :

Après l'examen macroscopique vient l'étape de fixation ; cette étape est cruciale pour la bonne qualité technique.

A ce jour, le meilleur fixateur utilisé est le formol tamponné à 10%.

Les prélèvements doivent être immédiatement immergés dans du formol.

Le délai moyen de fixation nécessaire est :

- d'au moins 12 heures pour les micro-biopsies;
- d'au moins 24 heures pour les biopsies chirurgicales;
- et d'au moins 48 heures pour les pièces de résection

- Déshydratation et l'inclusion en paraffine :

La déshydratation des prélèvements se fait grâce à des bains d'alcool à concentration croissante. Après la déshydratation, les échantillons sont inclus dans des blocs de paraffine.

- Coupes au microtome et la coloration :

Les coupes s'effectuent avec des lames rasoirs standards.

La coloration standard à l'HE est la coloration de choix.

#### -Examen microscopique : [24]

L'examen microscopique des échantillons effectués au niveau de la PO ou bien des fragments biopsiques reçus doit objectiver une raréfaction voire une absence des cellules ganglionnaires associée à une hyperplasie et/ou une hypertrophie des cellules schwanniennes.

En absence de cet aspect, il est difficile pour le médecin pathologiste de retenir le diagnostic de la MH.

#### ✓ Techniques complémentaires

##### ○ Coloration histo-enzymatique :

Sa réalisation nécessite des coupes au microtome sur des prélèvements congelés.

Le critère histochimique utilisé pour diagnostiquer la MH repose sur la présence de nombreuses fibres cholinergiques dans la musculaire muqueuse et la sous muqueuse.

Une réaction négative a été définie comme l'absence de fibre positive à la coloration histo- enzymatique.

Le résultat est considéré équivoque devant la présence focale de fibres nerveuses colorées qui se trouvaient dans la musculaire muqueuse et/ou la sous muqueuse sans faisceaux nerveux hypertrophiques. [38]

La technique la plus largement utilisée de ce type est l'histochimie à l'acétylcholinestérase (coloration AChE). Tacawira C et al [39] ont rapporté dans leur étude en 2015 que la sensibilité d'AChE est de 81.4% et que sa spécificité est de 98.3%.

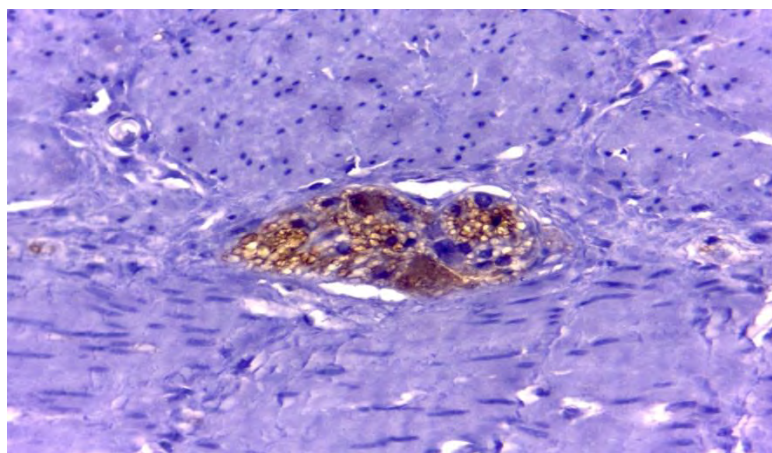
##### ○ Immunohistochimie :

Plusieurs marqueurs ont été étudiés pour évaluer leurs apports par rapport au diagnostic de la MH. Ces marqueurs sont utilisés pour rechercher les cellules

ganglionnaires (figure 8) ou bien pour mettre en évidence l'hyperplasie/hypertrophie des cellules schwanniennes.

Galazka P. et al [40] ont comparé en 2020 la sensibilité et la spécificité de plusieurs marqueurs et rapporté que la sensibilité de la périphérine (91.2%), le PS100 (97%), la calrétinine (74.4%), la BCl 2 (97%) et le CD 56 (91.2%). Par contre la spécificité est de 95.6% pour périphérine et de 100% pour autres.

Barshack et al. [8] ont montré l'aide que pouvait apporter la présence ou non de l'expression de la calrétinine dans MH. Les biopsies faites dans le cadre d'une suspicion de Hirschsprung sont de plus en plus des biopsies superficielles faites par aspiration type Noblett; or celles-ci ont le désavantage d'être superficielles et d'être donc plus difficiles à interpréter ; la disparition d'une protéine normalement exprimée dans la sous-muqueuse comme la calrétinine est une aide importante au diagnostic lorsque celle-ci est associée à une hyperplasie des filets nerveux. Seule la biopsie rectale permet d'affirmer la MH.



Aspect histologique d'un filet nerveux présentant un marquage intense et diffus cytoplasmique et nucléaire à l'IHC pour la calrétinine (IHC x 400).

**Figure 8: Image histologique d'un filet nerveux marqué par la calrétinine (Labo anapath HOGIP).**



○ Génétique [41, 42, 43, 44, 45]

Trente pour cent des MH peuvent être associées à des malformations congénitales ou à une maladie génétique, entrant alors dans le cadre de formes syndromiques (trysonie 21, délétions du chromosome 10q ou 13q).

Actuellement, trois voies de signalisation différentes ont pu être reconnues :

- la voie RET dont le gène est localisé en 10q11.2 et dont le ligand est le Grial cell line-Derived Neurotrophic Factor, (GDNF), la liaison impliquant d'autres corécepteurs tels GRF alpha 1
- la voie de signalisation de l'endothéline du type B avec le récepteur EDNR et son ligand l'endothéline 3
- les facteurs de transcription Sry-relatcol transcription factor ( $50 \times 10$ ).

Au total, des mutations ont été retrouvées dans des gènes codant pour des molécules intervenant dans ces voies et en particulier huit gènes peuvent être mutés et associés à la MH.

Le fait important est qu'aucune des mutations observées n'a une pénétrance de 100% et que les corrélations avec la longueur de l'atteinte sont variables.

Au terme de l'examen histologique de la PO, le pathologiste précisera la forme de la MH selon l'étendu du niveau d'atteinte du colon.

On distingue selon Philippe Chomette [17] :

➤ la forme ultra courte

Elle est rare et son existence reste discutée, car elle intéresse un segment où les cellules ganglionnaires sont normalement peu abondantes. Les signes radiologiques sont peu différents de ceux du mégacôlon idiopathique. La rectomanométrie et la défecographie prennent là tout leur intérêt.

➤ La forme courte classique

Appelée également la forme recto-sigmoïdienne. Elle constitue 80% de toutes les formes de la MH. Elle se manifeste cliniquement par un retard d'émission méconiale. Elle peut se manifester également par une constipation et une distension abdominale progressive. L'épreuve à la sonde est positive.

La radiographie ASP montre une absence de l'aération rectale. Le lavement baryté montre un segment colique distendu et un autre rétréci ou de calibre conservé. Ces deux segments sont séparés par une zone de transition donnant un aspect en entonnoir.

➤ La forme longue

Elles surviennent dans 10 % des cas, et intéressent le colon gauche ou le colon transverse. Les signes sont habituellement les mêmes que dans la forme classique.

➤ La forme totale

Elle représente 10 % des cas. Elle survient avec une égale fréquence chez le garçon et chez la fille. Elle se révèle fréquemment à la période néonatale par un syndrome occlusif, leur pronostic autrefois sévère a été amélioré par les progrès diagnostiques et thérapeutiques.

L'ASP montre des signes d'occlusion basse avec une distension qui intéresse le grêle, le lavement opaque montre peu de signes objectifs : on peut trouver l'image d'un microcôlon, parfois un colon peu court avec aspect en point d'interrogation.

La rétention de la baryte reste le seul signe fiable mais l'urgence thérapeutique ne permet pas toujours de l'attendre.

## **2. Le diagnostic différentiel [44, 45]**

Se fait avec toutes les étiologies du syndrome obstructif intestinal, responsable d'occlusion ou de constipation chez l'enfant :

❖ **Occlusions organiques :**

Malformations anorectales, atrésie et sténose coliques, duplication colique.

❖ **Occlusions fonctionnelles**

Témoigne de l'immaturité fonctionnelle du colon et se manifeste par le syndrome du bouchon méconial (plug syndrome) le syndrome du petit colon gauche.

### ❖ Les pseudo-obstructions intestinales chroniques

Ce sont des situations cliniques caractérisées par un syndrome occlusif sans la mise en évidence d'un obstacle, ils regroupent en myopathies digestives et neuropathies digestives.

### ❖ Autres causes de constipation à la période néonatale

- Causes endocriniennes et métaboliques (hypothyroïdie, diabète insipide ...)
- Causes pharmacologiques (antiépileptique, neuroleptique...)

## 3. Facteurs étiologiques

Plusieurs théories ont été avancées mais sans qu'aucune d'entre elle ne soit retenue comme étiologie à part entière, ceci laisse suggérer l'origine multifactorielle.

### ❖ Hypothèse vasculaire [45]

Les phénomènes ischémiques ont été évoqués devant les anomalies vasculaires présentes au niveau du segment aganglionnaire, mais il semble que ces anomalies sont plutôt secondaires et non à l'origine de la maladie.

### ❖ Hypothèse virale [46]

Il semble y avoir une augmentation de l'incidence de l'infection à cytomégalo-virus chez les patients atteints de la maladie de hirschsprung, mais ce facteur viral semble avoir un rôle de cofacteur d'une pathologie multifactorielle.

### ❖ Hypothèse de neuromédiateur: [45]

La concentration du VIP (vasoactif intestinal peptide) est diminuée de façon significative au niveau de la zone aganglionnaire.

### ❖ Hypothèse auto-immune [42]

L'augmentation, au niveau de la zone aganglionnaire, de l'expression des antigènes de classe II du complexe majeur de l'histocompatibilité associée à une augmentation des lymphocytes T et des cellules NK suggère un caractère auto-immun à certains cas de Hirschsprung.

### ❖ Hypothèse génétique [47, 48, 49]

L'étiologie génétique est aujourd'hui admise par tout, il existe plusieurs des arguments en faveur de cette hypothèse :

- L'existence de forme familiale.
- L'augmentation de l'incidence dans certaines populations.
- Association à d'autres anomalies chromosomiques (trisomie 21).
- Le déséquilibre sex-ratio en faveur des garçons.

Plusieurs gènes ont été identifiés comme impliqués dans la MH, ainsi en trouve :

- Le proto-oncogène Ret ( rearranged during transfection)
- EDNRB (endothelin receptor B) et EDN3 (endothelin 3)
- Sox 10

L'explication de l'action de ces mutations semble avoir lieu à différents niveaux:

- Arrêt de migration des neuroblastes.
- Absence de différenciation.
- Déficit des nombres de cellules.

## **DEUXIEME PARTIE**

## **I.OBJECTIFS**

### **1. Objectif général**

L'objectif de notre travail était d'évaluer l'apport de l'immuno-marquage à la calrétinine dans le diagnostic de la MH à Dakar et de comparer ces résultats avec les résultats de l'examen morphologique standard.

### **2. Objectifs spécifiques**

- Etudier la répartition de la MH selon l'âge, le sexe
- Déterminer l'étendue de l'atteinte de la paroi colique dans la MH
- Evaluer l'apport de l'Ac anti calrétinine dans le diagnostic de la MH à Dakar
- Comparer les résultats IHC avec ceux d'HE
- Comparer nos résultats avec ceux rapportés par d'autres auteurs
- Proposer des recommandations visant à améliorer la qualité de la prise en charge de la MH à DAKAR.

## **II. MATERIELS ET METHODE**

### **1. Type d'étude**

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive des cas de MH (51 cas) colligés dans le laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques de HOGIP de Dakar.

### **2. Cadre et période d'étude**

Cette étude a été menée sur une période de 20 mois allant du 1<sup>er</sup> janvier 2018 au 31 août 2019.

Elle a été réalisée dans le service d'ACP de HOGIP en collaboration avec le CHU de Casablanca du Maroc.

**Le laboratoire d'ACP de HOGIP** se trouve au sein d'un établissement public de santé de niveau 4 en convention avec l'UCAD.

❖ Il comprend comme personnel :

- Un professeur assimilé, responsable de la chaire universitaire d'ACP au SENEGAL. Il coordonne l'activité de l'ACP sur toute l'étendue du territoire sénégalais. Il est spécialisé en néphro pathologie
- un maitre de conférences assimilé;
- trois techniciennes supérieures ;
- une aide-technicienne ;
- Deux secrétaires et des étudiants de nationalités diverses.

Cet hôpital réalise en moyenne 5000 examens histologiques et 2000 examens cytologiques avec 400 autopsies par an.

**Le laboratoire d'ACP d'IBN ROCHD de Casablanca (MAROC)** est un laboratoire situé au sein d'un établissement public de santé de niveau 4, également centre hospitalier universitaire.

❖ Le personnel est constitué :

- d'un professeur titulaire, responsable de la chaire universitaire d'ACP de Casablanca. Il coordonne l'activité de l'ACP ; spécialiste en neuropathologie.
- d'un professeur titulaire, spécialiste en dermatopathologie ;
- de deux (2) professeurs-assistants, respectivement spécialistes en hématologie et néphropathologie.
- de deux (2) médecins pathologistes attachés à l'hôpital ;
- de six techniciennes supérieures et de six aide-techniciens ;
- de trois secrétaires;
- et des étudiants de diverses nationalités, inscrits pour la formation et l'obtention du DES en ACP.

❖ En moyenne 6000 examens histologiques et 500 examens cytologiques sont effectués par an.

### **3. Matériel d'étude et paramètres étudiés**

- ✓ Archives des comptes rendus d'ACP

Cette étude s'est basée sur des blocs et des comptes-rendus anatomopathologiques de la MH du laboratoire d'ACP de HOGIP.

Une fiche de renseignements standardisée a été confectionnée pour le recueil des données.

Les paramètres suivants y ont été reportés (voir annexe) : l'année du diagnostic, l'identification du patient (n° dossier anatomopathologique, nom et prénoms, âge, sexe), le type du prélèvement, site du prélèvement (zone saine, zone pathologique), l'immuno-marquage à la calrétinine (positive, négative), l'étendu de l'atteinte (courte, longue, totale, ultra courte).

✓ Les blocs et les lames d'archives :

Grâce aux numéros d'enregistrement du laboratoire d'ACP de HOGIP, les lames étaient recherchées, et les blocs ont été recoupés. Ces deux matériels ont servi à la relecture au microscope optique et à l'examen immunohistochimique.

#### **4. Méthodologie**

Nous avons procédé à l'analyse descriptive des aspects épidémiologiques des cas répertoriés. Les items suivants : l'âge, le sexe, ont été recherchés pour cette analyse.

Nous avons également analysé les aspects morphologiques de la MH au microscope optique. Nous nous sommes intéressés à l'aspect des limites, la tunique atteinte de la paroi, la forme topographique, puis au profil immuno histo chimique.

Dans notre étude, nous avons examiné 29 prélèvements biopsiques et 22 pièces opératoires.

Les biopsies intéressaient la zone lésionnelle (aganglionnaire) dans 22 cas et dans 7 cas, la zone saine.

Pour les pièces opératoires, il s'agissait de 10 prélèvements effectués en zone lésionnelle et 12 en saine.



Les blocs ont été désinclus par la fonte de la paraffine ancienne dans un moule, les prélèvements sont alors récupérés puis réinclus dans une paraffine neuve, ils sont ensuite refroidis sur plaque froide, et on obtient ainsi de nouveaux blocs de paraffine. Ces nouveaux blocs de paraffine seront dégrossis, puis coupés au microtome en rubans (épaisseur du ruban= 3 micromètres). Les rubans seront par la suite étalés, colorés, montés entre lame et lamelle puis relus au microscope optique.

Dans notre série, nous avons procédé à l'étude immunohistochimique au laboratoire d'ACP du CHU IBN ROCHD de Casablanca au Maroc. Nous avons testé l'Ac anti calrétinine sur l'ensemble des 51 cas.

La technique immuno-histochimique effectuée de manière automatisée, Autostainer ThermoFischer 480S avec témoins externes positifs.

Protocole Suivi pour les différents blocs :

- Coupe à 2µm sur des lames chargées positivement
- Incubation à 85°C dans l'étuve → 2h
- Démasquage à 95°C au bain marie dans un pH medium (marque thermo) → 35min
- Refroidissement → 35min
- Rinçage au PBS
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → 10min
- Rinçage au PBS
- Protéine bloquante → 10min
- Egouttage des lames
- Anticorps primaire (CALRETININ) → 30min
- Rinçage au PBS
- Amplificateur → 30min
- Rinçage au PBS
- Anticorps secondaire (HRP) → 20min
- Rinçage au PBS

- DAB → 10min
- Rinçage au PBS
- Rinçage à l'eau distillé
- Contre coloration par l'Hemalun → 1min30s
- Rinçage à l'eau courant
- Déshydratation
- Montage

Dans notre étude, le diagnostic de MH à l'examen histologique standard (HE) était basée sur l'absence de cellules ganglionnaires au niveau du plexus sous muqueux (Meissner) et au niveau du plexus myentérique (Auerbach).

L'immuno-réactivité à la calrétinine avait été observée au niveau de ces plexus suscités et se présentait par un marquage nucléaire et cytoplasmique des cellules ganglionnaires et des filets nerveux.

En cas de MH, on observe une absence de marquage des plexus nerveux.

Les données recueillies ont été exploitées et analysées par les logiciels Excel 2010 et SPSS20.0.

Sensibilité (SE): La probabilité que les cellules ganglionnaires soient absentes chez des patients de MH.  $SE = A/A+C$

Spécificité (SP): la probabilité que les cellules ganglionnaires soient présente chez des patients non MH.  $SP = B/B+D$

A= Patients avec HE et IHC négative

B= Patients avec HE négative et IHC positive

C=Patients avec HE positive et IHC négative

D= Patients avec HE et IHC positive

Indice kappa est une mesure d'accord entre 2 codeurs seulement.

Indice kappa = nombre de cas concordants/ nombre total des patients

## **5. Critères d'inclusion**

Nous avons retenu tous les comptes rendus d'examens anatomopathologiques où une MH était cliniquement suspectée quel que soit le résultat final.

## **6. Critères d'exclusion**

Les cas éliminés de notre étude étaient ceux avec un prélèvement inadéquat ramenant tissu fibreux ne permettant pas de situer le siège du prélèvement par rapport à la paroi, ou un prélèvement superficiel ramenant une muqueuse colique subnormale.

### III. RESULTATS

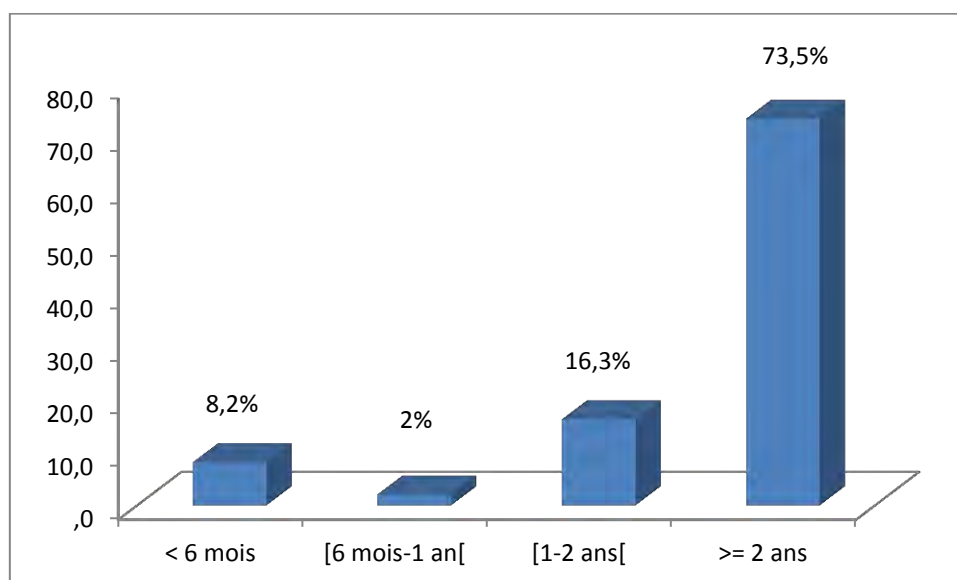
#### 1. Aspects épidémiologiques

Durant notre période d'étude allant du 1er janvier 2018 au 31 août 2019 (20 mois); nous avons colligé 51prélèvements histologiques où une MH était suspectée. La fréquence moyenne mensuelle était de 2,5 cas par mois.

##### 1.1. Age

L'âge moyen des patients était de 3,4 ans  $\pm$  2,93 (écart-type) avec un âge médian de 2.5 ans et des extrêmes de 10 jours et de 13 ans.

La tranche d'âge la plus représentée était celle supérieure ou égale à 2 ans, soit 73.5% (figure 9)



**Figure 9: Répartition des patients en fonction des tranches d'âge.**

## 1.2. Sexe

Une nette prédominance masculine était observée avec 34 garçons (66,67 %), contre 17 filles (33,33%), soit un sexe ratio de 2 comme le montre le tableau I.

**Tableau I: Répartition des patients en fonction du sexe**

| <b>Sexe</b>  | <b>Effectifs<br/>(n)</b> | <b>Pourcentage<br/>(%)</b> |
|--------------|--------------------------|----------------------------|
| Masculin     | 34                       | 66,67                      |
| Féminin      | 17                       | 33,33                      |
| <b>Total</b> | <b>51</b>                | <b>100,00</b>              |

## 2. Aspects anatomo-pathologiques :

### 2.1. Type de prélèvement :

Dans notre série, tous les prélèvements avaient fait l'objet d'un examen anatomo-pathologique standard.

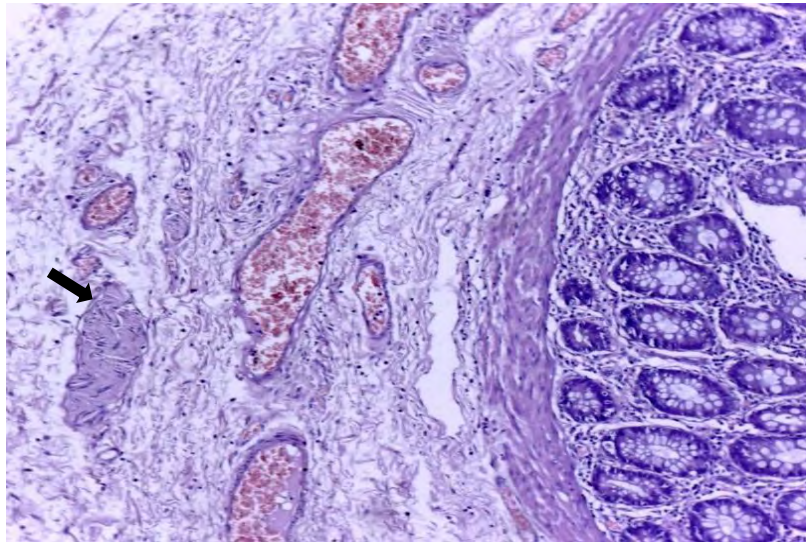
Les prélèvements étaient constitués de biopsies dans 56.86% des cas et de pièces de résection colique dans 43.14% des cas (le tableau II).

**Tableau II: Répartition des cas selon le type de prélèvement.**

| <b>Type de prélèvement</b> | <b>Effectifs<br/>(n)</b> | <b>Pourcentage<br/>(%)</b> |
|----------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Biopsie                    | 29                       | 56,86                      |
| Pièce opératoire           | 22                       | 43,14                      |
| <b>Total</b>               | <b>51</b>                | <b>100,00</b>              |

## 2.2. Immuno-marquage à la calrétinine

Dans notre étude, le diagnostic de MH à l'examen histologique standard (HE) était basée sur l'absence de cellules ganglionnaires au niveau du plexus sous muqueux de Meissner (figure 10) et au niveau du plexus myentérique (Auerbach).



Aspect histologique d'un filet nerveux (flèche noir) dépourvu de cellule ganglionnaire (HE x 200).

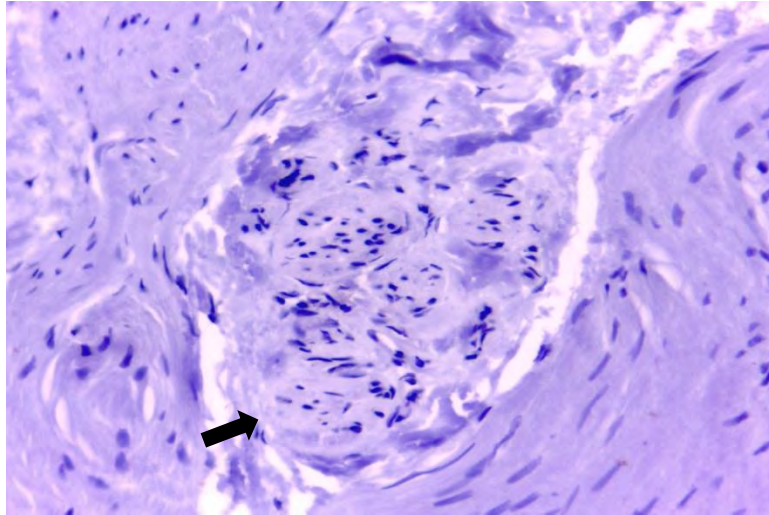
**Figure 10: Image histologique d'un filet nerveux (Labo anapath HOGIP).**

L'immuno-réactivité à la calrétinine avait été recherchée au niveau de ces plexus suscités et devait se présenter par un marquage nucléaire et cytoplasmique des cellules ganglionnaires et des filets nerveux.

En cas de MH, on observe une absence de marquage des plexus nerveux.

Une absence d'immuno-marquage à la calrétinine (figure 11) était observée sur 30 des 32 prélèvements effectués sur zone malade (aganglionnaire) confirmant ainsi le diagnostic posé à l'HE.

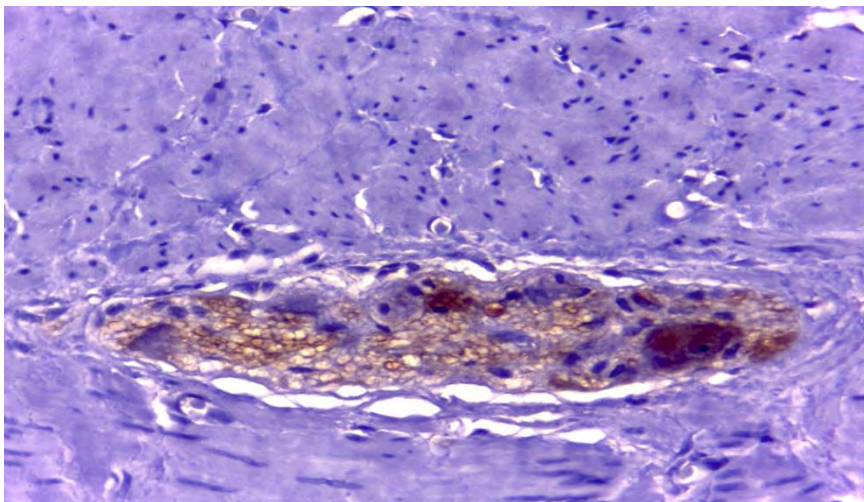




Aspect histologique d'un filet nerveux négatif à la calrétinine (Flèche noire)  
(IHC x 400).

**Figure 11: Image histologique d'un filet nerveux (Labo anapath HOGIP).**

Un immuno-marquage à la calrétinine (figure 12) avait été noté chez 17 sur les 19 échantillons qui concernaient la zone saine après examen à l'HE.



Aspect histologique de cellules ganglionnaires présentant un marquage cytoplasmique et nucléaire à la calrétinine (IHC x 400).

**Figure 12: Image histologique d'un filet nerveux (Labo anapath HOGIP).**

Chez 4 patients, une discordance entre l'examen standard à l'HE et l'examen IHC à la calrétinine était observée dont 2 étaient des faux positifs et 2 faux négatifs (Tableau III).

Un résultat était considéré faux positif s'il concerne un prélèvement ne montrant pas de cellules ganglionnaire à l'examen HE et dont l'examen IHC à la calrétinine est revenu positif.

Ces résultats concernaient 2 patients âgés de 16 mois et de 10 mois, l'un était de sexe féminin dont le marquage à l'IHC était intense et diffus et l'autre était de sexe masculin présentant un marquage léger et focal. Le type de prélèvement chez les 2 patients était une PO.

Un résultat était dit faux négatif s'il montre une zone saine (présence de cellules ganglionnaires) à l'examen standard HE, et dont l'examen IHC à la calrétinine est revenu négatif (figure 13).

Les 2 patients étaient de sexe masculin, âgés de 10 jours et de 2 ans et le type de prélèvement chez ces 2 patients était une biopsie.

Dans notre cohorte, la sensibilité de la calrétinine à poser le diagnostic de MH était de 93,75% avec un taux de spécificité de 89,47%.

L'indice kappa était de 0.92.

**Tableau III: Comparaison des résultats HE et IHC à la calrétinine.**

|                       | HE           | IHC<br>Calrétinine | Nombre de cas |
|-----------------------|--------------|--------------------|---------------|
| <b>Plexus nerveux</b> | +            | +                  | 17            |
| <b>Plexus nerveux</b> | +            | -                  | 2             |
| <b>Plexus nerveux</b> | -            | -                  | 30            |
| <b>Plexus nerveux</b> | -            | +                  | 2             |
|                       | <b>Total</b> |                    | 51            |



### 2.3. Formes selon l'étendu

La forme topographique de la MH correspond au niveau anatomique du colon concerné par l'aganglionose.

Dans notre série, la forme topographique était précisée chez 17 patients, soit 33.3% (Tableau IV). Il s'agissait d'une forme :

- courte chez 14 patients (82.3%),
- étendue chez 2 patients (11.8%),
- totale chez un patient (5.9%).

**Tableau IV: Répartition des cas selon les formes.**

| <b>Formes histologiques</b> | <b>Fréquences<br/>(n)</b> | <b>Pourcentage<br/>(%)</b> |
|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Courte                      | 14                        | 82.3                       |
| Etendue                     | 2                         | 11.8                       |
|                             | 1                         | 5.9                        |
| Totale                      |                           |                            |
| <b>Total</b>                | <b>17</b>                 | <b>100,00</b>              |

## **IV. DISCUSSION**

### **1. Epidémiologie**

#### **1.1. Age**

Le diagnostic de la MH est posé dans la plupart chez les nouveaux nés. Cependant, certains patients sont diagnostiqués soit au cours de leur enfance soit à l'âge adulte [50].

Hervieux E. [51] dans son étude, avait constaté que l'âge médian est de 16 jours et les extrêmes étaient de 2 jours et 8 ans. Musa et al. [52] en Irak avaient noté, sur 48 cas suspects de MH, un âge médian de 1.62 an et des extrêmes d'un mois et 9 ans. La plupart des patients avaient un âge inférieur à 2 ans. En 2013, Bouamama H. [53] avait rapporté dans son étude portant sur 72 cas de MH, 69% de patients de moins d'un mois.

Dans notre étude, la moyenne d'âge était de 3.93 ans avec des extrêmes de 10 jours et 13 ans. La majorité de nos patients (73.5%) avait un âge supérieur ou égal à 2 ans. Ces observations étaient proches de celles de Kanouté [24] au Mali, qui avait trouvé un âge moyen de 4.97ans et des extrêmes de 1 mois et 14 ans (tableau V).

Ces différences d'âge seraient liées un retard diagnostique et à une méconnaissance de la maladie. En effet, dans les pays en voie de développement, beaucoup d'accouchements se font encore à domicile et dans des postes de santé où il n'existe pas médecins.

**Tableau V: Comparaison des patients atteints de MH en fonction de l'âge selon différents auteurs.**

|                              | <b>Notre étude</b> | <b>Kanouté</b> | <b>Hérveux</b> | <b>Musa et al.</b> | <b>Bouamama</b> |
|------------------------------|--------------------|----------------|----------------|--------------------|-----------------|
|                              | <b>Sénégal</b>     | <b>Mali</b>    | <b>France</b>  | <b>Irak</b>        | <b>Maroc</b>    |
|                              | <b>(2020)</b>      | <b>(2019)</b>  | <b>(2013)</b>  | <b>(2017)</b>      | <b>(2013)</b>   |
|                              |                    | <b>[24]</b>    | <b>[51]</b>    | <b>[52]</b>        | <b>[53]</b>     |
| <b>Age moyen de la série</b> | 3.93 ans           | 4.97 ans       | -              | 1,62 an            | -               |
| <b>Extrême d'âge</b>         | 10 j-13 ans        | 1 mois- 14 ans | 2 j - 8 ans    | 1 mois - 9 ans     | 1 j – 14 ans    |
| <b>Tranche plus touchée</b>  | ≥ 2 ans            | ≥ 2 ans        | < 1 mois       | < 2 ans            | < 1 mois        |

## 1.2. Sexe

En Tanzanie, Mabula et al [54] avaient étudié 110 cas diagnostiqués MH et avaient constaté que 86 patients étaient de sexe masculin, soit 78.2%, et 24 étaient de sexe féminin, soit 21.8%.

En Irlande, Bradnock [55] avaient étudié 304 patients et avaient constaté que 76.97% étaient des garçons et 23.03% étaient des filles, soit un sexe ratio de 3.4 : 1.

En 2016, Lof-Granstrom et al [1] avaient étudié 600 patients atteints de MH en Suède. Ils ont rapporté que 78.2% de leur cohorte étaient des garçons et 21.8% étaient des filles.

Kazemi Aghdam et al [56] en Iran avaient étudié 36 cas de MH. Ils avaient noté que 24, soit 66.7% étaient des garçons et 12, soit 33.3% étaient des filles.

Dans notre étude, 34 étaient de sexe masculin, soit 66.7% et 17 étaient de sexe féminin, soit 33.3%.

Cette nette prédominance masculine observée dans notre série avait été rapportée par plusieurs autres auteurs (Tableau VI). Cependant, nos résultats étaient quasi identiques à ceux de Kazemi Aghdam et al.

**Tableau VI: Comparaison des patients atteints de MH en fonction du sexe selon différents auteurs.**

|                    | <b>Notre<br/>étude<br/>Sénégal<br/>(2020)</b> | <b>Mabula J.B<br/>Tanzanie<br/>(2014)<br/>[54]</b> | <b>Bradnock<br/>T.J<br/>R.U/ Irlande<br/>(2017)<br/>[55]</b> | <b>Lof<br/>Granstrom<br/>A.<br/>Suède<br/>(2016)<br/>[1]</b> | <b>Kazemi<br/>Aghdam<br/>M. Iran<br/>(2019)<br/>[56]</b> |
|--------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Garçons (%)</b> | 66.7                                          | 78.2                                               | 77.6                                                         | 78.2                                                         | 66.7                                                     |
| <b>Filles (%)</b>  | 33.3                                          | 21.8                                               | 22.4                                                         | 21.8                                                         | 33.3                                                     |
| <b>Sexe ratio</b>  | 2                                             | 3.6                                                | 3.4                                                          | 3.6                                                          | 2                                                        |

## **2. Aspects anatomopathologiques**

### **2.1. Type du prélèvement**

Dans notre série, les prélèvements biopsiques étaient majoritaires avec 29 cas, soit 56.86%.

Kannaiyan L et al. [57] dans leur étude qui portait sur 60 patients, avaient noté 60% de biopsies contre 40% des PO.

Elhalaby et al. [58] en 2015, avaient observé un nombre similaire de biopsies (31) et de PO (30). (Tableau VII).

**Tableau VII: Comparaison du type du prélèvement selon différents auteurs.**

|                     | <b>Notre étude<br/>Sénégal<br/>(2020)</b> | <b>Kannaiyan L.<br/>Inde<br/>(2013)<br/>[57]</b> | <b>Elhalaby E.R<br/>Egypte<br/>(2016)<br/>[58]</b> |
|---------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>Biopsies (%)</b> | 56.86                                     | 60                                               | 50.82                                              |
| <b>PO (%)</b>       | 43.14                                     | 40                                               | 49.18                                              |
| <b>Totale (%)</b>   | 100                                       | 100                                              | 100                                                |

Le diagnostic de MH peut se faire à l'examen histologique standard (HE) sur biopsies à condition qu'elle soit effectuée à 3cm au-dessus de la ligne pectinée et en zone profonde, ramenant la sous muqueuse et la musculuse afin de pouvoir visualiser les plexus nerveux sous muqueux et myentériques.

Actuellement, avec l'aide de l'IHC, le diagnostic de MH peut se poser sur des biopsies superficielles (autrefois jugées inadéquates avec les techniques standards) en utilisant différents marqueurs notamment la calrétinine, PS100, NSE, périphérine, synaptophysine, etc... [40, 56, 59, 60, 61, 62]

Sur les PO, il s'agira de confirmer le diagnostic et d'apprécier l'état des limites de résection et l'étendue de la lésion.

## **2.2. Immuno-marquage à la calrétinine**

Seul l'examen histologique permet d'affirmer le diagnostic de certitude MH, d'où la nécessité de bien choisir la zone prélevée pour éviter un résultat faux positif ou faux négatif.

De façon normale, la zone du sphincter anal contient peu ou pas de cellules ganglionnaires.

Parallèlement, à côté de cette pauvreté en cellules ganglionnaires dans cette région, est constatée une hyperplasie des filets nerveux. C'est pour cette raison qu'il convient de réaliser la biopsie rectale diagnostique bien au-dessus de la ligne pectinée (2 cm chez le nouveau-né ou nourrisson et 3 cm chez l'enfant). De plus, les biopsies peuvent être d'interprétation difficile chez le nouveau-né, car les cellules des plexus myentériques sont souvent immatures à ce stade [31, 32].

Le pathologiste a parfois recours à d'autres techniques, notamment l'examen IHC à la calrétinine pour mettre en évidence la présence ou l'absence des cellules ganglionnaires.

La calrétinine est une protéine de liaison au calcium dépendante de la vitamine D, impliquée dans la signalisation du calcium, qui joue un rôle important dans l'organisation et le fonctionnement du système nerveux central. [63]

L'immuno-marquage à la calrétinine intéressait les cellules ganglionnaires des plexus de Meissner et d'Auerbach. Il a été observé au niveau du cytoplasme et du noyau. L'immuno-marquage à la calrétinine était également observé au niveau de la lamina propria et au niveau de la musculaire muqueuse marquant les filets nerveux.

Nous n'avons pris en considérations que le marquage des cellules ganglionnaires et des filets au niveau des 2 plexus nerveux.

Dans notre série, sur les 51 prélèvements étudiés, 32 avaient intéressés la zone malade, et 19 la zone saine. L'immuno-marquage à la calrétinine était observé chez 19 cas et absents chez 32 cas avec 2 résultats faux négatifs et 2 résultats faux positifs.

Le résultat de l'IHC était concordant avec le résultat HE chez 47 patients ; soit 92.15% des cas et non concordant chez 4 patients, soit 7.85% des cas.

La sensibilité était de 93.75%, la spécificité de 89.47% et l'indice kappa de 0.92. En Inde, Keerthi et al. [64] avaient comparé le résultat HE et IHC à la calrétinine chez 53 patients sur une période de 2015 à 2017. Ils avaient

considéré comme résultat positif tout immuno-marquage intéressant le noyau et/ou le cytoplasme des cellules ganglionnaires au niveau de la sous muqueuse et la musculature.

Sur les 53 cas examinés, le résultat IHC était concordant avec celui de l'HE chez 49 cas (92%), dont 45 montraient la présence de cellules ganglionnaires et 4 montraient l'absence de ces cellules.

Le résultat IHC était non concordant chez 4 cas (8%) dont 3 étaient des faux positifs et un était un faux négatif. L'indice kappa rapporté dans cette étude était 0.925.

Galazka et al. [40] en 2020 en Pologne, avaient effectué un examen IHC à la calrétinine sur 26 patients diagnostiqués MH à l'examen standard HE.

La concordance entre HE et IHC avait intéressé 23 patients et la discordance 3 patients, soit respectivement 88.47% et 11.53%.

La sensibilité rapportée dans cette étude était de 76.4% et la spécificité était de 100%.

Tran VQ. et al. [65] avaient étudié 188 cas suspects de MH au Vietnam en 2016. L'examen standard à l'HE avait posé le diagnostic de MH chez 96 patients et éliminé le diagnostic de MH chez 92.

L'examen IHC à la calrétinine avait objectivé une absence de cellules ganglionnaires chez 81 cas, soit un taux de concordance de 84.37%, et une présence de cellules ganglionnaire chez 107 patients. Le diagnostic était discordant chez 15 patients, soit un taux de 15.63%, ce qui traduit une sensibilité de 100% et une spécificité de 99.1%. L'indice kappa était 0.99 dans cette étude.

En Indonésie en 2017, Setiadi JA et al. [66] avaient examiné 23 patients.

Quatorze sur les 23 patients sont revenus en faveur de la MH à l'examen HE. Sur ces 14, 12 ont montré une absence de marquage à la calrétinine confirmant ainsi le résultat rapporté par l'examen HE, et 2 ont montré une présence de cellules ganglionnaires éliminant ainsi le diagnostic de MH.

Sur les 9 non MH, l'IHC à la calrétinine avait montré un marquage au niveau de 6 patients et, sur les 3 cas restants, une absence de marquage.

Dans cette étude, le taux de concordance était de 78.26%, et le taux de discordance 21.74%. La sensibilité était de 80% et la spécificité 75%.

Musa et al. [52] en Irak, avaient étudiés en 2017, 48 patients suspects cliniquement de MH. Une absence de cellule ganglionnaire dans la sous muqueuse et la musculuse était notée chez 40 cas qui sont revenus négatifs à la calrétinine confirmant ainsi le diagnostic de MH, et une présence des cellules ganglionnaires chez 8 cas qui sont revenus positifs à la calrétinine.

La sensibilité et la spécificité de la calrétinine dans la confirmation de la MH étaient de 100%.

Des auteurs se sont intéressés à l'apport de l'examen IHC à la calrétinine sur des prélèvements provenant de la zone de transition.

L'étude de Rakhshani et al. [67] avait porté sur 94 patients suspects de MH de 2007 à 2011.

Soixante- dix prélèvements (70) provenaient de la zone lésionnelle, 14 de la zone saine et 10 de la zone de transition.

L'examen standard à l'HE avait mis en évidence une absence de cellule ganglionnaire au niveau des prélèvements de la zone malade et de la zone de transition, et une présence de cellule ganglionnaire était observée au niveau des 14 prélèvements de la zone saine. L'immuno-marquage à la calrétinine était discordant uniquement sur 3 prélèvements de la zone de transition où il a objectivé la présence de cellules ganglionnaires.

La concordance dans cette étude entre l'examen HE et la calrétinine était de 96.25%, la discordance 3.75%, la sensibilité était de 71.4% et la spécificité 96.2%.

Nos résultats, comme le montre le tableau VIII, rejoignent les résultats de Keerthi et al. [64] avec des taux de concordance de 92% et un indice de kappa



de 0.92. Ils étaient proches de ceux rapportés par Galazka et al. [40] et Rakhshani et al. [67]

Dans l'étude de Musa et al, la concordance entre l'examen HE et IHC était de 100%.

**Tableau VIII: Comparaison de la concordance /discordance entre IHC et HE et IHC à la calrétinine selon différents auteurs.**

|                            | <b>Notre<br/>étude<br/>Sénégal<br/>(2020)</b> | <b>Keerthy<br/>Inde<br/>(2019)<br/>[64]</b> | <b>Galazka<br/>Pologne<br/>(2020)<br/>[40]</b> | <b>Musa<br/>Irak<br/>(2017)<br/>[52]</b> | <b>Rakhshani<br/>Iran<br/>(2016)<br/>[67]</b> |
|----------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>Concordance<br/>(%)</b> | 92.15                                         | 92                                          | 88.47                                          | 100                                      | 96.25                                         |
| <b>Discordance<br/>(%)</b> | 7.85                                          | 8                                           | 11.53                                          | -                                        | 3.75                                          |
| <b>Totale (%)</b>          | 100                                           | 100                                         | 100                                            | 100                                      | 100                                           |

La calrétinine facilite le diagnostic de MH en immunohistochimie sur les prélèvements biopsiques et les pièces en marquant les cellules ganglionnaires et les filets nerveux au niveau des plexus nerveux mais également au niveau des filets du chorion de la muqueuse et de la musculaire muqueuse [56, 60, 68].

Son rôle est indispensable dans les cas de biopsies superficielles ne ramenant pas de plexus nerveux rendant impossible l'identification des cellules ganglionnaires à l'examen standard HE [2, 59].

Sur certains prélèvements, le résultat est ambigu (équivoque) à l'examen HE ; notamment chez des cas qui montrent une raréfaction des cellules ganglionnaires

associée à une discrète hyperplasie des filets nerveux d'où la nécessité de recourir à l'immunohistochimie [58, 67].

Les biopsies effectuées chez les nouveaux nés et les nourrissons âgés de moins de 39 jours peuvent parfois être d'interprétation difficile du fait de la différenciation incomplète des cellules ganglionnaires avec risque de poser à tort le diagnostic d'une MH. Il est admis également que la biopsie chez le grand enfant peut ne pas fournir des échantillons de tissu adéquats pour l'analyse. Cela pourrait être lié à une distension excessive de la paroi rectale par un œdème muqueux ou une augmentation du tissu fibreux particulièrement en cas de biopsie par aspiration. Certains auteurs estiment que cela peut être vrai même chez les nourrissons de plus de 6 mois [3, 68, 69].

Les faux négatifs après l'IHC peuvent être liés aux prélèvements (problèmes liés aux conditions pré-analytiques) mais également à l'Ac (condition de conservation, durée de péremption...).

Les faux positifs après IHC peuvent être dus à un marquage de cellules non nerveuses, essentiellement les mastocytes et, plus rarement, de cellules non nerveuses ayant subi des modifications cytologiques suite à une infection au cytomégalovirus. Ces cellules seront prises pour des cellules ganglionnaires et éliminent un diagnostic de MH. [5]

Une autre hypothèse peut être évoquée devant un résultat faux positif. Les fibres nerveuses immuno-réactive à la calrétinine de la lamina propria provenant de la partie colique ganglionnaire ou bien de la zone de transition, peuvent s'étendre à la partie colique non ganglionnaire où l'échantillonnage a été effectué. Le marquage des filets nerveux dans un segment colique aganglionnaire peut être un piège réel et nécessitera une évaluation continue des biopsies suffisamment échantillonnées avec une sous-muqueuse adéquate [70, 71].

Devant ces situations (aspect morphologique ambigu et risque de faux résultat immunohistochimique), certains auteurs ont mené des études sur l'apport de l'utilisation d'un ou de plusieurs marqueurs immunohistochimiques associés ou

non à une coloration enzymatique mettant en évidence les cellules ganglionnaires et l'hyperplasie nerveuse [38, 39, 72, 73].

Le diagnostic de MH peut être éliminé à tort à l'examen HE et également à l'examen IHC devant une situation particulière ; la MH à segment de saut.

C'est une entité rare qui a été décrite pour la 1<sup>er</sup> fois en 1954 par Keefer et al. [74]. Il s'agit d'une aganglionose colique comportant un ou plusieurs foyers ganglionnaires de taille et de densité variables, autrement dit, un ou plusieurs foyers de côlon normalement innervé au sein d'un côlon aganglionnaire.

L'étendue de cette lésion est variable d'un patient à l'autre. Le foyer ganglionnaire peut être unique ou multiple et de siège variable.

Cette entité est la preuve qu'une seule biopsie colique peut éliminer le diagnostic de MH si le prélèvement était effectué hasardement au niveau d'un foyer ganglionnaire, d'où la nécessité d'analyser des biopsies coliques étagées avant d'éliminer formellement une MH [75, 76]

### **2.3. Formes selon l'étendue :**

La définition des formes topographiques changent d'un auteur à l'autre.

Nous avons considéré dans notre étude que ; une forme ultra courte est une aganglionose qui intéresse le rectum, une forme courte ou classique s'étend jusqu'au sigmoïde, une forme longue ou étendue s'étend jusqu'au l'angle colique gauche, une forme totale intéresse tout le colon voire le grêle.

Dans la cohorte de Neuvonen et al. [77] en Finlande, en 2015, portant sur 146 patients diagnostiqués MH, la forme courte était la plus fréquente avec un taux de 83%, suivie par la forme totale (10%), puis la forme étendue (7%).

Bedabrata et al. [68] avaient rapporté en 2016, après avoir étudié en Inde 104 patients atteints de MH, une prédominance de la forme classique (courte), constatée chez 83 cas, soit 79.8%. La forme longue 11 cas, la forme totale 9 cas, et la forme ultra courte un cas, soit respectivement, 10.58%, 8.65%, et 0.97%.

Anwarul et al. [78] au Bangladesh, en 2018, sur 50 patients, la forme courte représentait 72%, la forme étendue 24% et la forme totale 4%.

Notre étude a montré une prédominance de la forme courte avec un taux de 82.3%, la forme étendue était observée chez 2 patients, soit 11.8% et la forme totale chez un patient, soit 5.9%.

La prédominance de la forme courte notée dans notre série était également rapportée dans plusieurs d'autres études (tableau IX)

**Tableau IX: Comparaison des topographique selon différents auteurs.**

|                                | <b>Notre étude<br/>Senegal</b> | <b>Nevenon<br/>Finland<br/>(2015)<br/>[74]</b> | <b>Bedabrata<br/>Inde<br/>(2016)<br/>[68]</b> | <b>Anwarul<br/>Bengladesh<br/>(2018)<br/>[75]</b> |
|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>F. courte (%)</b>           | 82.3                           | 83                                             | 79.8                                          | 72                                                |
| <b>F. longue (%)</b>           | 11.8                           | 7                                              | 10.58                                         | 24                                                |
| <b>F. totale (%)</b>           | 5.9                            | 10                                             | 8.65                                          | 4                                                 |
| <b>F. ultra courte<br/>(%)</b> | -                              | -                                              | 0.97                                          | -                                                 |
| <b>Total</b>                   | 100                            | 100                                            | 100                                           | 100                                               |

Dans notre série, aucune forme ultra courte n'avait été observée. Cette forme constitue un véritable problème de diagnostic pour le pathologiste si le site du prélèvement était mal choisi. Rodas et al. [79] en 2020 avaient rapporté le cas d'une patiente de 4 ans et qui présentait une MH dans sa forme ultra courte. Trois biopsies étaient effectuées respectivement à 3, 5 et 10cm de la marge

anale ; seule la biopsie à 3 cm était revenue en faveur de la MH. Les 2 autres biopsies avaient ramené une paroi colique normalement innervée.

Dans cette forme, l'hypo ganglionose ou bien l'aganglionose intéresse une zone physiologiquement pauvre en cellules ganglionnaires.

La différence entre une zone rectale normale et une zone rectale avec MH est, selon Lusine et al. [5], la présence quasi constante d'au moins une cellule ganglionnaire dans le rectum sain dans un prélèvement ramenant une sous muqueuse adéquate contrairement au rectum avec MH où il y a une absence de cellules ganglionnaires associée à une hypertrophie de cellules de Schwann.

# **CONCLUSION**

La maladie de Hirschprung (MH) est une anomalie congénitale du système nerveux entérique caractérisé par une raréfaction voire absence de cellules ganglionnaires associée à une hyperplasie des cellules de Schwann intéressant tout le côlon ou un segment du côlon. Cette maladie se voit le plus souvent au cours de la période néonatale où elle se présente par un retard d'émission de méconium, elle peut se voir également chez l'enfant et exceptionnellement chez l'adulte.

Son diagnostic repose sur des données cliniques et radiologiques mais, seul l'examen histologique peut donner un résultat formel et préciser, en fonction de l'étendu de l'atteinte, la forme de la MH.

Une évaluation appropriée de la présence des cellules ganglionnaires nécessite principalement un échantillonnage adéquat des tissus et une préparation minutieuse des échantillons.

Le diagnostic de la MH peut s'avérer difficile dans certaines situations :

- patient âgé de moins de 40 jours et jusqu'à 6 mois avec des cellules ganglionnaires immatures et indifférenciées
- siège de la biopsie rectale situé à moins de 3 cm de la ligne pectinée
- prélèvement effectué au niveau de la zone de transition
- pathologiste non expérimenté dans la pathologie pédiatrique

Afin d'éviter de confirmer ou d'infirmer à tort le diagnostic de MH, les pathologistes ont recours à des techniques complémentaires notamment les colorations histo-enzymatiques et l'IHC.

Plusieurs études se sont intéressées à la coloration histo-enzymatique avec l'AChE et l'IHC avec plusieurs marqueurs (S100, synaptophysine, calrétinine, NSE....) pour mettre en évidence les cellules ganglionnaires et/ou l'hyperplasie schwannienne.

Nous avons mené une étude rétrospective, descriptive des patients atteints de MH durant la période allant du 1<sup>er</sup> janvier 2018 au 31 août 2019.

Les cas ont été colligés à partir des archives des comptes rendus histologiques du laboratoire d'ACP de HOGIP. Ont été inclus tous les cas (51) avec une suspicion de MH quel que soit le résultat final. Ces cas ont fait l'objet d'une étude immunohistochimique à la calrétinine

Nous avons décrit :

- d'une part les aspects épidémiologiques : l'âge et le sexe.
- et d'autre part les caractéristiques histologiques : le type du prélèvement, la forme selon l'étendu de l'atteinte, le résultat IHC et la concordance HE – IHC.

Au plan épidémiologique, l'âge moyen des patients était de 3,4 ans  $\pm$  2,93 (écart-type) avec un âge médian de 2.5 ans et des extrêmes de 10 jours et de 13 ans.

Une prédominance masculine était observée avec 34 garçons (66,67 %), contre 17 filles (33,33%), soit un sexe ratio de 2.

Dans notre série, tous les prélèvements avaient fait l'objet d'un examen anatomo-pathologique standard.

Les prélèvements reçus dans notre série étaient constitués de 29 biopsies, soit 56.86% des cas et de 22 pièces de résection colique soit 43.14% des cas.

Trente-deux (32) prélèvements intéressaient la zone malade ou aganglionnaire (62,75%), et 19 prélèvements intéressaient la zone saine (37,25%).

Sur le plan immuno-histochimique, une absence de marquage à la calrétinine était observée sur 30 des 32 prélèvements effectués sur zone malade (aganglionnaire) confirmant le diagnostic de MH, posé à l'HE et un immuno-marquage à la calrétinine avait été noté chez 17 sur les 19 échantillons qui concernaient la zone saine à l'examen HE.

Le taux de concordance était de 92.16%.

Chez 4 patients, une discordance entre l'examen standard à l'HE et l'examen IHC à la calrétinine était observée dont 2 étaient des faux positifs et 2 faux négatifs, soit un taux de discordance de 7.84%.



Dans notre cohorte, la sensibilité de la calrétinine à poser le diagnostic de MH était de 93,33% avec un taux de spécificité de 89,47%.

La forme la plus fréquente était la forme courte chez 82.3% des patients, suivie de la forme étendue chez 11.8% des patients et enfin, la forme totale chez 5.9% des patients.

Au terme de notre travail, nous suggérons les recommandations suivantes :

- ❖ A la population :
  - ✓ Consulter immédiatement en cas de retard d'émission du méconium au-delà de 48 heures.
  - ✓ Privilégier les accouchements en milieu hospitalier
- ❖ Aux pédiatres et chirurgiens pédiatres :
  - ✓ Examiner systématiquement tout nouveau-né à la recherche de signes précoces en faveur de la MH.
  - ✓ Remplir correctement les fiches et les registres d'examens anatomo-pathologiques de renseignements cliniques et radiologiques.
  - ✓ Effectuer des biopsies étagées et ramener un matériel abondant
  - ✓ Choisir le site adéquat pour le prélèvement (2-3 cm au-dessus de la ligne pectinée)
- ❖ Aux pathologistes et personnels d'anatomie pathologique:
  - ✓ Créer des groupes de recherche sur la MH au Sénégal.
  - ✓ Respecter les règles dans les différentes étapes préanalytiques afin d'éviter les risques de faux négatifs.
  - ✓ Initier des modèles de comptes rendus types afin de répondre au mieux aux attentes des chirurgiens.
- ❖ Aux responsables de la santé :
  - ✓ Rendre effective la réalisation de l'immunohistochimie dans tous les laboratoires d'anatomie et cytologie pathologiques.
  - ✓ Réaliser un examen extemporané permettant l'analyse de la limite chirurgicale afin d'instaurer un traitement efficace.

- ✓ Equiper les laboratoires d'anatomie pathologique continuellement en matériels.
- ✓ Vulgariser la formation des pathologistes, des chirurgiens et de radiologues.

## **REFERENCES**

**1. Lof Granstrom A, Svenningsson A, Hagel E.**

Maternal risk factors and perinatal characteristics for Hirschsprung's disease.  
Pediatrics 2016;138: 1508 -1512.

**2. Gonzalo DH, Plesec T.**

Hirschsprung Disease and Use of Calretinin in Inadequate Rectal Suction Biopsies.  
Arch Pathol Lab Med 2013;137:1099–1102.

**3. Meinds RJ, Kuiper GA, Parry K, et al.**

Infant's age influences the accuracy of rectal suction biopsies for diagnosing of Hirschsprung's disease.  
Clin Gastroenterol Hepatol. 2015;13: 1801-1807.

**4 Singh SJ, Croaker GD, Manglick P, et al.**

Hirschsprung's disease: the Australian Paediatric Surveillance Unit's experience.  
Pediatr Surg Int 2003; 19: 247 – 250.

**5. Lusine A, Caitlin S, Raj PK.**

Diagnosis of Hirschsprung Disease.  
Pediatric and Developmental Pathology 2019; 15p.

**6. Fernandez RM, Bleda M, Luzon-Toro B, et al.**

Pathways systematically associated to Hirschsprung's disease.  
Orphanet J Rare Dis 2013; 8: 187.

**7. Kapur RP, Reed RC, Finn LS, Patterson K, Johanson J, Rutledge JC.**

Calretinin immunohistochemistry versus acetylcholinesterase histochemistry in the evaluation of suction rectal biopsies for Hirschsprung disease.

**8. Barshack I, Fridman E, Goldberg Y, Chowers Y, Kopolovic J.**

The loss of calretinin expression indicates aganglionosis in Hirschsprung's disease.  
J Clin Pathol 2004; 57: 712-716.

**9. Hiradfar M, Sharifi N, Khajedaluee M, Zabolinejad N, Jamshidi ST, et al.**

Calretinin immunohistochemistry: an aid in the diagnosis of Hirschsprung's disease.  
Iran J Basic Med Sci 2012; 15(5):1053–1059.

**10. Hirschsprung H.**

Stuhlträgheit Neugeborener in Folge von Dilatation und Hypertrophie des Colons.

Jahrb für Kinderheilkd und Phys Erziehung. 1887;27:1-7.

**11. Richard L.**

**Gray's Anatomie pour les étudiants (traduit de Drake, Vogl, Mitchell, Gray's Anatomy for Students, 2nd ed, 978044306952).** Elsevier Masson, 2e édition, 201.

**12. Rouvière H, Delmas A.**

Anatomie humaine (descriptive, topographique et fonctionnelle, Paris ; Masson 1967: 351-421.

**13. Chevrel JP, Barbin JY.**

Anatomie clinique. Paris ; Berlin ; New York : Springer-Verl. 1994, 347- 364.

**14. Neter FH.**

Atlas d'anatomie humaine. 4 éme éd, Paris: Elsevier Masson ; 2006.

**15. Achudhan karunaharamoorthy.** Colon: anatomy, histology, function (kenhub.com).

**16. Catala M, André J-M, Poirier J.**

Histologie : organes, systèmes et appareils. PCEM2 - DCEM1. Université Pierre et Marie Curie, Service d'Histologie – Embryologie. 2007 – 2008: 19-26.

**17. Philippe -Chomette P, Peuchmaur M. Aigrain Y.**

Diagnosis and managment of Hirschprung's disease in child.

J pediatrique et puériculture 2008 ; 21 ; 12 p.

**18. Aldridge RT, Campbell PE.**

Ganlion cell distribution in the normal rectum and anal canal, a basis for the diagnostic of Hirschprung's disease by anorectal biopsy.

J Pediatr Surg 1968 ; 3 : 475-490.

www. Clinisciences.com; anti-calrétinine CE/ IVD pour IHC-cytopathologie.

**19. Bodian M, Stephens FD, Ward BC.**

Hirschprung's disease and idiopathic megacolon.

Lancet 1949; 1:6p.

**20. Okamoto O, Ueda T.**

Embryogenesis of intramural ganglia of the gut and its relation to Hirschsprung's disease.

Journal de chirurgie pédiatrique 1967 ; 2(5) : 437-443.

**21. Munakata K, Fukuzawa M.**

Histologic criteria for the diagnosis of allied diseases of hirschsprung's disease in adults.

Euro padiatr surg 2002; 12: 86 -191.

**22. Martucciello G, Ceccherini I, Lerone M, Jasonni V.**

Pathogenesis of Hirschsprung's disease.

J Pediatr Surg 2000; 35: 1017-1025.

**23. Haynes JH, Charles E, Bagwell.**

Hirschsprung disease and imperforate anus in pallister-hall syndrome syndrome: a new association.

Journal of pediatric surgery 2003; 38 (9) : 1411-1412.

**24. Kanouté PA.**

Maladie de Hirschsprung : Place de l'examen anatomo-pathologique dans le diagnostic et la prise en charge globale à propos de 38 cas.

Thèse Médecine. Bamako(Mali), 2019.

**25. DeLorijn F, Kremer LCM, Reitsma JB, Benninga MA.**

Diagnostic Tests in Hirschsprung Disease : A Systematic Review.

J Pediatr Gastroenterol Nutr 2006; 42: 496 -505.

**26. DeLorijn F, Reitsma JB, Voskuil WP, Aronson DC, Smets AMJB, Benninga MA, et al.**

Diagnosis of Hirschsprung's disease: a prospective, comparative accuracy study of common tests.

J Pediatr. 2005;146 (6): 787-792.

**27. Iwai N, Yanagihara J, Tokiwa K, Deguchi E, Perdzynski W, Takahashi T.**

Reliability of anorectal manometry in the diagnosis of Hirschsprung's disease.

Z Kinderchir. 1988;43 (6): 405-407.

**28. Huang Y, Zheng S, Xiao X.**

Preliminary evaluation of anorectal manometry in diagnosing Hirschsprung's disease in neonates.

Pediatr Surg Int. 2009;25:41-45.

**29. Noviello C, Cobellis G, Romano M, et al.**

Diagnosis of Hirschsprung's Disease: an age-related approach in children below or above one year.

Colorectal Dis. 2010;12:1044 -1048.

**30. Tang YF, Chen JG, An HJ, et al.**

High-resolution anorectal manometry in newborns: normative values and diagnostic utility in Hirschsprung disease.

Neurogastroenterol Motil 2014; 26: 1565–1572.

**31. Martucciello G, Favre A.**

A new rapid acetylcholinesterase histochemical method for the intraoperative diagnosis of hirschsprung's disease and intestinal neuronal dysplasia.

Euro j pediatr surg 2001 ; 11: 300-304.

**32. Pease PW. Corkery JJ. Camero NA.**

Diagnosis of Hirschsprung's disease by punch biopsy of rectum.

Arch Dis Child 1976 ; 51 : 541- 543.

**33. Boman F, Corsois L, Paraf F.**

Maladie de Hirschsprung : attitude pratique.

Ann Pathol 2004 ; 24 (6) : 486-498.

**34. Qualman SJ, Jaffe R, Bove KE, et al.**

Diagnosis of Hirschsprung disease using the rectal biopsy: multi-institutional survey.

Pediatr Dev Pathol 1999; 2: 588-596.

**35. Kobayashi H, Miyano T, Yamataka A, Lane GJ, Fujimoto T, Puri P.**

Use of synaptophysin polyclonal antibody for the rapid intraoperative immunohistochemical evaluation of functional bowel disorders.

J Pediatr Surg 1997; 32 : 38-40.

**36. Kobayashi H, Wang Y, Hirakawa H, O'Briain DS, Puri P.**

Intraoperative evaluation of extent of aganglionosis by a rapid acetylcholinesterase histochemical technique.

J Pediatr Surg 1995 ; 30 : 248-252.

**37. Neris J, Ferrand J.**

Technique d'anatomie et de cytologie pathologiques.

2<sup>nd</sup> édition ; Paris : 2014.

**38. Jeong H, Jung HR, Hwang I, Kwon SY, Choe M, Kang YN, et al.**

Diagnostic Accuracy of Combined Acetylcholinesterase Histochemistry and Calretinin Immunohistochemistry of Rectal Biopsy Specimens in Hirschsprung's Disease.

International Journal of Surgical Pathology 2018 : 7p.

**39. Takawira C, D'Agostini S, Shenouda S, Persad R, Sergi C.**

Laboratory Procedures Update on Hirschsprung Disease.

JPGN 2015; 60(5) : 598 - 605.

**40. Galazka P, Szyllberg L, Bodnar M, Styczynski J, Marszalek A.**

Diagnostic Algorithm in Hirschsprung's Disease: Focus on Immunohistochemistry Markers.

In vivo 2020; 34 :1355-1359.

**41. Pingault V, Bondurand N, Kuhlbrodt K, Goerich DE, Prehu MO, Politi A, et al.**

SOX10 mutations in patients with Waardenburg- Hirschsprung disease.

Nat Genet 1998; 18 :171-173.

**42. Moore SW, Johnson G.**

Elevated tissue immunoglobulins in hirschsprung's disease-indication of early immunologic reponse.

Eur j pediatr surg 2000 ; 10 : 106 -110.

**43. Edery P, Lyonnet S, Mulligan LM, Pelet A, Dow E, Abel L, et al.**

Mutations of RET proto-oncogene in Hirschsprung's disease.

Nature 1994 ; 367 : 378-380.

**44. Gruner M, Audry G, Grapin.**

Maladie de hirschsprung. Editions techniques–EMC- techniques chirurgicales.

App.digest., 40600, 6-1990, 16p.

**45. Puri P.**

Hirschsprung's disease:clinical and experimental experience.

World journal surgery 1993 ; 17 :374 -384.



**46. Mollit DT, Tepas JJ.**

The role of coagulase-negative staphylococcus in neonatal necrotizing enterocolitis.

Journal of pediatric surgery 1988; 23: 60-63.

**47. Gath R, Goessling A.**

Analysis of the RET, GDNF, EDN3, and EDNRB genes in patients with intestinal neuronal dysplasia and hirschsprung disease.

Gut 2001; 5(48): 671-675.

**48. Smigiel R, Lebioda A.**

Single nucleotide polymorphisms in the RET gene and their correlations with Hirschsprung's disease phenotype.

J appl genet 2006; 3(47): 261-267.

**49. Sox 10, un modulateur de transcription impliqué dans la maladie de hirschsprung.**

Medicine/sciences 1998 ; 14: 331- 334.

**50. Hackam DJ, Reblock KK, Redlinger RE, Barksdale Jr EM.**

Diagnosis and outcome of Hirschsprung's disease: does age really matter ?

Pediatr Surg Int 2004; 20(5): 319-322.

**51. Hervieux E.**

Place de l'examen extemporané dans la prise en charge de la forme recto sigmoïdienne de la maladie de Hirschsprung,

Thèse Médecine. Lille 2 (France), 2013.

**52. Musa AZ, Quasim BJ, Ghazi HF, Al Chaikhli AWAK.**

Diagnostic roles of calretinin in hirschsprung disease : a comparaison to neuron specific enolase.

Saudi J Gastrienterol 2017 ; 23(1) : 60-66.

**53. Bouamama H.**

Maladie de Hirschsprung

Mémoire Médecine. Fes (Maroc) 2014.

**54. Mabula JB, Kayange NM, Manyama M, Chandika AB, Rambau PF, Chalya PL.** Hirschsprung's disease in children : a five year experience at a university teaching hospital in northwestern Tanzania.

BMC Res Notes, 2014;7: 410.

**55. Bradnock TJ, Knight M, Kenny S, Nair M, Walker GM.**

Hirschsprung's disease in the UK and Ireland: incidence and anomalies.

Arch Dis Child 2017 ; 102 : 722-727.

**56. Kazemi Aghdam M, Khoddami M, Mollasharifi T, AlmasiHashiani A.**

Diagnostic Value of Calretinin and S100 Immunohistochemistry in Hirschsprung's Disease.

Int J Pediatr 2019 ; 7 (6) : 13p.

**57. Kannaiyan L, Madabhushi S, Malleboyina R, Are NK, Reddy KR, Rao B.**

Calretinin immunohistochemistry: A new cost-effective and easy method for diagnosis of Hirschsprung's disease.

J Indian Assoc Pediatr Surg. 2013; 18(2): 66-68.

**58. Elhalaby ER, Oreiby RM, Hasby AE, Sallam FA.**

Evaluation of the role of Immunohistochemical markers in the diagnosis of Hirschsprung's Disease.

Journal of American Science 2016;12(8) ; 41-50.

**59. Sikandar M, Nagi AH, and Naseem N.**

Utility of Calretinin Stain in Work-up of Inadequate Biopsies in Patient's with Hirschsprung's Disease.

J Gastrointest Dig Syst 2017, 7(4) : 4p.

**60. Małydyk J, Rybczyńska J, Piotrowski R, Kozielski R.**

Evaluation of calretinin immunohistochemistry as an additional tool in confirming the diagnosis of hirschsprung disease.

Pol J Pathol 2014; 65: 34-39.

**61. Sheir M, Samaka RM, Fakhry T, Albatanony AA**

Comparative study between use of calretinin and synaptophysin immunostaining in diagnosis of Hirschsprung disease.

International Journal of Surgery 2019; 6(3) : 658.

**62. Nataraja RM, Ferguson P, King S, Lynch A, Pacilli M.**

Management of Hirschsprung disease in Australia and New Zealand: a survey of the Australian and New Zealand Association of Paediatric Surgeons (ANZAPS).

Pediatric Surgery International 2019; 35(4), 419-423.

**63. Guinard-Samuel V, Bonnard A, De Lagausie P, Chomette P, Alberti C, El Ghoneimi A, et al.**

Calretinin immunohistochemistry: a simple and efficient tool to diagnose Hirschsprung disease.

Modern Pathology 2009; 22: 1379–1384.

**64. Keerthi CP, Prema NS.**

Comparison of Haematoxylin and Eosin Staining and Calretinin Immunohistochemistry in Clinically Suspected Hirschsprung Disease to Evaluate the Diagnostic Utility of Calretinin in Hirschsprung Disease.

J. Evolution Med. Dent. Sci 2019; 8 (49): 3702-3706.

**65. Tran VQ, Lam KT, Truong DQ, Dang MH, Doan TTTP, Segers V, Butler MW, Robert A, Goyens P, Steayert H.**

Diagnostic value of rectal suction using calretinin immunohistochemical staining in Hirschsprung's disease.

Journal of Pediatric Surgery 2016 ; 5p.

**66. Setiadi JA, Dwihantoro A, Iskandar K, Heriyanto DS, Gunadi.**

The utility of hematoxylin and eosin staining in patients with suspected Hirschsprung's disease.

BMC Surg 2017; 17(1): 71.

**67. Rakhshani N, Araste M, Imanzade F, Panahi M, Tameshkel FS, Sohrabi MR, Niya M, Zamani F.**

Hirschsprung's disease diagnosis : calretinin marker role in determining the presence or absence of ganglion cells.

Iran J Pathol 2016 ; 11(4) : 409- 415.

**68. Bedabrata M, Moumita S, Chhanda D, Madhumita M, Shibsankar B, Biswanat M.**

Immunohistochemistry- based comparative study in detection of Hirschsprung's disease in infants in a Tertiary Care Center.

J Lab Physicians. 2017; 9 (2) : 76-80.

**69. Muise ED, Haven RACN.**

Rectal biopsy for Hirschsprung's disease: A review of techniques, pathology, and complications.

World J Pediatr 2016; 12 (2): 135-141

**70. Lim KH, Wan WK, Lim TKH, Loh AHL, Nah SA, Chang KTE.**

Primary diagnosis of Hirschsprung's disease – Calretinin immunohistochemistry in rectal suction biopsies.

World Journal of Pathology 2014; 3 : 3p.

**71. Hwang S, Kapur RS.**

Advances and pitfalls in the diagnosis of Hirschsprung's disease.

Surgical Pathology 2020: 13p.

**72. Kapur RP, Raess PW, Hwang S, Winter C.**

Choline Transporter Immunohistochemistry: An Effective Substitute for Acetylcholinesterase Histochemistry to Diagnose Hirschsprung Disease With Formalin-fixed Paraffin-embedded Rectal Biopsies.

Pediatric and Developmental Pathology 2017: 12p.

**73. Chi S, Fang M, Li K, Yang L, Tang S T.**

Diagnosis of Hirschsprung's Disease by Immunostaining Rectal Suction Biopsies for Calretinin, S100 Protein and Protein Gene Product 9.5.

J. Vis. Exp. 2019; 146 : 5p.

**74. Keefer GP, Mokrohisky JF**

Congenital megacolon (Hirschsprung's disease).

Bibliothèque nationale de médecine 1954; 63:157–75.

**75. Gross ER, Geddes GD, McCarrier JA, Jarsembowski JA, Arca MJ.**

Skip segment Hirschsprung disease and Wardenburg syndrome

J Ped Surg Case Reports 2015; 3 : 143-145.

**76. Coe A, Avansino JR, Kapur RP.**

Distal rectal skip-segment Hirschsprung disease and the potential for false-negative diagnosis.

Pediatr Dev Pathol 2016;19:123–131.

**77. Neuvonen MI, Kyrklund K, Lindahl HG, Koivusalo IA, Rintala RJ, Pakarinen MP.**

A population-based follow-up of 146 consecutive patients after transanal mucosectomy for Hirschsprung's disease.

Journal of Pediatric Surgery 2015.

**78. Karim A, Akter M, Tasmiah AT, Hoque M, Tanvir KC, Imam MS et al.**

Epidemiological characteristics of Hirschprung's disease ; Results of case series of fifty patients of from Bangladesh.

Journal of Pediatric Surgery 2018; 53: 1955 -1959.

**79. Rodas A, Barillas S, Ardebol J.**

Ultrashort segment Hirschprung disease in 4 years old female.

J Surg Case Rep 2020 (9): p320.

# **ANNEXE**

# **Annexe : FICHE D'EXPLOITATION DES PATIENTS ATTEINTS DE MALADIE DE HIRSCHSPRUNG**

\*\*\*\*\*

**Titre du Memoire : Etude comparative entre l'examen standard et l'immunomarquage à la calrétinine dans le diagnostic de la maladie de Hirschsprung (à propos de 51 cas colligés à HOGIP).**

- Année du diagnostic :
- Numéro de la fiche :
- Service d'Anapath :                      Numéro Dossier Anapath :
- Identité du patient :

Nom et prénoms :

Age :                       Sexe :   
Résidence :                      Service d'origine :

- Type du prélèvement :
- Date du prélèvement :
- Les renseignements cliniques et radiologiques :.....  
.....  
.....
- Macroscopie :.....  
.....  
.....
- Microscopie :.....  
.....  
.....
- Diagnostic histologique :.....  
.....  
.....
- Site du prélèvement :  
Zone saine :                      Zone malade :

- Etendu de  
l'atteinte :.....  
.....

- Immunohistochimie (calrétinine) :

+

-



## RESUME :

**Introduction :** la MH est une affection congénitale touchant 1/5000 naissance par an. Le but de notre étude était d'évaluer l'apport de l'examen IHC à la calrétinine et comparer le résultat HE avec celui de l'IHC.

**Matériels et méthode :** rétrospectivement, et sur une période allant du 1<sup>er</sup> janvier 2018 au 31 août 2019, nous avons colligé 51 cas suspects de MH à partir des archives des comptes rendus histologiques du laboratoire d'ACP de HOGIP.

**Résultats :** l'âge moyen de nos patients était de 3,4 ans  $\pm$  2,93 (écart-type) avec un âge médian de 2.5 ans et des extrêmes de 10 jours et de 13 ans.

La prédominance masculine était nette (66.67% des garçons) avec un sexe ratio de 2.

Les prélèvements étaient faits de 29 biopsies et de 22 PO. Trente-deux (32) intéressaient la zone malade et 19 la zone saine. Sur le plan IHC, 30/32 prélèvements sont revenus négatifs à la calrétinine et 17/19 positifs. Deux cas intéressant la zone saine sont revenus négatifs à la calrétinine et 2 intéressant la zone malade sont revenus positifs.

La concordance dans notre série était de 92.16% et la discordance 7.84%.

Le taux de sensibilité était de 93,33% et le taux de spécificité de 89,47%.

La forme courte était observé chez 82.3% des patients, la forme étendue chez 11.8% et la forme totale chez 5.9%.

**Conclusion :** le diagnostic de MH repose sur des arguments cliniques et radiologiques mais, seul l'étude histologique, en mettant en évidence la raréfaction voire l'absence de cellules ganglionnaires associée à une hypertrophie - hyperplasie des filets nerveux, peut être formelle. Toutefois, le pathologiste peut se retrouver face à un aspect équivoque nécessitant un recours à des techniques complémentaires notamment l'IHC.

**Mots clés :** maladie de Hirschsprung, calrétinine, cellules ganglionnaires, examen histologique.